

Maria Beatriz Prior Pinto Oliveira

Assistente da Faculdade de Farmácia

Universidade do Porto

ESTUDO DE QUALIDADE DE LÍPIDOS ALIMENTARES

**Toxicidade e avaliação dos teores de isómeros *trans*
dos ácidos gordos insaturados**

Universidade do Porto

Porto

1994

Maria Beatriz Prior Pinto Oliveira

Assistente da Faculdade de Farmácia

Universidade do Porto

ESTUDO DE QUALIDADE DE LÍPIDOS ALIMENTARES
Toxicidade e avaliação dos teores de isómeros *trans*
dos ácidos gordos insaturados

Universidade do Porto

Porto

1994

**DISSERTAÇÃO DE CANDIDATURA AO GRAU DE DOUTOR
APRESENTADA À FACULDADE DE FARMÁCIA DA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

Trabalho realizado no laboratório de Bromatologia
da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

ORIENTADOR :

Professora Doutora Margarida Alice Ferreira

Este trabalho teve o apoio financeiro de :

Projecto de Investigação 89 / SAD / 4 - INIC
Centro de Análise do Alimento (FFUP), JNICT
Reitoria da Universidade do Porto

AGRADECIMENTOS

À Alco-Algodoeira comercial e Industrial s.a., na pessoa do Eng. António Manuel Gonçalves Maia Miranda e Eng. Maria Virgínia Gomes Custódio Moreira, pela colaboração a todos os níveis, aparelhagem, bibliografia, conhecimentos e disponibilização de instalações e funcionários do laboratório.

Ao Endoclab, laboratório de Endocrinologia e Patologia Clínica Dr. Inácio Salcedo, Lda, pela colaboração na determinação de parâmetros bioquímicos (renina activa e aldosterona sérica em ratos).

À Dr. Maria Adelina Macedo da Silva Alves Vieira, do departamento de Química da Faculdade de Ciências do Porto, pela execução dos espectros de RMN e toda a colaboração prestada.

À Prof. Doutora Elisabeth Molnar Bayer Castro pela colaboração prestada.

Ao Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Farmácia pela disponibilidade e execução de parâmetros bioquímicos.

Ao Laboratório de Toxicologia, em especial à Prof. Doutora Maria de Lourdes Pinho de Almeida Souteiro Bastos pela disponibilidade e orientação em parte deste trabalho.

À Prof. Doutora Margarida A. Ferreira, directora do Laboratório a que pertença, pelos ensinamentos ministrados e pela consideração que tem demonstrado ao longo de todos estes anos de trabalho em comum.

A todos os colegas e funcionários do Laboratório de Bromatologia, com um carinho especial à Irene, com quem partilhei bons e maus momentos e que de um modo ou de outro contribuíram para a execução deste trabalho.

Aos meus pais e padrinhos pela disponibilidade e compreensão demonstradas em todos os momentos.

À Telma e Ricardo

Ao meu marido

PUBLICAÇÕES COM ORIGEM EM PARTE DESTE TRABALHO :

- Controlo de qualidade de margarinas. 1. Estudo químico comparativo das margarinas de fabrico nacional
Rev. Port. de Nutrição, **III**, 4, 32-38 (1991)
- Controlo de qualidade de margarinas. 2. Avaliação do teor das formas *trans* dos ácidos gordos das margarinas de fabrico nacional
Rev. Port. de Nutrição, **4**, 2, 38-46 (1992)
- Controlo de qualidade de margarinas. 3. Relação ácidos gordos essenciais /ácidos gordos saturados + formas *trans* + colesterol como forma de avaliação da qualidade nutricional
Rev. Port. de Nutrição, **IV**, 3, 27-30 (1992)
- Evolution of the quality of the oil and the product in semi-industrial frying
Grasas y Aceites, **45**, 1 (1994)
- Evolução qualitativa de óleos alimentares durante a fritura semi-industrial de batatas. Em publicação

COMUNICAÇÕES COM ORIGEM EM PARTE DESTE TRABALHO :

- Avaliação do teor de formas *trans* em margarinas, comunicação apresentada nas I Jornadas das Indústrias Agro-alimentares que decorreram em Lisboa 12-14 Março, 1992
- Evolução do teor de formas *trans* dos ácidos gordos na fritura de produtos alimentares (Rissóis), comunicação apresentada no Encontro de Jovens Investigadores em Ciências Farmacêuticas que decorreu no Porto, 9-10 Julho, 1992
- Avaliação do comportamento de um óleo alimentar durante o processo de fritura de batatas, segundo modelo semi-industrial, comunicação apresentada no VI Encontro Luso-galego de Química que decorreu na Maia, 26-28 Novembro, 1992
- Avaliação das formas *trans* dos ácidos gordos dos óleos alimentares do mercado português, comunicação apresentada no I Congreso Nacional de Alimentación y Salud, que decorreu em Salamanca, Espanha, 5-8 Maio, 1993
- Evolução da qualidade dos óleos alimentares pela acção do calor. Estudo comparativo, comunicação em forma de poster apresentada no XIV Encontro Nacional da Soc. Port. Química, que decorreu em Aveiro, 5-8 Abril, 1994
- Evaluation of *trans*-fatty acids contents under the traditional conditions of a semi-industrial frying by Capillary Gas Chromatography (GC/FID), comunicação em forma de poster apresentada no 16th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, Itália, 26-30 Setembro, 1994
- Avaliação da taurina, da vitamina E e do diagrama de ácidos gordos no fígado de ratos Wistar submetidos a dieta enriquecida com trielaídina e trilinolelaídina, comunicação apresentada no VIII Encontro Luso-Galego de Química que decorreu em Vairão, 23-25 de Novembro de 1994.

RESUMO

Neste trabalho procedeu-se ao estudo da qualidade dos lípidos alimentares mais vulgarmente utilizados na alimentação dos portugueses (óleos vegetais - alimentar, amendoim, azeite, girassol, milho, soja - e margarinas).

Foram utilizados na avaliação parâmetros clássicos (acidez, índices de peróxido, de *para*-anisidina e Totox, compostos polares, resistência à oxidação, absorvências no ultravioleta, cor) revelando-se particularmente informativo o índice de *p*-anisidina.

Nesta avaliação de qualidade privilegia-se a determinação global e individualizada ($C_{16:1t}$, $C_{18:1t}$, $C_{18:2ct}$, $C_{18:2tc}$ e $C_{18:2tt}$) dos ácidos gordos *trans*, por Cromatografia Gás-Líquido de coluna capilar (GLC/FID).

Os teores médios de ácidos gordos *trans* totais determinados nos diferentes produtos analisados foram : para os óleos vegetais $0,67 \pm 0,682\%$ (sendo o valor mínimo detectado de $0,09 \pm 0,007\%$ e o valor máximo $3,93 \pm 0,040$); para as margarinas $7,12 \pm 4,659\%$ ($0,45 \pm 0,045\%$ e $14,22 \pm 0,926\%$); para as manteigas de cacau $0,03 \pm 0,022\%$ (desde teores não detectados a um máximo de $0,06 \pm 0,012\%$); para os CBE $0,24 \pm 0,098\%$ ($0,15 \pm 0,039\%$ e $0,37 \pm 0,036\%$) e para sucedâneos de chocolate $0,19 \pm 0,139$ ($0,08 \pm 0,008\%$ e $0,32 \pm 0,142$).

Em conformidade com o limite máximo de formas *trans* encontrado em margarinas (14%) procedeu-se à avaliação da disposição e da toxicidade em ratos Wistar, em ensaios sub-agudos utilizando na alimentação uma dieta enriquecida em padrões de triésteres *trans* (trielaidina e trilinoleaidina).

Este estudo mostrou haver absorção intestinal. À excepção do cérebro, mostrou também haver incorporação destas formas, em concentrações diversas nos vários órgãos (intestino delgado, coração, fígado, pulmão, rim, baço e sangue total) para os dois triésteres administrados.

Através dos parâmetros, seleccionados neste estudo, bioquímicos (glucose, ureia, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, proteínas, GOT, GPT, γ -GT, LDH, fosfatase alcalina, HDL, renina, aldosterona) e de toxicidade (glutaciona e taurina) verificou-se não haver diferenças significativas entre os animais controlo e os animais submetidos a dieta enriquecida em formas *trans*.

No sentido de estudar a evolução das formas *trans* resultantes de vários tratamentos térmicos, na presença ou ausência de produtos alimentares, procedeu-se a estudos de aquecimento em estufa a $145 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 96 horas e a ensaios de fritura de produtos alimentares de composição diversificada, batata frita (representante de alimento

glucídico), de filetes de polvo (representante de alimento proteico) e de rissóis de carne (como alimento possuidor de um invólucro de barreira entre o alimento e o meio de fritura) às temperaturas respectivamente de $145\pm 5^{\circ}\text{C}$, $160\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $180\pm 5^{\circ}\text{C}$.

Embora a degradação ocorrida nos óleos aquecidos a $145\pm 5^{\circ}\text{C}$, em estufa ou a fritar batatas, seja equivalente ao fim de 1,5h, torna-se mais intensa na fritura à medida que prossegue o tratamento térmico (ao fim de 6h).

A isomerização ocorrida na fritura, embora sem grandes alterações, era mais intensa a $180\pm 5^{\circ}\text{C}$, confirmando as alterações ocorridas com outros parâmetros de degradação, compostos polares, índice de *p*-anisidina e cor. No aquecimento em estufa observou-se intensificação da isomerização a partir das 24h de aquecimento.

Num modelo alimentar hipotético com a ingestão calórica diária de 2500kcal e admitindo que 30% dessa energia provém dos lípidos (10% da ingestão de margarinas, 10% da ingestão de óleos vegetais e 10% da ingestão dos restantes lípidos) pode calcular-se que a ingestão média de isómeros *trans* fornecida pelos lípidos visíveis rondaria os 2,2g.

SUMMARY

The aim of this study is the assessment of the quality of lipids which are commonly used in the Portuguese diet, namely vegetable oils - peanut oil, olive oil, sunflower oil, corn oil, soya oil and a mixture of these - and margarine.

Assessment was carried out using classical parameters such as acidity, peroxide, *para*-anisidine and Totox indices, polar compounds, oxidative resistance, UV absorbances and colour. The *p*-anisidine index was found to be the most suitable. In addition, global and individual determination of *trans* fatty acids ($C_{16:1t}$, $C_{18:1t}$, $C_{18:2ct}$, $C_{18:2tc}$ e $C_{18:2tt}$) by capillary gas-liquid chromatography (GLC/FID) was also carried out.

The following values were determined for mean levels of total *trans* fatty acids : (i) vegetable oils $0.67 \pm 0.682\%$ (ranging from a minimum of $0.09 \pm 0.007\%$ to a maximum of $3.93 \pm 0.040\%$); (ii) margarine $7.12 \pm 4.659\%$ ($0.45 \pm 0.045\%$ and $14.22 \pm 0.926\%$); (iii) cocoa butter $0.03 \pm 0.022\%$ (from non-detected levels to a maximum of $0.06 \pm 0.012\%$); (iv) CBE $0.24 \pm 0.098\%$ ($0.15 \pm 0.039\%$ and $0.37 \pm 0.036\%$) and (v) chocolate derivatives $0.19 \pm 0.139\%$ ($0.08 \pm 0.008\%$ and $0.32 \pm 0.142\%$).

Analysis of the distribution and toxicity levels was carried out in sub-acute trials, according to the 14% maximum limit of *trans* isomers found in margarine, in Wistar mice fed a diet enriched in *trans* tri-esters (trielaidine and trilinoleidine).

Intestinal absorption was observed. Moreover, with the exception of the brain, there was incorporation of these isomers at different concentrations in several organs (small intestine, heart, liver, lungs, kidneys, spleen and total blood).

Assessment carried out through the parameters selected in this study, namely, biochemical parameters (glucose, urea, creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, protein, GOT, GPT, γ -GT, LDH, alkaline phosphatase, HDL, renine and aldosterone) and toxicity levels (glutathione and taurine), showed no significant differences between control and treated mice.

In order to analyse the evolution of *trans* isomers resulting from several thermal treatments, in the presence or absence of food, trials were carried out with oil (alone) heated in a oven at $145 \pm 5^\circ\text{C}$ for 96 hours. Frying of foodstuffs with different composition such as potatoes (carbohydrate), octopus fillets (protein) and meat rissoles (whose coating acts as a barrier between the food and the frying medium) at $145 \pm 5^\circ\text{C}$, $165 \pm 5^\circ\text{C}$ and $180 \pm 5^\circ\text{C}$ respectively was also carried out.

Although degradation of the oil heated at $145\pm 5^{\circ}\text{C}$ is equivalent to that of fried potatoes at same temperature and at the end of 1.5h., it was found that degradation of the latter increases with the thermal treatment (at the end of 6h).

Following frying, isomerisation was more intense at $180\pm 5^{\circ}\text{C}$, which confirmed changes in other parameters namely, polar compounds, *p*-anisidine index and colour. Increased isomerisation occurred only after 24h of heating of the oil (alone) in the oven.

In an hypothetical model with 2500kcal daily intake, the mean ingestion of *trans* isomers from visible lipids (10% from margarine, 10% from vegetable oil and 10% from remaining lipids) would be around 2.2g.

ABREVIATURAS

AG - ácido gordo
AG monoinsat. - ácidos gordos monoinsaturados
AG polinsat - ácidos gordos polinsaturados
AG sat. - ácidos gordos saturados
C₁₆ - ácido palmítico
C₁₈ - ácido esteárico
C_{18:1}, C_{18:1c}, C_{18:1^{9c}}, - ácido oleico
C_{18:1t}, C_{18:1^{9t}}, - ácido eláidico
C_{18:2}, C_{18:2cc}, C_{18:2^{9c}12c}, - ácido linoleico
C_{18:2tt}, C_{18:2^{9t}12t}, - ácido linolelaídico
C₂₀ - ácido araquídico
C₂₂ - ácido beénico
C_{20:4} - ácido araquidónico
CP - compostos polares
FID - Detector de ionização de chama
HDL - lipoproteína de alta densidade
i.d. - diâmetro interno
IP - índice de peróxido
IpA - índice de *para*-anisidina
IT - índice de Totox
LDL - lipoproteína de baixa densidade
n.d. - não detectado
NP - Norma Portuguesa
RO - resistência à oxidação

	ÍNDICE
Introdução e objectivos	1
Organização da dissertação	6
CAPÍTULO 1	
Lípidos alimentares - Óleos e gorduras abrangidos neste estudo	7
1.1. Óleos vegetais	7
1.1.1. Alimentar	10
1.1.2. Amendoim	10
1.1.3. Azeite	10
1.1.4. Girassol	11
1.1.5. Milho	11
1.1.6. Soja	12
1.2. Margarina	13
1.3. Manteiga de cacau e produtos similares utilizados como seus substitutos na fabricação do chocolate	15
1.3.1. Manteiga de cacau	15
1.3.1.1. Origem	
1.3.1.2. Características	15
1.3.2. Produtos alternativos à manteiga de cacau	17
1.3.2.1. CBE- "Cocoa butter equivalents" e "cocoa butter extenders"	17
1.3.2.2. CBS- "Cocoa butter substitutes"	19
1.3.2.3. CBR- "Cocoa butter replacers"	20
1.3.2.4. CBI- "Cocoa butter improvers"	21
1.3.2.5. Produtos obtidos por cultura de tecidos	23

CAPÍTULO 2

Efeitos do processamento industrial e das manipulações culinárias na formação de isômeros *trans* dos lípidos alimentares 24

2.1. Processamento de óleos vegetais	25
2.1.1. Refinação	25
2.1.2. Hidrogenação	27
2.1.2.1. Mecanismo da hidrogenação	30
2.2. Alterações indesejáveis susceptíveis de ocorrer durante o processamento e armazenamento de óleos e gorduras	33
2.2.1. Isomerização	34
2.3. Alterações verificadas na composição dos ácidos gordos com o processamento culinário	35
2.3.1. Consequências do processamento culinário	36
2.3.2. Fritura profunda	40

CAPÍTULO 3

Metodologias analíticas de avaliação das formas *trans* dos ácidos gordos insaturados 44

3.1. Espectrometria de Infravermelho (IR)	44
3.2. Espectroscopia de Raman	47
3.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	48
3.4. Espectrometria de massa	49
3.5. Cromatografia em fase gasosa	51

CAPÍTULO 4

Efeitos indesejáveis dos lípidos alimentares **58**

- 4.1. Doenças cardiovasculares 58
 - 4.1.1. Influência do tipo de gordura da dieta 59
 - 4.1.2. Resistência das gorduras ingeridas à oxidação 61
 - 4.1.3. Efeito dos ácidos gordos da dieta na trombose 63
- 4.2. Efeitos da ingestão de ácidos gordos insaturados com configuração *trans* 65
 - 4.2.1. Nas lipoproteínas séricas e doenças cardiovasculares 65
 - 4.2.2. Efeito no desenvolvimento de neoplasias 67
 - 4.2.3. Efeito na actividade enzimática e nas membranas 70

CAPÍTULO 5

Amostras estudadas **80**

- 5.1. Ácidos gordos e triésteres 80
- 5.2. Margarinas 81
- 5.3. Manteiga de cacau e produtos similares utilizados como seus substitutos na fabricação do chocolate 81
- 5.4. Óleos vegetais 82
 - 5.4.1. Óleos vegetais refinados 82
 - 5.4.2. Óleos vegetais aquecidos em estufa 83
 - 5.4.3. Óleos vegetais utilizados como banhos de fritura 83
 - 5.4.3.1. Fritura de batatas 84
 - 5.4.3.2. Fritura de rissóis 86
 - 5.4.3.3. Fritura de filetes de polvo 87
- 5.5. Preparação das amostras 89
 - 5.5.1. Margarinas 89
 - 5.5.2. Manteiga de cacau e produtos similares utilizados como seus substituto 89
 - 5.5.3. Óleos vegetais 89
 - 5.5.4. Alimentos confeccionados 89

CAPÍTULO 6

Reagentes **90**

6.1. Padrões utilizadas 91

CAPÍTULO 7

Metodologia **92**

7.1. Aparelhagem utilizada 92

7.2. Determinações efectuadas 93

7.2.1. Análise cromatográfica da composição em ácidos gordos de óleos e gorduras 98

7.2.1.1. Extracção dos lípidos totais 98

7.2.1.2. Preparação dos ésteres metílicos 98

7.2.1.3. Condições de trabalho 99

7.2.1.4. Identificação dos picos cromatográficos 100

7.2.1.5. Expressão dos resultados 100

7.2.1.6. Repetibilidade 101

7.2.1.7. Limite de detecção 102

7.3. Tratamento dos dados 103

CAPÍTULO 8

Alteração da qualidade dos lípidos alimentares. Efeito do calor. **105**

8.1. Estudo comparativo da estabilidade à oxidação de ácidos gordos e de triésteres 106

8.2. Óleos vegetais aquecidos em estufa 122

8.3. Óleos vegetais utilizados como banhos de fritura 135

8.3.1. Fritura de batatas 135

8.3.2. Fritura de rissóis 142

8.3.3. Fritura de filetes de polvo 144

CAPÍTULO 9

Teores de ácidos gordos <i>trans</i>	147
9.1. Óleos vegetais refinados	147
9.2. Margarinas	164
9.3. Manteiga de cacau e produtos similares utilizados como seus substitutos na fabricação do chocolate	169
9.4. Óleos vegetais aquecidos em estufa	176
9.5. Óleos vegetais utilizados como banhos de fritura	190
9.5.1. Fritura de batatas	190
9.5.2. Fritura de rissóis	203
9.5.3. Fritura de filetes de polvo	208

CAPÍTULO 10

Avaliação da disposição e da toxicidade, em ratos Wistar, de triésteres de ácidos gordos <i>trans</i>	212
10.1. Animais	213
10.2. Dietas	213
10.3. Parâmetros avaliados	213
10.4. Preparação das amostras	215
10.5. Resultados e discussão	216
10.5.1. Avaliação da disposição de uma dieta enriquecida em trielaídina e trilinolelaídina	216
10.5.2. Avaliação de alguns parâmetros bioquímicos indiciadores de toxicidade de uma dieta enriquecida em trielaídina e trilinolelaídina	242
10.5.2.1. Interesse dos parâmetros escolhidos	242
10.5.2.2. Cisteína e glutatona	245
10.5.2.3. Taurina	247
10.5.2.4. Vitamina E	249

CAPÍTULO 11

Conclusões globais

251

Bibliografia

256

INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS

De acordo com as normas dietéticas defendidas pela maioria dos países ocidentais a ingestão de gordura, relativamente ao total de calorias ingeridas, não deve exceder 30%. Frequentemente não se faz menção ao modo como esta percentagem deve ser distribuída pelos ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados.

Beare-Rogers, 1991, limita o fornecimento de energia por parte dos ácidos gordos saturados a 10%.

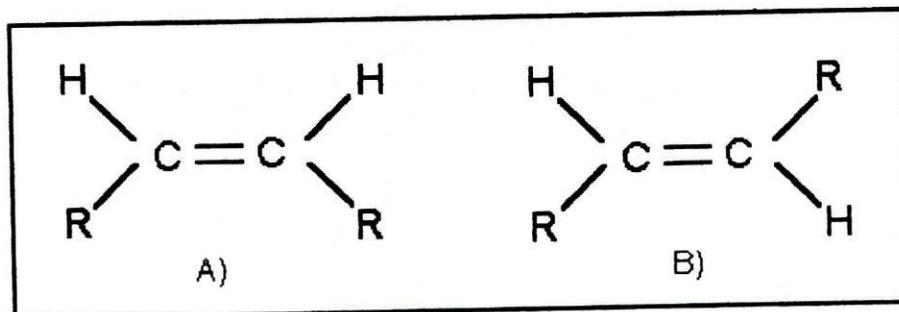
A American Heart Association recomenda a ingestão de ácidos gordos polinsaturados na quantidade correspondente a 10% do total de calorias ingeridas, Hwang, 1992. Dentro desta classe os ácidos gordos polinsaturados (n-3) deverão constituir pelo menos 0,5% da energia consumida.

Os restantes 10% deverão ser fornecidos, por exclusão de partes, pelos ácidos gordos monoinsaturados.

Alguns autores defendem a redução dos ácidos gordos saturados e a sua substituição pelos monoinsaturados, atendendo às suas características e vantagens nutricionais, relativamente às restantes classes de ácidos gordos.

Normalmente os lípidos alimentares de origem vegetal contêm ácidos insaturados com duplas ligações na configuração *cis* e não conjugadas.

As gorduras animais e marinhas contêm naturalmente uma certa percentagem de isómeros *trans*, Firestone, 1984, Hoffmann, 1986.



A) Dupla ligação com configuração *cis* (c) ou (Z)

B) Dupla ligação com configuração *trans* (t) ou (E)

Um problema antigo, actual e, tudo indica futuro, tem sido a presença de isómeros *trans* nos lípidos alimentares. Os seus efeitos nutricionais são uma preocupação, em especial nos países industrializados, devido ao alto consumo de gorduras parcialmente hidrogenadas, Pettersen *et al.*, 1988.

Outro ponto polémico acerca destas formas isoméricas é a omissão que se observa quanto aos teores no rótulo dos alimentos, impedindo o consumidor de fazer uma escolha consciente dos produtos que adquire, entre os vários que tem à disposição.

No caso de não serem expressos independentemente, do ponto de vista nutricional, coloca-se a questão de saber em que classe de ácidos gordos devem ser incluídos, se na dos ácidos gordos saturados se na dos monoinsaturados.

A utilização de óleos vegetais parcialmente hidrogenados, em variadíssimos produtos, nas últimas seis ou sete décadas nos USA, tem levantado dúvidas acerca dos possíveis efeitos adversos deste tipo de produtos, em consequência do elevado teor de formas *trans* que podem conter.

Em 1974 e 1978 foram publicados trabalhos, posteriormente refutados, acerca da possível relação da ingestão de elevadas percentagens de isómeros *trans* com o desenvolvimento de aterosclerose e aumento da mortalidade por cancro da mama e do cólon.

A controvérsia acerca dos ácidos gordos insaturados com configuração *trans* veio aumentar ainda mais a complexidade do efeito das gorduras na saúde humana.

Em resposta à polémica acerca dos efeitos da ingestão de ácidos gordos *trans* na saúde, a Federation of American Societies for Experimental Biology publicou em 1985, um documento que concluía não serem preocupantes, no presente, os teores de ácidos gordos *trans* contidos nas dietas e que os avanços tecnológicos e a tendência para a redução dos níveis de ingestão de lípidos tornam previsível que essa preocupação no futuro seja ainda menor. Tal ponto de vista foi também expresso mais tarde, em 1987, pela British Nutrition Foundation.

Em 1986, Ide *et al.*, publicaram um estudo efectuado com diferentes estirpes de ratos visando a metabolização de isómeros *cis* e *trans* do C₁₈:1. Verificaram que as diferentes estirpes estudadas se comportavam de modo diverso relativamente à ingestão e à oxidação dos referidos isómeros.

Sabendo da dificuldade de extrapolação para o homem de factos ocorridos com animais de experiência, mais difícil se torna essa extrapolação quando diferentes estirpes do mesmo animal se comportam de modo diverso.

Em 1991 decorreram em Toronto um "workshop" e na Finlândia o Lipidforum, com o tópico dos ácidos gordos *trans*.

Das várias conclusões tiradas nestas reuniões referem-se a necessidade de um maior número de estudos experimentais em animais e no Homem, visando além do efeito da sua ingestão, a obrigatoriedade da sua inclusão na rotulagem dos alimentos, a sua correcta classificação e a redução dos seus níveis nos alimentos.

No Lipidforum foi referido que a ingestão média nos países ocidentais destes ácidos gordos isoméricos estava avaliada em 7g/dia/pessoa excepto na Holanda cujos valores são superiores (17g/dia, Craig-Schmidt, 1992).

Nos USA e de acordo com Enig *et al.*, 1990, a ingestão de ácidos gordos *trans* varia entre 9,72 e 13,89g/dia. Na Finlândia, a ingestão diária de ácidos gordos *trans* diminuiu, entre 1984 e 1990, de 3g para 2g.

Em 1992, Ritter *et al.*, referiram que dos isómeros *trans* presentes nos alimentos o ácido elaídico (C_{18:1 t}) é o mais importante e que tem um efeito desfavorável no metabolismo lipídico, provocando simultaneamente a diminuição dos níveis de HDL-colesterol e o aumento dos níveis de LDL-colesterol. Contudo, considerando as concentrações presentes numa dieta equilibrada, os seus efeitos seriam apenas ligeiros e localizar-se-iam entre os limites biológicos de flutuação.

Em conformidade com as conclusões do Lipidforum e publicações posteriores, o ponto da situação à data em que se escreve este trabalho parece ser :

- a ingestão de ácidos gordos *trans* tem baixado devido à redução pela população ocidental do consumo de gordura e também devido às modificações tecnológicas na produção de margarinas e outros lípidos alimentares;

- nos últimos 10 anos de investigação não se provou um efeito adverso específico dos ácidos gordos *trans*;

- vários estudos demonstraram serem absorvidos, incorporados e catabolizados à semelhança de outros ácidos gordos, Reiser, 1981, Combe *et al.*, 1981, Bernard *et al.*, 1987, Astorg *et al.*, 1987, Mouecoucou *et al.*, 1990, no entanto os monoenos *trans* parecem ter propriedades e selectividades enzimáticas compreendidas entre os saturados e os monoenos *cis*, não sendo portanto equivalentes aos ácidos gordos saturados como algumas vezes foi sugerido;

- é impossível deixar de ingerir ácidos gordos *trans* uma vez que estes fazem parte da gordura de leite, gordura de ruminantes e gorduras hidrogenadas, Lluch *et al.*, 1993, 1993a, Boatella *et al.*, 1993.

De acordo com Craig-Schmidt, 1992, 94% dos ácidos gordos *trans* ingeridos são fornecidos pelas gorduras hidrogenadas.

O conhecimento da controvérsia acerca dos ácidos gordos *trans*, e do conflito existente entre os peritos mundiais nesta matéria, acerca das desvantagens nutricionais e das vantagens funcionais da sua presença, implementou a curiosidade acerca da situação em Portugal.

Na ausência de legislação limitativa dos teores admissíveis de ácidos gordos *trans* nos óleos e gorduras, os industriais produtores não fazem o seu controlo, havendo um desconhecimento total dos conteúdos reais destes compostos nos produtos ingeridos pelos portugueses.

No desejo de alterar esta situação decidiu-se levar a cabo o trabalho que se apresenta.

Um dos objectivos deste estudo foi fazer uma avaliação dos teores de isómeros *trans* de alguns alimentos lipídicos.

Por serem os de maior expressão na alimentação dos portugueses, os lípidos alimentares abrangidos no estudo foram : óleos vegetais, alimentar, amendoim, azeite, girassol, milho e soja; e margarinas.

A manteiga de cacau, a única gordura além da do leite que pode ser utilizada na fabricação do chocolate, foi também abrangida neste estudo, assim como as matérias que a podem substituir na fabricação de sucedâneos de chocolate.

Os ácidos gordos *trans* podem também ser formados, a partir dos seus homólogos *cis*, ao longo de processos de aquecimento.

São conhecidas várias publicações referindo a isomerização dos ácidos linoleico e linolénico, embora em condições drásticas e muito distantes das condições normalmente utilizadas nos processos culinários.

Dos processos culinários, a fritura profunda é sem dúvida o tipo de processamento de alimentos mais vulgarizado que utiliza óleos e gorduras como meio de transferência de calor. Tratando-se de um processo muito complexo, não se quis deixar de averiguar o seu efeito na isomerização *cis/trans* dos ácidos gordos insaturados. Para tal acompanharam-se vários processos de fritura de diferentes alimentos, batatas, rissóis de carne e filetes de polvo, nas condições normalmente praticadas em restauração.

Efectuou-se também um estudo com diferentes tipos de óleos vegetais, simulando as temperaturas da fritura, mas em estufa e com aquecimento contínuo. Deste modo tentou-se verificar apenas a contribuição do aquecimento na isomerização dos óleos vegetais.

Simultaneamente com o estudo da evolução da situação no banho de fritura acompanhou-se a variação dos teores de ácidos gordos *trans* no alimento, com a fritura.

Tendo uma panorâmica dos teores de isómeros *trans* apresentados pelos alimentos ingeridos e uma vez que os mecanismos da toxicocinética / toxicodinâmica, a que a ingestão / absorção destas formas conduz, não estão completamente esclarecidos, realizou-se um estudo sub-agudo tentando avaliar o comportamento, em ensaios *in vivo*, de ratos Wistar alimentados com uma dieta enriquecida em isómeros *trans*, ácido elaidico (C_{18:1t}) e ácido linolelaídico (C_{18:2tt}).

Nestes ensaios tentou-se manter próximo dos níveis normais a percentagem de gordura (uma suplementação de apenas 0,5% para um total de 4% de gordura) e esta apresentando uma composição em ácidos gordos *trans* superior mas próxima da que se julga ser ingerida pelos portugueses.

Os ensaios *in vivo* visaram obter uma noção geral dos efeitos da ingestão deste tipo de ácidos gordos em diferentes órgãos, em parâmetros bioquímicos, parâmetros de toxicidade e na composição dos lípidos totais, aclarando certas ambiguidades acerca da absorção / incorporação deste tipo de isómeros (capítulo 10).

Embora o nosso objectivo primordial visasse a determinação de formas *trans* em vários produtos alimentares, o estudo sobre a sua formação pela acção do calor e os efeitos decorrentes da sua ingestão em ratos, como referido respectivamente nos capítulos 9 e 10, alargou-se este estudo (capítulo 8) determinando outros parâmetros indicadores da degradação de lípidos que evidenciam substâncias com efeitos nefastos à saúde. Desses parâmetros citam-se nomeadamente os índices de peróxido, de *para*-anisidina e de Totox, a resistência à oxidação, os compostos polares, a acidez, a cor e as absorvências no Ultravioleta.

Muito sucintamente os objectivos primordiais desta dissertação podem resumir-se à avaliação dos teores globais de ácidos gordos *trans* dos produtos lipídicos alimentares de maior consumo em Portugal, ao reconhecimento e produção destas formas pelos efeitos do calor e proceder a estudos de biodisponibilidade e toxicidade *in vivo*, com a tripla finalidade : pré-normativa, de segurança da saúde pública e informativa dos industriais do ramo dos óleos e gorduras quanto ao seu procedimento no controlo de qualidade das matérias-primas que adquirem e dos correctos procedimentos tecnológicos por forma a melhorar a qualidade dos seus produtos.

ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A dissertação que se apresenta está organizado em capítulos, num total de 11.

Os quatro primeiros capítulos fazem uma abordagem teórica da problemática em torno dos ácidos gordos *trans*.

No capítulo 1 abordam-se os tipos de óleos e gorduras abrangidos no estudo.

No capítulo 2 descrevem-se as alterações que podem ocorrer, com o processamento industrial e as manipulações culinárias, nos lípidos alimentares, com especial incidência nas etapas com possível efeito na isomerização *cis/trans*.

No capítulo 3 referem-se as metodologias que podem ser utilizadas na detecção e quantificação de isómeros *trans*.

No capítulo 4 citam-se os efeitos indesejáveis atribuídos aos lípidos em geral e aos ácidos gordos *trans* em particular.

A parte experimental do trabalho é descrita nos capítulos 5, 6 e 7, respectivamente amostras estudadas e tipo de amostragem, reagentes e metodologias utilizadas.

A apresentação dos resultados e a sua discussão foram efectuadas nos capítulos 8 e 9. No capítulo 8 referem-se e discutem-se os dados obtidos com a determinação de parâmetros considerados clássicos na análise de óleos e gorduras e a sua evolução ao longo de tratamentos térmicos.

No capítulo 9 incidiu-se a apreciação nos teores de isómeros *trans* apresentados pelos lípidos alimentares normalmente ingeridos pelos portugueses. Avaliou-se também a evolução dos teores destes isómeros em diferentes tratamentos térmicos, aquecimento contínuo em estufa e situações reais de fritura.

O capítulo 10 inclui os ensaios *in vivo* efectuados com ratos Wistar. Foram efectuados com o intuito de avaliar a biodisponibilidade e toxicidade de determinados triésteres de ácidos gordos, trielaídina e trilinolelaídina. Descrevem-se os ensaios, referem-se as determinações efectuadas e apresentam-se os resultados obtidos. Discutem-se os resultados e tentam formular-se hipóteses explicativas para os efeitos verificados. Tendo como pano de fundo as condicionantes da extrapolação dos efeitos verificados em animais para o Homem, tecem-se algumas considerações sobre os possíveis efeitos da ingestão de ácidos gordos *trans* na saúde pública.

No capítulo 11 apresentam-se as conclusões globais a retirar do trabalho efectuado.

CAPÍTULO 1

LÍPIDOS ALIMENTARES - ÓLEOS E GORDURAS ABRANGIDOS NESTE ESTUDO

1.1. ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos vegetais disponíveis para consumo são normalmente obtidos a partir das sementes ou da polpa dos frutos.

Nas sementes, os ácidos gordos estão geralmente presentes na forma de trigliceridos e são a sua reserva energética desde a germinação até à auto-suficiência da planta.

Regra geral a composição em ácidos gordos, embora varie de modo característico entre as espécies, tem alguns denominadores comuns :

- A soma dos grupos oleoil e linoleoil é geralmente próxima de 80% dos grupos acilo totais; dos restantes, 7 a 8% são grupos palmitoil.

Uma excepção são as espécies tropicais que apresentam grupos palmitoil e estearoil mais abundantes, e que é possível devido às temperaturas elevadas nas regiões de que são oriundas.

Uma razão possível para este perfil de ácidos gordos rotineiro das sementes oleaginosas pode ser a necessidade dos trigliceridos se manterem no estado líquido, pois só assim as enzimas podem desempenhar o seu papel catalítico.

- Têm pequenas quantidades de ácidos gordos saturados de cadeia longa devido aos seus altos pontos de fusão o que impediria a completa liquefacção da gordura.

- Por motivo semelhante apresentam teores baixos de trigliceridos trissaturados com ácidos gordos de cadeia longa.

Para ultrapassar esta situação a natureza criou duas possibilidades, ou produzem poucos ácidos gordos de cadeia longa, adoptada pela maioria, ou excluem-nos da posição 2 do triglicerido, adoptada pelo cacauero, produtor da manteiga de cacau; neste produto a posição 2 é praticamente ocupada apenas pelo grupo oleoil.

• Ainda com o intuito de manter o ponto de fusão o mais baixo possível, os ácidos gordos insaturados têm geralmente a configuração *cis* e as duplas ligações estão localizadas na parte central da cadeia carbonada.

O ácido oleico, C_{18:1}^{9c}, talvez por obedecer tão perfeitamente a esta exigência, é dos ácidos gordos mais abundantes na natureza.

O aumento da insaturação, embora reduza o ponto de fusão, fá-lo de maneira pouco acentuada, pelo que as altas percentagens apresentadas por alguns óleos em ácido linoleico e linolénico deverão ter outra justificação. Pensa-se que estejam relacionadas com o papel dos lípidos a nível membranar, sendo a insaturação da maior importância na flexibilidade das membranas.

Em resposta a esta situação há uma concentração mais ou menos acentuada de ácidos gordos polinsaturados nas membranas biológicas, verificando-se a limitação dos ácidos gordos saturados totais e ainda a sua exclusão da posição 2 do triglicerido.

Uma outra razão para a conservação do perfil de ácidos gordos parece ser a especificidade das enzimas envolvidas no metabolismo lipídico. Para a introdução de um radical acilo diferente na composição do óleo de uma semente são necessárias, além da mutação do novo grupo, também mutações enzimáticas para que este novo grupo seja incorporado e metabolizado normalmente. Ora esta simultaneidade é relativamente rara.

Algumas espécies incluem grupos adicionais ao perfil de ácidos gordos comuns. Não são bem conhecidas as vantagens que daí advêm. Contudo esse grupo invulgar aparece apenas no óleo das sementes. Como exemplo desta situação citam-se as sementes das palmáceas e das brassicáceas.

As sementes das palmáceas são ricas em ácidos gordos saturados de cadeia curta e média e apresentam teores de ácidos gordos insaturados muito limitados. Os ácidos gordos de cadeia curta fornecem ao óleo um ponto de fusão baixo e simultaneamente dão-lhe estabilidade oxidativa. Neste caso a justificação para esta composição invulgar parece ser de ordem defensiva, pois os ácidos gordos de cadeia curta têm uma actividade bactericida elevada.

Nas espécies *Brassica* surge um ácido gordo específico, o ácido erúxico (C_{22:1}). De acordo com Auld *et al.*, 1989, a justificação para a presença deste ácido gordo de cadeia longa é o fornecimento de maior quantidade de energia por molécula, na β-oxidação, facto muito significativo em plantas com sementes pequenas. Por sua vez verifica-se a sua exclusão da posição 2 dos trigliceridos, pelos motivos já referidos.

Verifica-se também que certas sementes apresentam óleos com teores demasiadamente elevados de ácido linoleico e linolénico, que sejam justificados pelos factos anteriormente referidos e que, por outro lado, diminuem a estabilidade do óleo à oxidação. A sua presença parece inserida num mecanismo de defesa, pelo facto de se verificar a produção instantânea de peróxidos e aldeídos na semente danificada, devido à acção da lipoxigenase sobre os ácidos gordos polinsaturados, Hammond, 1992.

Frequentemente é o homem que pretende alterar a composição em ácidos gordos dos óleos que consome, em seu proveito. Essa modificação pode visar apenas os limites de determinado ácido gordo ou então a introdução de um novo grupo, ou de uma nova característica. Para isso tem utilizado diversas técnicas quer de hibridação, de cruzamento e selecção, de mutação, de retrocruzamento, de cultura de tecidos quer de biologia molecular e genética.

O interesse destas técnicas é maior em plantas oleaginosas que têm o seu ciclo de vida anual, tal como a soja e a colza.

As técnicas de biologia molecular e genética são tidas como muito promissoras no capítulo da melhoria de características de plantas oleaginosas. Parecem ser mais eficientes e permitir alterações impossíveis pelas técnicas de hibridação. Contudo dado ainda o grande desconhecimento da maioria das vias biossintéticas dos ácidos gordos e dos factores que controlam a composição do óleo, não parece iminente a obtenção de resultados positivos relativamente às características que actualmente os investigadores pretendem introduzir na composição dos óleos produzidos pelas espécies cultivadas em maior extensão.

Dentro de cada espécie verificam-se pequenas variações de composição em ácidos gordos, atribuídas a diversos factores. Entre eles citam-se por exemplo :

- As condições climáticas. Em geral, as temperaturas baixas provocam aumentos de ácidos gordos polinsaturados e inversamente temperaturas elevadas favorecem a formação de grupos saturados.
- O grau de maturação. O teor em ácido linolénico e ácidos gordos saturados diminui durante a maturação; na colza, o conteúdo de erucato aumenta durante a maturação.

Porém, as variações mais significativas estão dependentes de factores genéticos, Hammond, 1992.

1.1.1. Alimentar

O óleo alimentar é constituído pela mistura de dois ou mais óleos comestíveis, à excepção do azeite, tendo o produto final que apresentar as características definidas na NP-2037 (1987).

1.1.2. Amendoim

O óleo de amendoim é um produto obtido das sementes de *Arachis hypogaea*, Leguminosae. As sementes contêm 45-55% de óleo com características organolépticas próprias definidas na NP-945 (1981).

Têm sido levados a cabo estudos no sentido de aumentar o conteúdo das sementes em óleo e também de modificar a sua composição em ácidos gordos.

Por exemplo é já citada uma linha de hibridação que produz óleo com 80% de ácido oleico e 2% de ácido linoleico, Haumann, 1992, variação significativa relativamente à actual composição apresentada (de 38 a 72% de ácido oleico), Denise, 1982, Padley *et al.*, 1986, White, 1992, Jandacek, 1992.

A sua composição em ácidos gordos difere da composição dos demais óleos vegetais pelos teores de ácidos gordos saturados de cadeia longa, ácido araquídico (C₂₀), ácido beénico (C₂₂) e frequentemente ácido lignocérico (C₂₄), em teores superiores a 6%, White, 1992. Devido a estes ácidos gordos, localizados praticamente na posição 3 do triglicerido, o óleo tende a solidificar nas proximidades dos 5°C, Hoffmann, 1986.

1.1.3. Azeite

O azeite é o produto, obtido por processos mecânicos ou físicos, da polpa dos frutos da oliveira, *Olea europea*. A polpa da azeitona pode conter até 75% (entre 35 a 70%) de óleo, expresso em matéria seca, Kamel *et al.*, 1992.

Na década de 80, o interesse pelos ácidos gordos monoinsaturados adquiriu nova força e o azeite tornou-se o tipo de gordura ideal para consumo.

A composição química do azeite difere da composição da maioria dos óleos vegetais edíveis.

Possui elevado teor em ácido oleico, em alguns casos superior a 93%; baixo conteúdo de ácidos gordos saturados; níveis modestos de ácidos gordos polinsaturados, sendo o ácido linoleico o mais representativo; outra característica invulgar é o seu baixo índice de iodo e a sua manutenção no estado líquido a baixas temperaturas, Kamel *et al.*, 1992.

Possui considerável concentração de componentes minoritários, especialmente no azeite virgem, os quais são responsáveis pelo sabor e odor tão característicos deste produto, Padley *et al.*, 1986.

As suas características estão definidas na NP-972 (1989) e no Jornal Oficial das Comunidades Europeias L248, 5 Setembro de 1991.

1.1.4. Girassol

O óleo de girassol é obtido das sementes de *Helianthus annuus*. As sementes têm um teor de 20-32% de óleo cujas características estão descritas na NP-961 (1979).

Variedades mais recentes, obtidas por hibridação fornecem sementes com um teor em óleo de 40%.

Actualmente estão já em exploração comercial híbridos, obtidos por mutagénese química, produtores de óleos com teores elevados de ácido oleico.

Estas variedades de girassol rico em ácido oleico sofreram um grande incremento desde 1988, embora em 1984 já fossem comercializados óleos deste tipo. Uma das variedades é o "trisun", cujas vendas têm duplicado ano após ano desde 1989. Em Portugal, o "trisun" está já comercializado e disponível ao consumidor.

Estes híbridos fornecem óleos com teores superiores a 80% de ácido oleico e valores inferiores a 10% de ácido linoleico. Este tipo de composição é uma resposta comercial às novas teorias acerca dos teores ideais de ácidos gordos monoinsaturados, da sua estabilidade à oxidação e do seu efeito benéfico nos níveis de colesterol e de LDL-colesterol sanguíneos, cap. 4.

1.1.5. Milho

O óleo de milho é um sub-produto do milho.

O grão de milho contém aproximadamente 5% de óleo, o qual está predominantemente localizado no gérmen (80%).

A composição em ácidos gordos do óleo de milho assim como as suas características estão descritas na NP-946 (1981)

Apesar do seu alto teor de ácidos gordos polinsaturados (62%), semelhante ao do óleo de soja (61%) e ao do óleo de girassol (69%) mostra-se bastante estável quer à oxidação quer ao desenvolvimento de odores desagradáveis. Tem um comportamento semelhante ao do óleo de girassol quando usado em fritura profunda, Padley *et al.*, 1986.

1.1.6. Soja

A soja (*Glycine max.*) é a semente oleaginosa cujo óleo é produzido em maior quantidade no Mundo.

As sementes contêm 18-22% de óleo cujas características estão descritas na NP-1539 (1978).

Para reduzir os efeitos associados à presença de teores significativos de ácido linolénico, grande parte do óleo de soja consumido sofre hidrogenação.

Esta pode ser ligeira fornecendo óleo para cozinha com estabilidade aumentada; ou mais intensa conduzindo à obtenção de gorduras usadas na fabricação de margarinas e shortenings e gorduras para fritura profunda.

O aumento de estabilidade obtido com a hidrogenação é acompanhado pela produção de substâncias "não naturais", caso dos isómeros geométricos e posicionais. No sentido de evitar esse tipo de substâncias estão em estudo híbridos obtidos por mutação com teores de respectivamente 1,5% em ácido linolénico (C_{18:3}), 2% e 4%, Liu, 1992a (tabela 1.1.).

A.G. %	A17	A16	A87	A6
C16	15,2	10,8	10,3	8,4
C18	5,4	5,8	4,3	27,5
C18:1	30	32,5	29,6	21,5
C18:2	48,7	48,7	54,2	39,5
C18:3	1,5	2	2	4

Tabela 1.1. Composição em ácidos gordos de linhas experimentais de soja.

Segundo Liu, 1992b, estes óleos mostraram-se mais estáveis à oxidação que as variedades normalmente comercializadas e que certas variedades de óleo de canola.

Também Mounts *et al.*, 1988, referem a existência de genótipos de soja cuja composição em ácidos gordos foi alterada por hibridização e mutação. Os óleos obtidos continham 3,3, 4,2 e 4,8% de ácido linolénico; a sua estabilidade assim como a não formação de odores desagradáveis "a peixe" mostraram-se muito favoráveis comparativamente a um óleo de soja com 7,7% de ácido linolénico.

1.2. MARGARINA

A margarina é um produto que apareceu em França em 1869.

Na sua inicial concepção, a margarina era uma imitação grosseira da manteiga, quer em paladar quer em propriedades texturais. A sua formulação e fabricação foram evoluindo sendo hoje um produto de largo consumo, devido às propriedades nutricionais a que a associam, tais como elevado teor de ácidos gordos polinsaturados, elevado teor de ácidos gordos essenciais, uma pequena relação ácidos gordos saturados/ácidos gordos insaturados e um teor reduzido em colesterol, se de origem vegetal, Oliveira *et al.*, 1991.

É amplamente utilizada por implementar a palatibilidade dos produtos de pastelaria, devido ao seu efeito lubrificante, e simultaneamente facilitar o seu processamento; contribuir para a libertação das características odoríferas e sápidas dos alimentos e poder funcionar como meio de transferência de calor, no caso da fritura, Young, 1986. Nesta situação o seu uso está limitado a baixas temperaturas devido ao rápido escurecimento dos constituintes proteicos, Jandacek, 1992.

A margarina é uma emulsão artificial do tipo A/O em que a gordura se apresenta em fase contínua e a água está dispersa em pequenas gotículas na fase lipídica. O seu teor mínimo em gordura é 80% e deve conter pelo menos 33.000 U.I. de vitamina A por kg de peso, para apresentar níveis nutricionais equivalentes aos da manteiga, Jandacek, 1992.

Actualmente as margarinas diferem significativamente da manteiga e das margarinas clássicas, quer em propriedades quer na composição lipídica. As novas propriedades que apresentam visam responder às actuais exigências de mercado, ou seja, satisfazer as exigências dos consumidores, relativamente à sua plasticidade, poder

barrante, textura uniforme, características adequadas de cristalização dos triglicéridos constitutivos e um alto teor de ácidos gordos polinsaturados, Young, 1986.

Para as margarinas adquirirem as características desejadas, as matérias-primas utilizadas na sua produção sofrem hidrogenação parcial. Este processo, destinado a converter os óleos originais nos produtos com as propriedades físicas desejadas, origina uma mistura complexa de ácidos gordos em que ocorrem migração e inversão geométrica das duplas ligações, obtendo-se ácidos gordos isoméricos.

Verifica-se assim a formação de isómeros *trans* do ácido oleico, linoleico e linolénico. A quantidade de ácidos gordos *trans* originados depende da tecnologia e da temperatura usadas, assim como da duração do tratamento.

A formação dos isómeros *trans* influencia as características químicas e físicas do produto final uma vez que aqueles têm pontos de fusão superiores aos isómeros *cis* correspondentes. Embora a composição em ácidos gordos dos triglicéridos da margarina varie grandemente de produto para produto, todas contêm normalmente produtos mais ou menos intensamente hidrogenados. Os ácidos gordos saturados e os insaturados com a configuração *trans*, produzidos com a hidrogenação, são responsáveis pela textura e as características de fusão do produto, Jandacek, 1992.

Dado que o consumo de isómeros *trans* pode ter efeitos adversos na saúde, preconiza-se actualmente a interesterificação dos óleos vegetais, em substituição da sua hidrogenação, D'Souza *et al.*, 1992.

Mais recentemente surgiram produtos com características semelhantes às das margarinas mas com teores muito inferiores de gordura. Estes produtos, por legislação, não podem ter essa designação e são por isso designados cremes de barrar ("spreads") e em Portugal designam-se minarinas.

Estes produtos são a resposta da indústria à necessidade de diminuir a ingestão total de lípidos, e especificamente de ácidos gordos saturados e de isómeros *trans*. São alimentos que, contrariamente aos 80% de gordura das margarinas, contêm apenas 40 a 60% de gordura. Como tal não podem ter as utilizações referidas para as margarinas, nomeadamente em pastelaria, e apresentam um comportamento diferente como meio de transferência de calor.

Continuam esforços, por parte da indústria, no sentido de obter produtos deste tipo com apenas 20% de gordura, Jandacek, 1992.

1.3. MANTEIGA DE CACAU E PRODUTOS SIMILARES UTILIZADOS COMO SEUS SUBSTITUTOS NA FABRICAÇÃO DO CHOCOLATE

1.3.1. Manteiga de cacau

1.3.1.1. Origem

A manteiga de cacau é extraída da vagem da *Theobroma cacao*, Sterculia, que tem no seu interior 25 a 50 sementes, envoltas numa polpa edível.

O seu processamento normal consiste na fermentação das sementes intactas o que provoca a liquefacção da polpa. Segue-se a secagem das sementes até 6-8% de humidade. Por fim sofrem torrefacção, etapa que permite o desenvolvimento total das características organolépticas que distinguem este produto.

A manteiga de cacau é uma substância sólida a 20°C, de cor amarelo pálido, obtida por expressão hidráulica das sementes, previamente limpas, torradas e descorticadas.

Após obtenção tem um teor de ácidos gordos livres de cerca de 1%, um aroma característico e pode ser usada directamente.

As manteigas de cacau de grau de qualidade inferior são normalmente refinadas e desodorizadas, Padley *et al.*, 1986.

1.3.1.2. Características

A manteiga de cacau é a mistura edível de trigliceridos naturais mais cara do mercado, entre outros motivos pelas suas características únicas. Entre elas citam-se :

- ser sólida e quebradiça à temperatura ambiente;
- fundir quase instantaneamente à temperatura corporal, permitindo a libertação sávida, na boca, dos produtos aromáticos que contém, Chang *et al.*, 1990, sem aderência aos dentes;
- ter grande capacidade de moldação e fácil desmoldação;
- ter aspecto brilhante;
- ter grande estabilidade oxidativa, Pease, 1985.

Estas propriedades físicas, distintas das restantes gorduras naturais, são o resultado de uma composição em ácidos gordos invulgar.

Contrariamente aos óleos e gorduras vegetais, a manteiga de cacau tem uma composição relativamente simples, Dimick *et al.*, 1987.

É constituída predominantemente por três trigliceridos, 1(3)-palmitoil-3(1)-estearoil-2-monoleína (POS) e 1,3-diestearoil-2-monoleína (SOS) que constituem respectivamente 52% e 18,4% do total, Aronhime *et al.*, 1988, Chang *et al.*, 1990.

Os trigliceridos contêm geralmente na posição 2 do glicerol, ácido oleico e raramente ácido palmítico e/ou esteárico, ou seja, a percentagem de ácidos gordos saturados na posição 2 do glicerol é de 1,7%, Gegiou *et al.*, 1985.

O estudo da gordura de 22 espécies de favas de cacau de várias origens mostrou que os principais ácidos gordos constituintes eram o ácido palmítico, o ácido esteárico e o ácido oleico nas proporções de respectivamente 26,5%, 33,5% e 35,4%. Continham ainda ácido linoleico (3,3%), ácido linolénico (0,8%), ácido araquídico (0,2%) e vestígios de ácido láurico e mirístico, Gegiou *et al.*, 1985.

A composição em ácidos gordos varia, entre certos limites, de acordo com a região de origem e também com as condições climáticas. Verificou-se que durante a maturação aumentos de temperatura produziam manteigas de cacau mais ricas em ácidos gordos saturados, Padley *et al.*, 1986. A sua composição está expressa na tabela 1.2.

A.G. %	1	2	3	4	5
C14	-	0,02-0,16	-	-	0,7
C16	26	23,6-30,5	26	26,5	25,2
C16:1	0,3	0,1-0,4	-	0,3	-
C18	34,4	30,2-36,5	34	33,5	35,5
C18:1	34,8	33,2-38,6	34	35,4	35,2
C18:3	0,2	0,3	-	0,8	0,2
C20	1	0,7-1,4	1	0,2	vest.
C22	0,2	0,2	-	-	-

Tabela 1.2. Composição em ácidos gordos da manteiga de cacau segundo 1) e 2) Padley *et al.*, 1986. 3) Jandacek, 1992. 4) Gegiou *et al.*, 1985. 5) Pease, 1985.

A composição em esteróis do insaponificável parece variar ligeiramente com o lugar de produção do cacau observando-se, em geral, uma relação para o campesterol, estigmasterol e β -sitosterol da ordem de 1:4:9.

Dadas as suas características e comportamento únicos a manteiga de cacau tornou-se, a dada época, uma matéria-prima imprescindível na fabricação do chocolate, na indústria de cosméticos e na indústria farmacêutica.

1.3.2. Produtos alternativos à manteiga de cacau

A deficiente oferta de manteiga de cacau e as altas cotações comerciais atingidas impulsionaram a procura de fontes alternativas a este produto.

Desvendada a sua composição tornou-se, científica e tecnicamente, possível a imitação da manteiga de cacau recorrendo a múltiplos processos tecnológicos, desde a mistura de gorduras de várias origens, processos de fraccionamento, transesterificação, interesterificação e hidrogenação, a processos biotecnológicos. Salvo raras exceções, estas técnicas de modificação têm algumas desvantagens, podendo ocasionar randomização, isomerização e formação de isómeros *trans*. Apenas o fraccionamento é considerado o método de separação de fracções glicéridicas em que não se verifica alteração da sua forma/configuração natural e permite obter gorduras similares e compatíveis com a manteiga de cacau, Baliga *et al.*, 1981.

A presença de isómeros *trans*, formados durante a hidrogenação, pode alterar o comportamento de fusão dos produtos, caso do triglicerido PEP (2- elaidodipalmitina) que em misturas de 10, 25 e 50% com a manteiga de cacau se mostrou incompatível, Gray *et al.*, 1976.

1.3.2.1. CBE - "Cocoa butter equivalentes" e "cocoa butter extenders"

Os CBE, "cocoa butter equivalentes", são gorduras não hidrogenadas que apresentam uma composição, em ácidos gordos e trigliceridos simétricos insaturados, muito semelhante à da manteiga de cacau e podem ser-lhe adicionados em qualquer proporção, sem que sejam alteradas as principais propriedades físicas desta.

Quanto aos "cocoa butter extenders", embora semelhantes só são compatíveis com a manteiga de cacau, até determinado nível.

Estes produtos podem obter-se a partir de variadíssimas fontes, as quais deverão ter quantidades significativas de trigliceridos 2-oleoildissaturados, Jandacek, 1992.

Um tipo de matéria-prima que pode ser utilizada é o óleo de palma que, após desgomagem, neutralização e desodorização, é fraccionado e misturado com gorduras vegetais. Após desodorização obtém-se um "cocoa butter equivalente" típico.

Formulações óptimas de CBE contêm 30 a 50% da fracção média do óleo de palma e o restante é constituído por sebos vegetais ou estearinas sólidas, Traitler *et al.*, 1985.

Gegiou *et al.*, 1985, referem a produção de CBE a partir de óleos vegetais por fraccionamento e interesterificação, e comparam a sua composição em ácidos gordos com uma manteiga de cacau, tabela 1.3.

AG%	Manteiga de cacau	Coberine *	Choclin	Calvetta
C12	vest.	0,1	0,2	0,1
C14	vest.	0,1	0,5	0,8
C16	26,5	35,8	39,2	58,5
C16:1	0,3	0,1	0,2	0,1
C18	33,5	31,2	22,1	8,5
C18:1	35,4	30	33,8	29,1
C18:2	3,8	1,6	3,4	1,9
C18:3	0,8	1	0,5	0,8
C20	0,2	0,1	0,1	0,2
Sat. pos. 2	1,7	15,9	16,4	16,7

Tabela 1.3. Composição em ácidos gordos de CBEs comparativamente com a da manteiga de cacau.

* obtida do óleo de palma por fraccionamento com solventes

Baliga *et al.*, 1981 e Gaydou, 1984, defendem a obtenção de CBE, "cocoa butter extenders", a partir do fraccionamento de gorduras indígenas tais como "sal" (*Shorea robusta*), "dhupa" (*Vateria indica*), "kokum" (*Garcinia indica*), "mowrah" (*Bassia latifolia*), "mango" (*Magnifera indica*), "shea" (*Butyrospermum parkii*) e "illipe" (*Shorea stenoptera*), cujas composições em ácidos gordos estão descritas na tabela 1.4.

O fraccionamento das gorduras tem por finalidade separar a fracção que apresenta propriedades similares à manteiga de cacau.

A.G.%	1	2	3	4	5	6	7	8
C16	26,2	4,6	12,2	3,1	24,1	8,4	17,5	3,3
C18	34,4	44,2	42,4	56,1	19,3	42,2	46	44,3
C18:1	37,3	42,1	40,5	39,1	43,4	42,4	35	45,6
C18:2	2,1	2,8	2,2	1,7	13,2	4,7	1	5,5
C20	-	6,3	2,7	-	-	2,3	0,1	1,3

Tabela 1.4. Composição em ácidos gordos de gorduras indígenas que podem ser utilizadas como CBE (extenders) e da manteiga de cacau, Baliga *et al.*, 1981. 1) Manteiga de cacau. 2) *Shorea robusta*. 3) *Vateria indica*. 4) *Garcinia indica*. 5) *Bassia latifolia*. 6) *Magnifera indica*. 7) *Shorea stenoptera*, também designada "Illipe", Padley *et al.*, 1986. 8) *Butyrospermum parkii* também designada "karite".

1.3.2.2. CBS - "Cocoa butter substitutes"

Estes produtos são incompatíveis com a manteiga de cacau pois apresentam composição muito diferente daquela.

São produtos muito mais baratos e frequentemente são usados em produtos designados "sucedâneos" de chocolate.

Para se aproximarem das características de fusão da manteiga de cacau, estes produtos sofrem técnicas de modificação, entre elas a hidrogenação e a interesterificação.

A hidrogenação aumenta a estabilidade à oxidação, provoca aumento do ponto de fusão e simultaneamente diminui o intervalo de fusão.

A interesterificação química provoca um rearranjo dos ácidos gordos nos triglicerídeos conferindo-lhe a "performance" desejada, ou seja, permitindo a completa fusão à temperatura de 37°C, Jandacek, 1992.

Actualmente preconiza-se a interesterificação catalisada por lipases pois obtêm-se produtos com maior semelhança relativamente à manteiga de cacau e usam-se temperaturas mais baixas.

São produzidos a partir de triglicerídeos que contêm níveis elevados de ácido láurico, caso dos óleos de palmiste e coconote.

O uso de matérias-primas láuricas requiere precaução pois o facto de conterem ácidos gordos de cadeia curta, pode provocar o aparecimento de sabor "a sabão" caso se verifique actividade lipolítica, situação tanto mais grave quanto mais longa fôr a validade do produto em questão.

É referida a utilização de estearinas láuricas como CBS, a estearina de coco obtida por fraccionamento do óleo de coco e a estearina de óleo de palmiste hidrogenada, Traitler *et al.*, 1985.

1.3.2.3. CBR - "Cocoa butter replacers"

A designação CBR de alguns autores inclui as matérias-primas designadas por outros como CBS não-láuricos.

Não tendo sido possível encontrar pontos de distinção entre estes tipos de substâncias vamos agrupá-las com a designação CBR.

Têm origem em óleos não láuricos tais como palma, soja, colza, algodão, amendoim, milho, cártamo e girassol; conseqüentemente têm teores elevados de ácidos gordos em C₁₆ e C₁₈.

São normalmente constituídos por misturas dos óleos anteriormente citados após hidrogenação parcial e fraccionamento, Hogenbirk, 1991, Jandacek, 1992.

Os CBR hidrogenados e fraccionados têm um valor superior ao dos CBS, pois toleram mais de 25% de manteiga de cacau quando usados como gordura de cobertura, enquanto que os CBS apenas são compatíveis com 6%.

Estes produtos podem ser divididos em dois grupos, os hidrogenados selectivamente e os hidrogenados e fraccionados.

A hidrogenação selectiva é utilizada em óleos altamente insaturados e visa melhorar a sua estabilidade estrutural e organoléptica.

Com a formação de isómeros *trans* e impedindo a formação de ácido esteárico, obtém-se a "performance" desejada.

Estas técnicas de modificação permitem a obtenção de produtos com dureza sensivelmente entre a da manteiga de cacau e a da gordura de leite.

As propriedades e tendências de recristalização que apresentam dependem da matéria-prima inicial, das condições de hidrogenação e do método de fraccionamento.

Estão sempre presentes na sua composição altos níveis de ácidos gordos *trans* isoméricos, os quais intervêm na velocidade de cristalização e na dureza do produto final.

São uma matéria-prima de baixo custo utilizada na indústria de confeitaria e produtos afins do chocolate.

A utilização de "Cocoa butter replacers" acarreta variadas vantagens sendo de citar a inexistência de sabores e odores indesejáveis, no caso dos produtos sofrerem hidrólise; tendência reduzida para originarem "fat bloom"; brilho relativamente estável; miscibilidade razoável com a manteiga de cacau; e estabilidade de preço, Hogenbirk, 1991.

Chang et al., 1990, descrevem a obtenção de um CBR a partir de óleo de algodão e azeite completamente hidrogenados, por interesterificação enzimática seguida de fraccionamento por acetona. Referem um rendimento de 19% relativamente ao peso inicial de matéria-prima.

1.3.2.4. CBI - "Cocoa Butter Improvers"

De acordo com Kawahara, 1993, "cocoa butter improvers" são gorduras produzidas enzimaticamente e que apresentam uma composição muito próxima da da manteiga de cacau.

A tabela 1.5. compara a composição em trigliceridos de uma manteiga de cacau e de um CBI.

Há várias patentes registadas acerca do modo de imobilização da enzima e do bioreactor usados no processo. Geralmente o bioreactor contém a enzima imobilizada em celite, numa resina de troca iónica ou em células microbianas.

O recurso a enzimas tem permitido a alteração do modelo de trigliceridos monoinsaturados em fracções do óleo de palma.

A fracção rica em trigliceridos POP (1,3-dipalmitoil-2-oleoilglicerol) em contacto com ácido esteárico, por acção enzimática, é convertida numa mistura de POP, POS (1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoilglicerol) e SOS (1,3-diestearoil-2-oleoilglicerol). Obtém-se uma gordura com composição glicerídica semelhante à manteiga de cacau que pode ser usada como CBE na indústria de confeitaria e chocolates.

A enzima utilizada é uma lipase 1,3 específica. O meio de reacção consiste na mistura dos triglicéridos a converter e o componente C₁₈ como ácido livre ou na forma de triestearina, num solvente orgânico não polar, Bloomer *et al.*, 1990.

Triglicéridos %	CBI	Manteiga de cacau
SSS	3,4	1,9
POP	6,9	15,3
POSt	35	38,1
StOSt	43,3	28,2
SUU	5,6	12,6
DG	3	2,5
Outros	2,8	1,4

Tabela 1.5. Composição em triglicéridos de CBI obtido por interesterificação da fracção média de óleo de palma e ácido esteárico comparativamente com a da manteiga de cacau, Kawahara, 1993. Radical acilo: S-saturado; St-estearato; P-palmitato; O-oleato; U-insaturado; DG-diglicérido

Chong *et al.*, 1992, descreveram também uma técnica de obtenção de substâncias semelhantes à manteiga de cacau, a partir do fraccionamento e interesterificação enzimática da oleína do óleo de palma, com uma produção de 25% relativamente ao peso inicial de oleína.

A interesterificação enzimática para a produção de CBE parece não ter sido ainda levada a cabo a escala industrial, apesar dos esforços e pesquisas desenvolvidos.

É também possível a introdução de um radical acilo num diglicérido, na presença da lipase de *Geotrichum candidum*. É o caso do 1-palmitoil-3-estearoilglicerol que por adição de ácido oleico forma um triglicérido monoinsaturado, 1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoilglicerol.

1.3.2.5. Produtos obtidos por cultura de tecidos

Têm sido tentados processos biotecnológicos para obter gorduras similares à manteiga de cacau. Citam-se por exemplo o recurso a enzimas e à cultura de tecidos.

Este último processo tem como vantagem não depender de flutuações climáticas, as plantas estarem livres de pestes e microrganismos e os embriões poderem ser modificados de modo a terem maiores produções.

Parece possível induzir a expressão de genes desejáveis em culturas de células originando a síntese de manteiga de cacau.

Uma hipótese possível será alterar o metabolismo lipídico dessas células de modo a provocar a acumulação de triglicerídeos.

Contudo para a produção a nível industrial de manteiga de cacau por estas tecnologias é ainda necessária muita pesquisa no metabolismo lipídico, Wen *et al.*, 1984.

CAPÍTULO 2

EFEITOS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E DAS MANIPULAÇÕES CULINÁRIAS NA FORMAÇÃO DE ISÓMEROS *TRANS* DOS LÍPIDOS ALIMENTARES

Para terem sucesso na indústria alimentar, os óleos e gorduras devem apresentar determinadas características tecnológicas e satisfazer as exigências nutricionais.

A qualidade da matéria-prima, antes de qualquer processamento, determina a qualidade do produto final, Hoffmann, 1986.

O processamento tem por objectivo, de um modo geral, obter a maior produção possível de óleo ou gordura edíveis, a partir das matérias-prima utilizadas, mantendo a sua qualidade e valor nutritivo.

Geralmente o processamento de óleos e gorduras inclui várias técnicas.

A refinação é uma tecnologia de processamento frequentemente presente e que pode ou não ser completada com técnicas de modificação composicional de óleos e gorduras, como é o caso da hidrogenação, interesterificação e fraccionamento.

Frequentemente é utilizada também a mistura de óleos e gorduras de composição diferente visando a obtenção de um produto com determinadas características.

As tecnologias de processamento têm tido um impacto muito importante na permuta dos óleos e das gorduras. Os óleos vegetais para alimentação, com características muito próprias, não são permutáveis entre si. São substituíveis uns pelos outros apenas na contribuição energética na dieta (9kcal/g). Outras propriedades nutricionais, como teores de colesterol e composição em ácidos gordos, variam consideravelmente nos lípidos alimentares. No entanto, a tecnologia actual permite um alto grau de permuta desde que os custos adicionais requeridos o justifiquem.

A baixa produção de gorduras sólidas e o grande incremento de produção de óleos vegetais levou ao uso da hidrogenação, técnica que se tornou uma tecnologia quase universal. Com a hidrogenação é possível produzir uma grande variedade de gorduras sólidas a partir de qualquer matéria-prima inicial.

A interesterificação é um processo que aumenta o teor de sólidos e modifica o polimorfismo dos lípidos de modo a obter cristais pequenos e estáveis. Esta é outra técnica que permite produzir modificação na composição química. Como grande vantagem, relativamente à hidrogenação, não origina a formação de isómeros posicionais nem geométricos.

Com o acoplamento do fraccionamento e da interesterificação pode conseguir-se qualquer produto com determinadas características mas a hidrogenação, apesar dos seus custos e da formação de produtos "não naturais" como os isómeros posicionais e geométricos, continuará a desempenhar um papel importante na indústria de óleos e gorduras.

A combinação adequada de técnicas de interesterificação, fraccionamento e hidrogenação pode contribuir para o desenvolvimento de produtos de alta qualidade, por exemplo a partir de óleos de girassol e de colza, matérias-prima abundantes, Dotson, 1992.

Contudo o processamento pode também, especialmente se conduzido de modo inapropriado, promover ou induzir alterações indesejáveis nos óleos. Como exemplo citam-se a redução do valor nutricional por alteração dos níveis de ácido linoleico e de tocoferóis ou ainda por isomerização geométrica dos ácidos gordos insaturados.

2.1. PROCESSAMENTO DE ÓLEOS VEGETAIS

O processamento de óleos vegetais oriundos de sementes oleaginosas pode ser dividido em quatro blocos com várias etapas cada. Esses blocos podem designar-se por pré-tratamentos, obtenção, refinação e modificação do óleo e estão representados na tabela 2.1., Tatum *et al.*, 1992.

2.1.1. Refinação

As etapas da refinação que poderão contribuir para a formação de isómeros *trans* são a desgomagem, o branqueamento e a desodorização.

Na desgomagem faz-se contactar o óleo com água ou soluções de ácido fosfórico.

A operação de branqueamento consiste na mistura de uma terra activada (0,2 a 2%) com o óleo durante um determinado período de tempo, sob vazio, e a temperaturas preferentemente inferiores a 100°C.

O aumento de acidez provocado nestas etapas pode conduzir à hidrólise dos trigliceridos com o conseqüente aumento dos ácidos gordos livres e ainda isomerização *cis/trans* dos acilos.

A desodorização consiste basicamente numa destilação levada a cabo a altas pressões e altas temperaturas. Se efectuada em condições drásticas (por exemplo 220°C/2h) verificam-se aumentos significativos de ácidos gordos livres e a possibilidade de isomerização dos radicais livres.

Pré-tratamentos

- Seleção e limpeza das sementes
- Secagem
- Descasque
- Trituração e cozedura

Obtenção do óleo

- Extracção
- Eliminação dos solventes

Refinação química

- Desgomagem ••
- Neutralização
- Branqueamento ••
- Desodorização ••

Refinação física

Modificação química

- Hidrogenação •••
- Interesterificação
- Fraccionamento
- Métodos enzimáticos

-
- Tabela 2.1.** Etapas de processamento de óleos vegetais
- Etapas em que é previsível ocorrer isomerização *cis/trans*
 - Etapa em que ocorre sempre isomerização *cis/trans*

2.1.2. Hidrogenação

A hidrogenação catalítica é, sem sombra de dúvida, a etapa de processamento que origina teores mais elevados de isómeros *trans*.

As gorduras hidrogenadas apresentam apreciáveis quantidades destes isómeros, isómeros de posição e formas conjugadas, raras no estado natural. Segundo Enken 90-95% dos ácidos gordos isoméricos da dieta são fornecidos pelas gorduras hidrogenadas. Estas entram na formulação de variadíssimos produtos alimentares, entre eles margarinas, shortenings, produtos processados e alimentos para crianças, Craig-Schmidt, 1992.

A hidrogenação, também designada por processo de endurecimento, é uma forma de processamento de lípidos das mais antigas e de grande importância já que 1/3 das gorduras consumidas mundialmente sofrem hidrogenação antes da sua utilização final, Dotson, 1992.

Desde o início do século a hidrogenação de óleos, gorduras e ácidos gordos tem sido uma importante forma industrial de modificar as características de fusão, plasticidade, espalmabilidade e dureza e aumentar a estabilidade química e térmica desses produtos. Esta operação permite utilizar óleos em produtos sólidos, como por exemplo na formulação de margarinas.

O processo torna-se possível usando um catalisador adequado, a elevadas temperaturas (150-200°C) e a elevadas pressões (2-10 Bar).

Consiste numa reacção química de adição de hidrogénio às duplas ligações dos ácidos gordos insaturados. Os metais de transição, especialmente o níquel num estado de alta dispersão, exercem uma atracção extra nos electrões da dupla ligação e nos átomos de hidrogénio. Os átomos de hidrogénio adsorvidos e as duplas ligações temporariamente abertas provocam a saturação da ligação.

A abertura temporária das ligações pelos metais de transição, usados como catalisadores, causa simultaneamente alterações na localização e na configuração das duplas ligações e a formação de ligações conjugadas. Em situações extremas pode causar ciclização originando estruturas hidroaromáticas e aromáticas ou produtos poliméricos, Hoffmann, 1986.

Os óleos que normalmente sofrem este tipo de processamento são o óleo de soja e de colza, outros óleos vegetais ricos em ácido linoleico e/ou em ácido linolénico e óleos de peixe ricos em ácidos gordos polinsaturados, Gunstone, 1986.

A hidrogenação tem por objectivos :

- Diminuir a susceptibilidade dos óleos à oxidação, caso do óleo de soja e de colza
- Estabilizar óleos e torná-los viáveis para uso em fritura profunda, sem alteração física notória, de modo a que possam ser utilizados simultaneamente na cozinha e como tempero
- Obter óleos com as características aceitáveis para formulação alimentar, caso dos óleos de peixe.
- Converter óleos em gorduras plásticas para a produção de margarinas e de shortenings, Denise, 1982.

Os parâmetros com maior importância neste processo são a velocidade de reacção e a selectividade, Koseoglu, 1991, que por sua vez dependem de muitos outros factores inscritos na tabela 2.2., Gunstone, 1986, Young, 1986, de Man, 1992.

Aumento de	Efeito na selectividade	Efeito na isomerização
Temperatura	Aumento	Aumento
Pressão	Diminuição	Diminuição
Agitação	Diminuição	Diminuição
Concentração de catalisador	Aumento	Aumento
Actividade do catalisador	Aumento	Diminuição

Tabela 2.2. Factores que afectam a isomerização e a selectividade do processo de hidrogenação de óleos e gorduras.

Yusem *et al.*, 1992, descreveram um novo processo de hidrogenação electrocatalítica do óleo de soja, que decorria a temperaturas de 70°C, sem fornecimento exterior de hidrogénio. O hidrogénio atómico era produzido por redução electroquímica de moléculas de água, a partir de uma solução electrolítica, na superfície do catalisador. Mantendo a temperatura de reacção baixa, era possível minimizar a isomerização, a degradação térmica do óleo e outros tipos de reacções indesejáveis. Apresentava como

vantagens o controlo facilitado da concentração de hidrogénio, menor possibilidade de contaminação do óleo com o catalisador e maior segurança. O óleo obtido por este processo tinha um teor de ácido esteárico mais elevado e um teor de isómeros *trans* menor que o obtido pelos processos correntemente utilizados.

Geralmente a hidrogenação das gorduras é apenas parcial e pode ser selectiva ou não selectiva. A selectividade é implementada aumentando a temperatura de hidrogenação mas simultaneamente há implementação da isomerização.

Óleos hidrogenados selectivamente são mais resistentes à oxidação devido à hidrogenação preferencial dos ácidos polinsaturados, nomeadamente o ácido linolénico. Este comportamento está relacionado também com as reactividades relativas dos ácidos oleico, linoleico e linolénico que são respectivamente 1, 20 e 40, Draguez de Hault *et al.*, 1984.

A selectividade e conseqüentemente a extensão da isomerização durante a hidrogenação tem grande importância nas características de fusão e cristalização da gordura hidrogenada.

Para determinado grau de insaturação um produto terá mais ácidos gordos saturados e também mais ácidos gordos insaturados se a selectividade for baixa. Apresenta então uma alta plasticidade, característica que torna este tipo de gordura adequado para utilização em shortenings e gorduras para pastelaria.

Se a selectividade é alta e a hidrogenação é parcial, o conteúdo em ácidos monoinsaturados é elevado. A configuração das duplas ligações é predominantemente *trans*. Obtém-se o tipo de gordura usado na produção clássica de margarinas, Hoffmann, 1986.

Durante a hidrogenação parcial é de primordial importância limitar :

- a formação de compostos saturados; os compostos poliénicos devem ser hidrogenados a dienos e monoenos.
- a isomerização *cis/trans*; esta alteração ocorre sempre durante a hidrogenação e como resultado formam-se produtos sólidos.
- a formação de ácidos gordos conjugados, que apresentam grande instabilidade, Draguez de Hault *et al.*, 1984.

2.1.2.1. Mecanismo da hidrogenação

Um aspecto importante da hidrogenação é a formação de isómeros geométricos e posicionais. A formação de isómeros *trans* é rápida e extensa e pode ser explicada pelo carácter reversível da adsorção química, de Man, 1992.

Considerando o substrato (S) e o catalisador metálico (CM), a hidrogenação pode ser representada pelo esquema da figura 2.1.

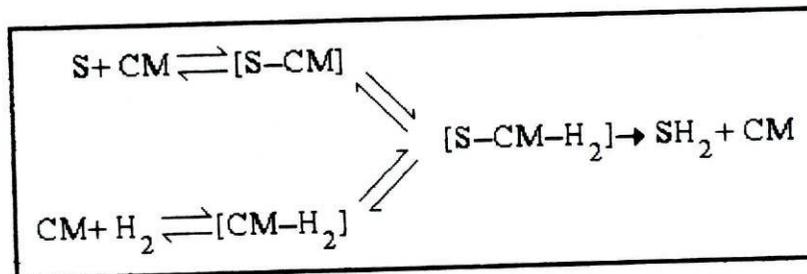


Figura 2.1. Mecanismo da hidrogenação.

(S) substrato; (CM) catalisador metálico

Na figura 2.2. considera-se a hidrogenação de um ácido gordo insaturado.

Resultam, da hidrogenação, isómeros geométricos (*cis/trans*) e de posição. A proporção de isómeros *trans* formados é superior uma vez que esta configuração é mais estável relativamente à *cis*. A migração da dupla ligação ocorre em ambas as direcções contudo mais extensamente em direcção oposta ao grupo éster, de Man, 1992.

Dada a complexidade das gorduras e dos óleos, os estudos para tipificar a isomerização ocorrida foram realizados sobre moléculas bem definidas : oleato, linoleato e linolenato de metilo.

A hidrogenação do oleato, linoleato e linolenato podem então ser representadas simplifadamente pelos esquemas das figuras 2.3., 2.4. e 2.5.

• **A hidrogenação parcial do linoleato de metilo** origina uma mistura complexa cuja composição depende das condições de hidrogenação. É particularmente importante a formação de dienos conjugados (9*c*, 11*t*) e (10*t*, 12*c*) quando se utilizam catalisadores de cromite de cobre, já que os dienos não conjugáveis e monoenos não são reduzidos por este catalisador, Gunstone, 1986.

O linoleato de metilo, embora tendo apenas o dobro das duplas ligações do oleato de metilo é 5 a 100 vezes mais reactivo. Este facto pode ser explicado pela redução rápida dos dienos conjugados, que não é possível no oleato de metilo, e pelo facto de os ésteres poliénicos se ligarem mais fortemente à superfície do catalisador.

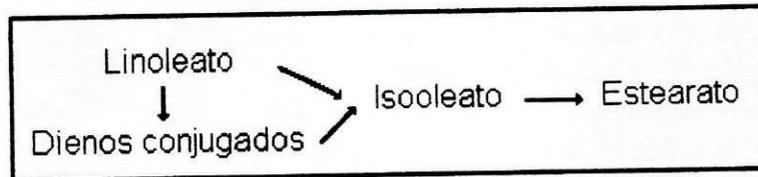


Figura 2.4. Hidrogenação do linoleato

• **A hidrogenação parcial do linolenato de metilo** é ainda mais complexa. Os compostos conjugados são normalmente reduzidos mais rapidamente que os isómeros não conjugados. Portanto, os dienos conjugados e conjugáveis são prontamente hidrogenados mas os não conjugados, tal como os monoenos, reagem mais lentamente e tendem a acumular-se durante a hidrogenação parcial, Gunstone, 1986, de Man, 1992.



Figura 2.5. Hidrogenação do linolenato

Estes ensaios suportam o que se observa na prática analítica dos óleos e gorduras alimentares hidrogenados, onde é frequente encontrar formas *cis/cis*, *cis/trans*, *trans/cis* e *trans/trans*.

2.2. ALTERAÇÕES INDESEJÁVEIS SUSCEPTÍVEIS DE OCORRER DURANTE O PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE ÓLEOS E GORDURAS

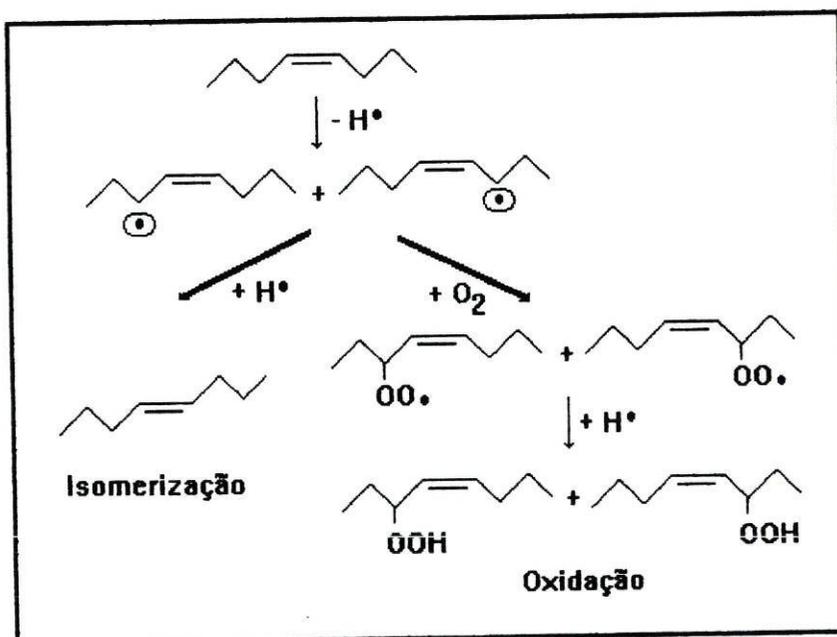
As alterações que podem ocorrer estão relacionadas com a reactividade dos ácidos gordos, particularmente das suas duplas ligações e da ligação éster com o glicerol.

A insaturação carbono-carbono é composta por :

- uma ligação σ com uma energia de 100kcal/mol formada por orbitais híbridos sp^2 de ambos os carbonos
- uma ligação π com uma energia de 45kcal/mol formada por orbitais p.

Os electrões que participam na ligação π são os mais acessíveis e consequentemente os mais reactivos.

Por este motivo os ácidos gordos insaturados têm nos carbonos alílicos da dupla ligação um ponto vulnerável que os torna susceptíveis a reacções de oxidação e isomerização.



As causas mais frequentes de deterioração da qualidade de óleos e gorduras durante o processamento e a armazenagem estão descritas na tabela 2.3.

Oxidação

Autoxidação
Fotoxidação
Enzimática

Hidrólise

Isomerização

Tabela 2.3. Causas de deterioração mais frequentes dos óleos e gorduras

2.2.1. Isomerização

Uma das alterações que podem ocorrer durante o processamento dos óleos e gorduras é a isomerização das duplas ligações dos ácidos gordos insaturados constituintes dos triglicerídeos.

As duplas ligações no estado natural apresentam normalmente a configuração *cis*.

Com o processamento pode ocorrer modificação desta configuração surgindo a configuração *trans*, Craig-Schmidt, 1992.

Esta isomerização deve-se ao facto de a dupla ligação *cis* se tratar de uma configuração de maior energia, contrariamente à dupla ligação *trans* que é uma configuração de menor energia. Evidencia-se o referido com o exemplo do ácido oleico e o ácido eláidico. O primeiro é líquido à temperatura ambiente enquanto o segundo é sólido.

A ligação *trans* confere à molécula um rearranjo linear semelhante ao apresentado pelo ácido gordo saturado correspondente, Wood, 1992.

A isomerização tem maior probabilidade de se verificar na refinação (fases da desgomagem, branqueamento e desodorização) e verifica-se sempre na hidrogenação catalítica.

Pode resultar ainda da biohidrogenação no rúmen de ruminantes. Consequentemente é inevitável a presença de isómeros *trans* na gordura de leite (1,9-8,6%), na manteiga (4,3-7,6%), em carnes (1,3-4,4%) e em gorduras animais (4,8-6,6%).

Das alterações que ocorrem no decurso de fenómenos de oxidação, a isomerização é uma das possíveis, Denise, 1982.

2.3. ALTERAÇÕES VERIFICADAS NA COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GORDOS COM O PROCESSAMENTO CULINÁRIO

Entende-se por práticas culinárias as utilizadas em cozinha, doméstica ou comercial, para tornar edíveis os alimentos.

As práticas culinárias mais comuns descrevem-se na tabela 2.4.

Calor seco

- Cozedura em forno
- Assados
- Grelhados

- Microondas

Com adição de água

- Cozidos
- Estufados
- Cozedura a fogo brando
- Cozedura sob pressão

Com adição de óleo ou gordura

- Fritura em frigideira
- Fritura profunda

Tabela 2.4. Práticas culinárias mais comuns

A instabilidade dos ácidos gordos dos alimentos expostos às práticas culinárias normais tem sido estudada por inúmeros investigadores desde os anos 50. As conclusões a que têm chegado variam grandemente. Uns referem ausência de alterações, outros concluíram pela perda selectiva de ácidos gordos, quer por oxidação quer por saída para o exterior, durante o processamento.

A inconsistência dos resultados obtidos pode ser justificada pela falta de procedimentos padrão em culinária e pelo livre arbítrio de condições. Além disso não há consenso acerca do tempo de exposição do alimento ao calor, da temperatura interna que deverá atingir e da altura ideal de finalizar o seu processamento, Armstrong *et al.*, 1992.

2.3.1. Consequências do processamento culinário

Para o alimento se tornar edível é necessário verificar-se a cisão parcial das ligações moleculares. A radiação infravermelha tem capacidade quase imediata de cisão de moléculas.

A energia fornecida pelas microondas não é responsável directamente por qualquer alteração química que ocorre no alimento. Todas as reacções são atribuídas à energia térmica gerada da absorção das radiações de microondas.

A temperatura atingida pelo alimento, resultante do seu processamento, é o principal factor a influir no tipo e extensão da reacção química de alteração.

Um factor importante também é a presença do oxigénio atmosférico nas proximidades do alimento em preparação. A alteração deste, expressa em índice de peróxido, é superior quando essa preparação ocorre em recipientes em contacto com o ar, mesmo a 30°C, Armstrong *et al.*, 1992.

A resposta do alimento à temperatura depende da sua composição.

Alimentos ricos em água sofrem uma pequena subida de temperatura devido ao elevado calor específico da água. Pelo contrário, usando microondas este tipo de alimentos gera calor mais eficientemente devido à grande polaridade das moléculas de água.

A composição em ácidos gordos, a quantidade de gordura e a quantidade de ácidos gordos expostos à radiação são também factores com influência na temperatura atingida pelo alimento, quer usando métodos convencionais quer usando microondas.

Nos alimentos com fraco teor de lípidos uma significativa proporção de calor é absorvida por moléculas não lipídicas e como tal os fenómenos de oxidação são retardados.

As características físicas do alimento, tal como a massa, a espessura, o volume, a superfície de exposição e a composição não homogénea, afectam também a temperatura que o alimento atinge com o processamento e interferem na distribuição do calor através dele.

Está estabelecido que a temperatura atingida pelo alimento é o principal iniciador da sua alteração química. Torna-se então de grande interesse compreender o processo de resposta dos ácidos gordos ao calor e para evitar interferências da matriz alimentar foi feito o seu estudo isoladamente.

No aquecimento por microondas de soluções de ácido oleico e ácido linoleico verificou-se que o último atingiu uma temperatura final mais elevada.

Usando esta mesma técnica aplicada a ácidos gordos saturados com diferentes comprimentos de cadeia, de C₈ a C₁₈, verificaram-se também diferentes comportamentos. As cadeias mais curtas sofrem um maior incremento de temperatura.

De acordo com o referido, parece poder afirmar-se que a energia das radiações de microondas é mais eficientemente convertida em calor pelos ácidos gordos, quanto menor fôr a sua cadeia carbonada e quanto maior fôr o seu grau de insaturação.

Segundo Yoshida *et al.*, 1992, quanto menor fôr a cadeia carbonada e maior o teor de ácidos gordos livres, mais rápida será a oxidação térmica do óleo, dado o efeito catalítico dos grupos carboxilo.

A deterioração do óleo também aumenta com o teor de ácidos gordos polinsaturados.

Relativamente às técnicas convencionais, parece possível afirmar que os ácidos gordos saturados são razoavelmente estáveis, considerando as temperaturas normalmente usadas em culinária.

À temperaturas de 150°C e em presença de ar podem já ser detectados produtos de oxidação, aldeídos, cetonas, lactonas e séries homólogas de hidrocarbonetos.

Os ácidos gordos insaturados são bastante mais lábeis, aumentando a sua instabilidade com a insaturação.

Na ausência de oxigénio os ácidos gordos polinsaturados formam dímeros, polímeros e monómeros cíclicos. Este tipo de compostos é também encontrado em níveis significativos em gorduras sujeitas a altas temperaturas, em fritura profunda.

Em presença de oxigénio os ácidos gordos polinsaturados degradam-se mais rapidamente. Originam produtos semelhantes aos que se formam na autoxidação, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, alcoóis, hidrocarbonetos, lactonas, compostos cíclicos, dímeros e polímeros. Os níveis destes compostos dependem da temperatura atingida mas surgem mesmo entre 25 e 80°C.

Nos próprios tecidos biológicos dos alimentos existem componentes que afectam a integridade dos ácidos gordos, como por exemplo as enzimas endógenas. A cozedura pode inibir a sua actividade autolítica, no entanto, dependendo da enzima, o processamento terá de ser mais ou menos drástico.

O efeito mais divulgado, das práticas culinárias, nos lípidos alimentares é a sua perda por saída para o exterior. Estas perdas são mais acentuadas nos alimentos lipídicos. Embora não seja uma alteração de estrutura, o que se verifica é uma alteração da composição do alimento.

A perda mais acentuada verifica-se nos lípidos neutros localizados no espaço intercelular, e dentro desta classe, a perda atinge selectivamente as moléculas com

pontos de fusão mais baixos. Estes lípidos neutros são fundamentalmente constituídos por triglicéridos com ácidos gordos saturados e mono e diinsaturados. Os ácidos gordos polinsaturados estão preferentemente ligados às moléculas dos fosfolípidos que entram na composição das membranas celulares e que conseqüentemente não gotejam para o exterior.

Esta diminuição do teor lipídico do alimento e o aumento da relação entre ácidos gordos polinsaturados e ácidos gordos saturados pode considerar-se não só nutricionalmente significativa como também benéfica.

Na fritura verifica-se a introdução de ácidos gordos exógenos ao alimento e como tal o contacto do alimento com um óleo ou gordura altera o seu conteúdo de ácidos gordos. Este facto pode dever-se a absorção por parte do alimento de óleo ou gordura, cedência de lípidos do alimento para o meio e catalização, por intermédio de radicais livres formados no óleo quente, de reacções oxidativas no alimento.

Os fenómenos de difusão que ocorrem entre os glicéridos endógenos do alimento e os glicéridos exógenos dos banhos de fritura tendem para um equilíbrio.

Absorção do óleo ou gordura pelo alimento

Foi demonstrado em estudos de fritura de filetes de peixe panados, quer por imersão parcial quer por imersão total, que a absorção de ácidos gordos do óleo de fritura pelo alimento varia inversamente com o seu conteúdo lipídico. Essa absorção aumenta em produtos panados.

Cedência de lípidos para o meio

Num estudo feito em quatro tipos de filetes de peixe que sofreram fritura verificou-se que o tipo mais rico em gordura foi o que evidenciou maior perda. O ácido linoleico relativamente ao ácido araquidónico sofreu uma perda superior. Este facto evidencia a, já referida, perda selectiva, preferencialmente de gorduras intercelulares ricas em ácidos gordos, onde o ácido linoleico predomina. Por sua vez o ácido araquidónico está preferentemente ligado aos fosfolípidos membranares.

De acordo com o referido em Armstrong *et al.*, 1992, embora ocorra a absorção de ácidos gordos do óleo de fritura para o alimento, a perda de lípidos nativos é mais intensa, especialmente quando se trata de peixe.

A absorção ou perda de determinado ácido gordo depende da sua abundância relativa, facto que parece ser confirmado por Sánchez-Muniz *et al.*, 1992, no trabalho em que descreve a fritura de sardinhas em diferentes tipos de matéria gorda.

Quando a fritura ocorria em banha, o teor de ácidos gordos monoinsaturados aumentava 8 vezes e o teor de ácidos gordos polinsaturados (n-6) aumentava 6,3 vezes; o teor de ácidos gordos polinsaturados (n-3) não sofria alteração.

No caso da fritura em azeite verificava-se um aumento de 10 vezes no teor de ácidos gordos monoinsaturados, de 4 vezes no teor de ácidos gordos polinsaturados (n-6) e os ácidos gordos polinsaturados (n-3) sofreram uma diminuição no seu teor de 2,2 vezes.

Na fritura com óleo de girassol os ácidos gordos monoinsaturados aumentaram 4,2 vezes, os ácidos gordos polinsaturados (n-6) 19,9 vezes e os ácidos gordos polinsaturados (n-3) diminuíram o seu teor 3,3 vezes.

Efeitos oxidativos

Está estabelecido que a oxidação de ácidos gordos pode ocorrer como resultado de práticas culinárias, contudo não tão acentuadamente como previam os primeiros estudos efectuados.

No caso da oxidação a perda verifica-se preferencialmente nos fosfolípidos, em detrimento dos lípidos neutros. Este facto é explicado pela maior susceptibilidade dos ácidos gordos polinsaturados e pela presença de maiores quantidades destes na fracção membranar dos fosfolípidos.

O aquecimento a seco de sardinhas fornece resultados equivalentes aos anteriormente descritos. Os efeitos são mais acentuados quanto maior fôr a temperatura usada.

Está descrito que a oxidação sofre um grande incremento durante o armazenamento, subsequente ao processamento, mesmo em condições normais de refrigeração.

Efeitos secundários da oxidação de ácidos gordos são também possíveis levando à formação de uma vasta gama de compostos resultantes da cisão dos hidroperóxidos. A partir de determinadas concentrações, produzem odores desagradáveis e cores intensas que provocam a rejeição organoléptica do alimento.

Está aceite que ocorrem alterações nos ácidos gordos durante as práticas culinárias. O problema actualmente põe-se em saber se estas são ou não significativas em termos nutricionais.

Não é fácil eleger a prática culinária ideal uma vez que não há condições padronizadas e pelos estudos efectuados não se consegue obter consenso.

2.3.2. Fritura profunda

Actualmente os consumidores exigem produtos seguros e de qualidade.

Incidem a sua atenção nos efeitos nutricionais, de saúde, dietéticos e ambientais dos alimentos que ingerem. Concomitantemente não prescindem de um aroma e sabor agradáveis, aparência e textura atractivas, versatilidade e rapidez de preparação.

Os produtos fritos têm uma grande popularidade especialmente devido aos seus atributos sensoriais e facilidade de preparação.

Porém, os nutricionistas contestam este tipo de processo culinário e recomendam a sua abolição ou a ingestão moderada de produtos fritos.

É um facto que em certas faixas da população, pessoas idosas, com excesso de peso, com certas patologias, o enriquecimento do alimento em gordura é um factor alimentar negativo. Contudo em populações jovens e com elevado esforço físico, em que é necessária uma alta densidade calórica, pode ser útil desde que não seja acompanhado da ingestão de substâncias que apresentem um efeito fisiológico e nutricional adverso.

A fritura é um processo de preparação de alimentos muito antigo, desenvolvido inicialmente pelos povos mediterrânicos, Cuesta *et al.*, 1991.

É um excelente meio de transferência de calor ao alimento, executando-se geralmente em menos de 10 minutos. Desenvolve aroma, cor e textura no alimento que se mantêm durante um considerável período de tempo. Além disso, a sua fácil e rápida execução torna o processo económico e vantajoso para o produtor e para o consumidor, sendo actualmente das operações de processamento de alimentos com mais sucesso e das mais vulgarmente praticadas.

A fritura, enquanto técnica de preparação de alimentos, é um processo complexo em que intervêm o óleo de fritura, o alimento, o equipamento e as condições de trabalho, Blumenthal, 1991, com múltiplos parâmetros de influência e, por isso, de difícil entendimento.

Este tipo de preparação de alimentos no seu todo e/ou parte do sistema, por exemplo o óleo de fritura, tem sido alvo de numerosos estudos questionando a segurança de óleos aquecidos.

Durante o processo o óleo ou gordura é submetido à acção de 3 variáveis que interferem negativamente na sua qualidade:

- a humidade e electrólitos cedidos pelo alimento, o que facilita a hidrólise dos trigliceridos;
- o oxigénio do ar, com efeito fundamental na zona superficial e que intervém na alteração oxidativa;
- e a temperatura elevada que pode provocar alteração térmica, Dobarganes *et al.*, 1989.

Como resultado da acção destas variáveis podem ocorrer inúmeras reacções químicas, entre elas oxidação, polimerização, hidrólise, isomerização e ciclização, Sebedio *et al.*, 1987, originando entidades químicas novas tais como componentes voláteis, dímeros, monómeros de ácidos gordos cíclicos, trigliceridos poliméricos, compostos oxidados, ácidos gordos livres, mono e digliceridos e isómeros geométricos dos ácidos gordos insaturados (figura 2.7) ou formas *trans*.

No que respeita à presença de isómeros *cis/trans* vários autores referem a sua existência em óleos vegetais que sofreram tratamento térmico.

É o caso do aquecimento :

- de óleos de colza e de soja a 200 e 240°C durante 10 e 40 horas, Grandgirard *et al.*, 1984, e de óleo de linhaça aquecido a 275°C durante 12h em atmosfera de azoto, obtendo-se isómeros *trans* do ácido linolénico, Grandgirard *et al.*, 1987, e Grandgirard *et al.*, 1989;
- de óleo de girassol aquecido a 275°C durante 12h em atmosfera de azoto e a 200°C durante 48h com ciclos diários de 2h obtendo-se isómeros *trans* do ácido linoleico, Sebedio *et al.*, 1988.

Poumeyrol, 1987, avaliou óleos de fritura de restaurantes, na altura da sua rejeição, e verificou que continham quantidades inferiores aos máximos legislados relativamente a gliceridos alterados e valores inferiores a 0,09% de monómeros cíclicos.

A divulgação destas informações criou apreensões aos nutricionistas e aos consumidores em geral pelo perigo que pode constituir para a saúde a ingestão destes produtos.

São frequentes as referências a estudos laboratoriais efectuados em condições exageradas de tempo, temperatura e oxigenação, originando óleos sobreaquecidos, muito distantes dos obtidos nas condições normais de fritura.

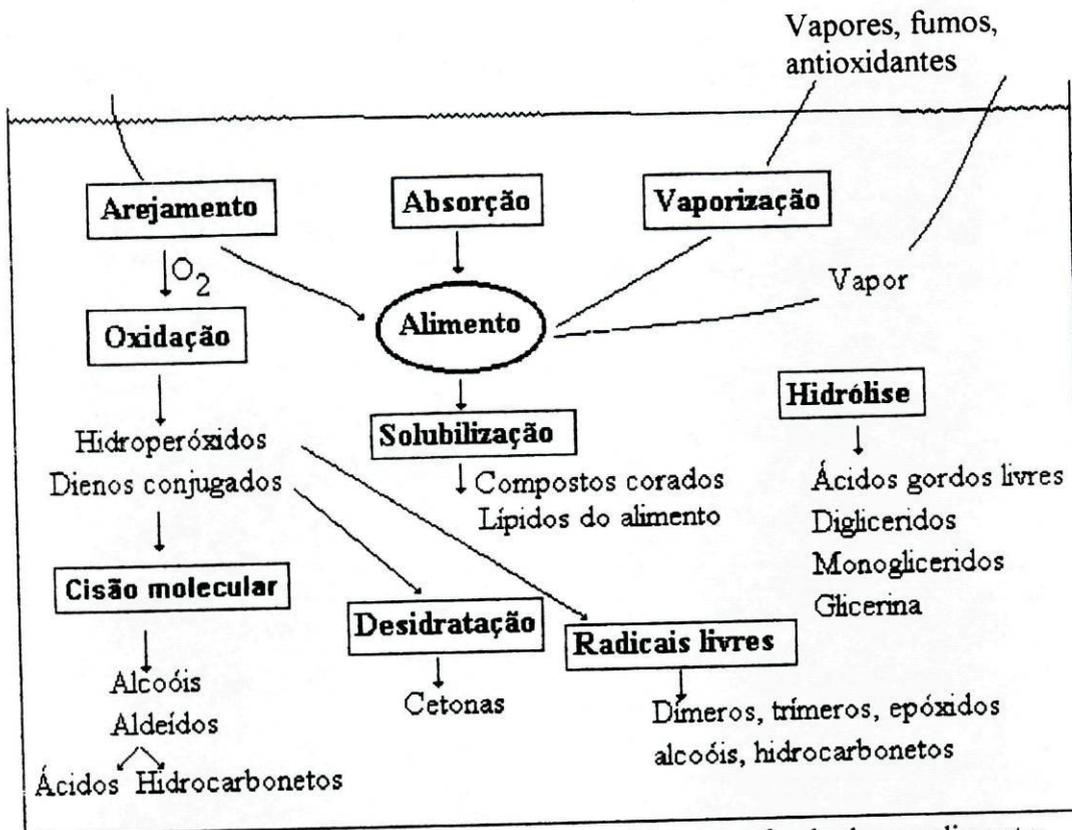


Figura 2.7. Alterações que ocorrem durante a fritura profunda de um alimento

De acordo com Clark *et al.*, 1991, estes estudos são irrealistas, pois dadas as suas características organolépticas, os produtos fritos nesses óleos seriam rejeitados à partida, pelo que não constituirão perigo para a saúde.

A ingestão destes óleos sobreaquecidos provoca em animais de experiência efeitos toxicológicos incontestados, mas provavelmente diversos dos provocados por ingestão de óleos de fritura e/ou dos produtos fritos em condições normais de execução deste processo culinário.

Nos óleos, os processos químicos de degradação sofrem aceleração com :

- o aumento de temperatura,
- o tempo de fritura,
- a qualidade inicial do óleo,
- a composição e forma do alimento a fritar.

Dentro de certos limites a velocidade das reacções pode duplicar com aumentos de temperatura de 10°C, Monferrer *et al.*, 1993.

O banho de fritura actua como transmissor de calor e simultaneamente torna-se um ingrediente do produto frito. Em certos produtos é até o ingrediente mais dispendioso do alimento, Monferrer *et al.*, 1993.

As temperaturas utilizadas variam com o tipo de alimento em questão, mas de acordo com dados bibliográficos e conhecimentos adquiridos essas temperaturas, embora inicialmente superiores, mantêm-se durante a maior parte do tempo na ordem dos 140-160°C.

CAPÍTULO 3

METODOLOGIAS ANALÍTICAS DE AVALIAÇÃO DAS FORMAS *TRANS* DOS ÁCIDOS GORDOS INSATURADOS

3.1. ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO (IR)

Tradicionalmente a determinação de ácidos gordos *trans* era levada a cabo por espectrometria de Infravermelho, técnica que requiere relativamente grandes quantidades de amostra e que não quantifica os ácidos gordos individualmente.

Vários métodos espectrofotométricos de IR, para determinação da insaturação *trans* em lípidos, têm sido sugeridos e usados em rotina nas indústrias, ao longo de vários anos.

Os espectros de IR, no estado sólido, fornecem informação útil em questões estruturais, de polimorfismo, de empacotamento de cadeias, conformação, etc.

Os espectros de soluções têm sido utilizados para o reconhecimento de grupos funcionais na generalidade e duplas ligações *trans* em particular.

Apenas uma dupla ligação produz uma absorção característica a 968cm^{-1} ($10,3\mu\text{m}$). O efeito é fortemente aditivo para ácidos gordos poliénicos não conjugados, ou seja, o ácido linolelaídico ($\text{C}_{18:2t}$) absorve na mesma posição mas com intensidade aumentada. Comparativamente com o elaidato de metilo os dienos mono *trans* absorvem apenas 85% e os dienos *trans* cerca de 166%, Lanza *et al.*, 1981.

As moléculas de ácidos gordos de cadeia longa, ésteres e gliceridos com duplas ligações *trans* não conjugadas (isoladas) apresentam uma banda de absorção a $10,3\mu\text{m}$, devida ao facto dos hidrogénios olefinicos estarem em planos diferentes; por seu lado os compostos e as duplas ligações *cis* não apresentam esta banda.

São também fortemente visíveis as bandas a 1657cm^{-1} e a 1673cm^{-1} , devidas respectivamente às configurações *cis* e *trans*, resultantes da simetria local criada pela vibração da dupla ligação, Gunstone, 1979.

Os ácidos gordos de cadeia longa apresentam ainda uma banda a $10,6\mu\text{m}$ relativa ao grupo carboxílico.

Os métodos de determinação de insaturação *trans* são baseados na medição da altura do pico a $965-968\text{ cm}^{-1}$ a partir da linha de base determinada manualmente ou ajustada a zero. Os valores de absorbâncias obtidos são comparados com o de padrões ou com valores descritos, Lanser *et al.*, 1988.

Para a determinação de isómeros *trans*, vários métodos por espectrometria de IR têm sido publicados. Entre eles citam-se :

- O mais antigo, descrito por Allen, 1969, que não determina a linha de base nem faz curva de calibração; para determinar o teor de AG *trans* utilizava a relação de absorbâncias da ligação éster (1163 cm^{-1}) e da ligação *trans* (965 cm^{-1}).

A ligação éster absorve intensamente a 1163 cm^{-1} e muito ligeiramente a 965 cm^{-1} .

- O método AOCS, 1973, cd 14-61 determina a linha de base entre $10,02$ e $10,59\mu\text{m}$ e faz a curva de calibração com diferentes concentrações de elaidato de metilo.

- O método AOAC, 1975, utiliza as condições do método AOCS e usa factores de correcção para ácidos gordos de cadeia longa, curta e média.

- Hirayama *et al.*, 1978, descreveram também um método em que determinavam a linha de base entre $9,5$ e $10,6\mu\text{m}$ e utilizavam uma curva de calibração com elaidato de metilo.

- O quinto método referido, por ordem cronológica, é o método 2.207 da IUPAC em que a linha de base é determinada entre $10,0-10,8\mu\text{m}$ e a curva de calibração feita com uma mistura de elaidato e estearato de metilo, Deman *et al.*, 1983.

- Em 1982, Madison *et al.* descreveram uma técnica de determinação de isómeros *trans* usando uma mistura padrão de calibração constituída por 2 componentes, elaidato e linoleato de metilo. Com esta técnica eliminavam os cálculos para correcção do método AOAC e corrigiam os valores no caso do método AOCS.

Segundo os referidos autores, os métodos descritos enfermam de alguns inconvenientes, tais como :

- Os resultados da análise de trigliceridos tal qual e após metilação dos ácidos gordos são diferentes e superiores no primeiro caso. Esta diferença é tanto maior quanto menor for o teor de isómeros *trans* presentes (inferior a 15%).

Para anular esta situação prevê-se a conversão dos trigliceridos em ésteres metílicos para amostras com teores de isómeros *trans* inferiores a 15%. A explicação para o descrito parece estar no facto de os trigliceridos com configuração *cis* absorverem

a 967 cm^{-1} . A magnitude de absorção depende da natureza do triglicerido e traduz-se num incremento de 3-4% no valor de isómeros *trans*, comparativamente com amostras em que se adicionou trielaidina.

- A análise das amostras na forma de ésteres metílicos origina níveis de isómeros *trans* 1,5 a 3% inferiores nos casos de teores compreendidos entre 1 e 15%, comparativamente com amostras a que se adicionou elaidato de metilo.

- As duplas ligações conjugadas absorvem muito próximo das isoladas (não conjugadas) e podem interferir com a sua quantificação. São preferidos os ésteres metílicos porque não são conhecidas interferências na absorção dos isómeros *trans*.

Na própria descrição do método AOAC se refere a sua não aplicação nos seguintes casos :

- produtos contendo mais de 5% de duplas ligações conjugadas
- produtos com grupos funcionais que modificam a absorção nas proximidades das duplas ligações *trans*
- produtos com gliceridos mistos contendo ácidos gordos de cadeia curta e longa
- produtos com grupos específicos que absorvam próximo de $10,3\mu\text{m}$, Firestone, 1984.

Deman *et al.*, 1983, descreveram também um método para determinação de insaturação *trans* em gordura de leite; os autores usavam ésteres metílicos e utilizavam uma curva de calibração com elaidato de metilo e ésteres metílicos de óleo de coco, dada a sua semelhança com a composição das amostras estudadas, pois este óleo contém ácidos gordos de cadeia curta, média e longa.

A espectroscopia de IR continua a ser utilizada actualmente na determinação de insaturação *trans* e ainda como método comparativo de outras metodologias que se pretendem afinar para esta determinação. Como exemplo do referido citamos:

- Vigneron *et al.*, 1973 - determinaram a percentagem de compostos insaturados *trans* em óleo de soja hidrogenado; utilizaram ésteres metílicos obtidos por metanólise, leitura da banda a 965 cm^{-1} e curva de calibração feita com elaidato de metilo.

- Draguez de Hault *et al.*, 1984 - compararam vários catalisadores para hidrogenação parcial de óleos de soja, colza ou linhaça. As condições descritas eram semelhantes às do autor anteriormente referido.

- Hernández *et al.*, 1988 - Num trabalho efectuado em margarinas, minarinas e preparados gordos utilizaram a espectroscopia de IR para determinação do teor de

compostos *trans* presentes e fizeram a comparação dos valores obtidos com outra técnica (GLC capilar).

- Younes *et al.*, 1988 - utilizaram o método AOCS de IR para determinar o teor de isómeros *trans* da gordura de leite e simultaneamente tentar detectar a sua adulteração com gordura vegetal hidrogenada. Faziam o espectro entre 2000cm^{-1} e 650cm^{-1} e consideraram a banda dos isómeros *trans* a 967cm^{-1} .

- Mallet *et al.*, 1989 - em óleos de soja e colza hidrogenados determinaram a insaturação *trans* pelo método IUPAC de espectrometria de IR.

Em 1988 foi descrita por Lanser *et al.* uma técnica de determinação de insaturação *trans* em ésteres metílicos de ácidos gordos baseada igualmente na integração da área do pico de absorbância característica dos isómeros *trans*. Utilizaram um aparelho FTIR (Fourier Transform Infrared) nas condições descritas no método AOCS. A técnica aplicava-se a gorduras parcialmente hidrogenadas. Os valores obtidos foram comparados com outras metodologias e obtiveram valores concordantes.

De acordo com os autores o FTIR é um método rápido e simples mas requiere uma grande quantidade de amostra e não fornece informação acerca das percentagens dos outros ácidos gordos.

3.2. ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

Pode ser utilizada para o estudo da insaturação *cis* e *trans* olefinica e acetilénica. No espectro Raman verifica-se uma forte banda de absorção a $1656\pm 1\text{cm}^{-1}$ para as duplas ligações *cis*, $1670\pm 1\text{cm}^{-1}$ para as ligações *trans* e para as duplas ligações acetilénicas verificam-se bandas a 2232 ± 1 e $2291\pm 2\text{cm}^{-1}$. Estes valores diferem ligeiramente se a dupla ligação é conjugada com o grupo carboxílico ou se se encontra em posição terminal.

A técnica espectrofotométrica Fourier-transform Raman segundo Sadeghi-Jorabchi *et al.*, 1991, pode ser usada para determinar não só o grau de insaturação total de óleos e margarinas mas também determinar os seus teores de isómeros *cis* e *trans*. De acordo com os autores é relativamente mais rápido que os métodos convencionais e pode ser utilizado no controlo de processos de hidrogenação de óleos e gorduras.

3.3. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

No caso do espectro ^1H RMN um éster como o oleato de metilo apresenta como sinais um tripleto para os 2 prótons olefínicos (δ 5-6) e um sinal para os prótons alílicos (δ 1,99). Os alcenos *cis* e *trans* diferem na constante de acoplamento pelos prótons vinílicos (*cis*~10Hz e *trans*~15Hz) e no desvio químico dos prótons alílicos (*cis* δ 1,99 ; *trans* δ 1,94). Os ésteres poliênicos não conjugados apresentam um sinal a δ 2,72 para o grupo metilênico situado entre duas ligações *cis*.

Em espectroscopia a 220 MHz é possível distinguir, entre os ésteres monoinsaturados de cadeia carbonada de 18 carbonos, todos os isômeros e todos os ésteres *cis* e *trans* à exceção dos compostos com dupla ligação situada em $\Delta 10$, $\Delta 11$ e $\Delta 12$, os quais só poderão ser distinguidos com a ajuda de reagentes de deslocamento.

A maior sensibilidade do espectro de ^{13}C RMN torna-o mais útil que o ^1H RMN anteriormente referido mesmo apesar da menor abundância de ^{13}C nas amostras.

Relativamente aos ésteres saturados, a presença de centros de insaturação nas cadeias provoca sinais próprios e deslocamentos nos sinais observados. Esses deslocamentos são normalmente suficientes para indicar a posição e a configuração da dupla ligação.

Átomos de carbono insaturados, sem influência de outros grupos químicos, mostram os seguintes sinais: monoinsaturados *cis* δ 129,90 ; monoinsaturados *trans* δ 130,40. Contudo frequentemente surgem 2 sinais devido à influência das funções $\omega\text{-CH}_3$ ou CO_2CH_3 , Gunstone, 1979.

McDonald *et al.*, 1989, aplicaram a técnica de ^{13}C RMN para confirmar a identificação dos isômeros *trans*-dienos mais abundantes em óleo de soja hidrogenado, após separação utilizando outras metodologias (TLC, GLC).

3.4. ESPECTROMETRIA DE MASSA

Embora o oleato de metilo, linoleato de metilo e linolenato de metilo forneçam espectros de massa diferentes não é fácil distinguir entre si ésteres de isómeros mono, di e triénicos.

A dificuldade encontrada deve-se à mobilidade geral das duplas ligações com o bombardeamento electrónico. Para transpôr este obstáculo há necessidade de "fixar" as duplas ligações por derivatização. Os derivados, sendo satisfatórios no caso dos monoénicos, não se mostram igualmente úteis nos polienos. Para estes é normalmente recomendada a perhidroxilação com tetróxido de ósmio seguida da formação de ésteres de poli(trimetilssililo). Uma outra solução referida é a oximercuração-demercuração confinando a reacção a uma dupla ligação e hidrogenando os restantes centros de insaturação, Gunstone, 1979.

São também referidos, Svensson *et al.*, 1982, derivados epoxi, trimetilssililoxi, pirrolididos e métoxi. Alguns autores preconizam a ionização química em substituição da electrónica.

As reacções químicas que permitem preparar os derivados trimetilsililados não modificam a estereoquímica dos isómeros. No entanto, é de salientar que a espectrometria de massa de impacto electrónico permite distinguir isómeros de posição mas não isómeros geométricos, pois os espectros destes são absolutamente sobreponíveis, Mallet *et al.*, 1984.

A espectrometria de massa, em combinação com GLC não tem sido aplicada na análise de misturas complexas de ácidos gordos tais como gorduras e óleos marinhos hidrogenados.

Ratnayake *et al.*, 1992, utilizaram a técnica de GLC-MS para identificação de isómeros de posição do ácido linoleico em cremes para barrar (mistura de óleo de colza parcialmente hidrogenado, óleo de palma e manteiga).

É uma técnica que inclui várias etapas para isolamento dos ésteres do ácido linoleico, os quais sofrem uma redução com hidrazina e em seguida uma ozonólise oxidativa. Para detecção em espectrometria de massa são derivatizados a ésteres picolinicos.

O uso de ésteres pirrolidídicos ou picolinicos de ácidos gordos permite em GLC-MS a separação e caracterização simultânea de componentes de extratos lipídicos naturais incluindo isómeros de posição, Christie, 1993.

Apesar das técnicas já descritas, a posição dos centros de insaturação é muito frequentemente determinada por degradação oxidativa seguida do reconhecimento dos fragmentos formados por cromatografia gasosa. A degradação oxidativa pode ser efectuada por :

- oxidação von Rudloff (KMnO_4 - KIO_4) formando-se cadeias curtas de ácidos
- ozonólise que pode originar alcoóis, aldeídos ou ácidos; o procedimento mais comum é a formação de aldeídos ou ácidos, figura 3.1.

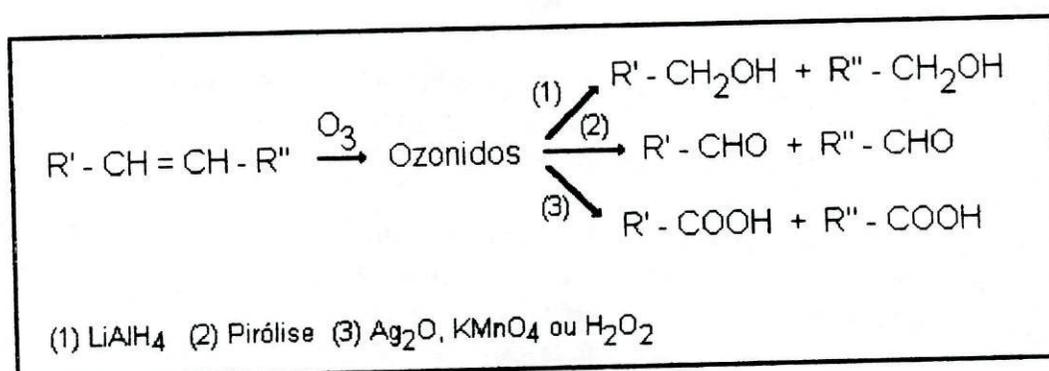


Figura 3.1. Degradação oxidativa de um ácido gordo por ozonólise.

Quando a insaturação apresenta simultaneamente configuração *cis* e *trans* a completa identificação torna-se ainda mais difícil. Como forma de facilitar a análise preconiza-se a redução parcial com hidrazina, isolamento da fracção monoénica e se necessário, dentro desta, os isómeros *cis* e *trans*, Gunstone, 1979.

Em 1973, segundo Ucciani *et al.*, nenhum método existente na altura era adequado para separar a mistura dos isómeros de posição, sendo a única via possível a degradação química. Um exemplo seria a oxidação permangano-periódica que embora simples, apesar do número e duração das manipulações e da imprecisão dos resultados, não resolvia uma mistura de 16 isómeros possíveis do $\text{C}_{18:1}$. Mais promissores pareciam ser os métodos de ozonólise.

Pelloquin *et al.*, 1973, descreveram um método de separação de isómeros de posição do $\text{C}_{18:1}$ por ozonólise redutora e posterior quantificação por GLC dos aldeídos e aldeésteres obtidos.

A problemática dos isómeros posicionais do $\text{C}_{18:1}$, levantada por Bertram em 1928, tem maior acuidade no leite e manteiga, dada a sua grande variedade nestes produtos, juntamente com isómeros geométricos.

Strocchi *et al.*, 1993, descreveram uma técnica de separação prévia dos isômeros geométricos por cromatografia de placa fina de sílicagel G impregnada de sais de prata e posteriormente a determinação dos isômeros de posição por ozonólise redutora e reconhecimento dos fragmentos por GLC.

Estes procedimentos têm sido sugeridos por vários autores mas tratam-se de técnicas complicadas, morosas e não viáveis para análise de rotina de gorduras alimentares.

3.5. CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

Em 1962-64 Litchfield demonstrou a possibilidade de separação de certos estereoisômeros de ácidos gordos insaturados por GLC em colunas Golay e a sua validação relativamente à técnica de espectrometria de IR.

As primeiras fases usadas eram não polares, como por exemplo Apiezon, que embora permitissem uma boa separação do ácido oleico do ácido elaidico não permitiam a separação do ácido linoleico do linolénico e a do ácido oleico do linolelaídico. Tornaram-se possíveis estas separações com fases polares como por exemplo a DEGS.

A separação satisfatória do ácido oleico, elaidico, linolelaídico e linoleico apenas foi possível com a fase EGSS-X, Lavoue *et al.*, 1969.

Em 1973, Hrivnák *et al.*, estudaram a separação de ésteres metílicos de isômeros *cis/trans* em colunas capilares com diferentes fases estacionárias, Apiezon L, BDS (polissuccinato de butanediol) e DEGS, e verificaram que a fase não polar Apiezon L era a que melhor separava o ácido oleico do elaidico, no entanto com tempos de eluição longos.

Em 1974, Ackman *et al.* referiram a maior dificuldade de localização dos picos correspondentes aos ésteres dos ácido linoleico e linolénico com essa coluna apolar, sendo mais fácil com colunas polares, como Silar 5 CP (50% cianopropil 50% fenilsilicone). Na Apiezon L não é possível separar misturas complexas devido à sobreposição de picos relativos a substâncias com vários graus de insaturação.

A introdução de fases de silicone altamente polares facilitou a análise cromatográfica de isômeros geométricos de ácidos gordos. Ottenstein referiu o uso de uma coluna de empacotamento de aço inox de 6,1m (20 ft) x 2mm i.d. com enchimento de 15% OV-275 em Chromosorb P de granulometria de 100-120 malhas para a análise deste tipo de compostos em margarinas, Walker, 1981.

Picciano *et al.*, em 1977 apresentaram uma comunicação em que referiam o uso dessa coluna na quantificação de isômeros *cis* e *trans* do C_{18:1} em leite humano.

Ainda em 1977, Perkins *et al.*, usando a coluna em questão apresentaram a composição em isómeros *trans* de lípidos extraídos de leite humano, soro e glóbulos vermelhos.

Walker, 1981, reportando-se à coluna de OV-275 refere :

- a dificuldade da sua utilização com ácidos gordos polinsaturados e a subestimação dos valores obtidos relativamente a colunas de poliésteres,
- a detecção de todos os ésteres insaturados menos eficientemente que o estearato de metilo; verificaram um pequeno efeito para os monoenos do C₁₈ mas o deficit aumenta largamente com a insaturação.

Como justificação destes factos apresentam a possibilidade da conjugação aço e altas temperaturas na decomposição dos ésteres e/ou o tempo de utilização afectar os factores de resposta.

Em 1983, Boskou *et al.* apresentaram um trabalho executado em azeite hidrogenado com essa mesma coluna. Contudo para conseguir a perfeita separação e identificação dos isómeros *trans* do ácido linoleico efectuaram uma separação prévia dos ésteres por cromatografia em placa.

Em 1984, Perrin *et al.*, para controlarem a semi-síntese de isómeros *cis-trans* /*trans-cis* do ácido linoleico utilizaram também a referida coluna de OV-275. Conseguiram obter 3 picos referentes respectivamente aos isómeros *tt*, *cc* e *ct/tc*, ou seja, não conseguiram separar os isómeros *trans* monoénicos do ácido linoleico, tal como todos os autores atrás referidos usando esta coluna.

Em 1985, Gildenberg *et al.*, apresentaram um estudo interlaboratorial com a referida coluna, em aço inox ou vidro, para o estudo da insaturação *trans* em margarinas. Concluíram :

- não ser uma coluna indicada para a determinação simultânea da composição em ácidos gordos e do teor de isómeros *trans*
- não ser aplicável no estudo de amostras com óleos marinhos hidrogenados
- fornecer valores comparáveis com os obtidos por espectrometria de IR, embora inferiores.

Para justificar a diferença referem a absorção verificada com os dienos *tt* e/ou eluição simultânea de compostos vestigiais *trans* com compostos *cis* abundantes.

Os autores recomendam o uso de colunas de empacotamento para determinação de insaturação *trans* em margarinas como procedimento alternativo ao método AOAC de espectrometria de IR. Esta recomendação traduziu-se na primeira acção do método cromatográfico da AOAC ainda referido na edição de 1990.

Em 1987, Lecker *et al.* determinaram o conteúdo de isómeros *trans* de margarinas utilizando colunas com fase OV-275 respectivamente de 6,1m, 10m, 33m e 60m e o que puderam concluir foi que a coluna capilar de 60m fornece resultados muito semelhantes à de 6,1m verificando-se apenas uma redução do tempo de análise.

Continuou a não ser possível a separação completa e individualizada dos isómeros do ácido linoleico.

Em 1989, Coll Hellin *et al.* publicaram dois trabalhos, respectivamente em margarinas e manteigas e gorduras anidras utilizando a técnica descrita por Gildenberg *et al.*, 1985 e considerada pela AOAC.

São variadíssimos os trabalhos que descrevem o uso de colunas de empacotamento com fases muito polares, caso da OV-275 já referida e outras como Silar-5CP, Silar-10C, SP-2330, SP-2340, SP-2560, SE-30 e OV-1.

O aparecimento de colunas capilares, com este tipo de fases estacionárias, pelas suas características gerais, permitiu grande eficácia na resolução de certos constituintes e simultaneamente rapidez, factores de grande importância no controlo industrial.

Contudo perante misturas complexas de isómeros, característicos de certos lípidos ou originados durante certos processamentos, estas colunas ainda não dão resposta suficiente. Permitem já a separação, em misturas de ácidos gordos mono e polinsaturados, de certos isómeros de posição e geométricos, praticamente irresolúveis com as fases de poliglicóis usadas anteriormente, caso da Carbowax 20M, Mordret *et al.*, 1987.

Heckers *et al.*, 1978, utilizando uma coluna de 4m x 0,2cm i.d., de vidro, com 12% Silar 10C em Chromosorb W HP 80-100 malhas, estudaram margarinas, shortenings e gorduras para cozinha e fritura, relativamente à insaturação *trans*. Para melhor reconhecimento de certos picos utilizaram uma coluna de SP-2340 de 30m x 0,33mm i.d. Comparativamente com a determinação por espectrometria de IR esta técnica mostra-se mais precisa e menos morosa, permitindo a identificação individual de ácidos gordos *trans*.

Colunas capilares SP-2340, respectivamente de 10, 20, 60 e 100m, foram utilizadas na quantificação de monoenos *cis* e *trans* e dienos em alimentos. As duas primeiras mostraram-se inadequadas para separar isómeros do ácido oleico e do ácido linoleico. A coluna de 60m pareceu satisfatória. Com uma coluna de 115m foi possível a separação de isómeros do ácido linolénico. Embora as colunas de 60 e 100m não separem todos os isómeros geométricos, parecem adequadas à maioria das análises quantitativas de insaturação *trans* em alimentos, mesmo havendo alguma sobreposição de monoenos *trans* na região dos isómeros *cis*, Lanza *et al.*, 1981.

De acordo com Svensson *et al.*, 1982, a técnica utilizada com mais sucesso na determinação do conteúdo de ácidos gordos isoméricos monoinsaturados, em gorduras parcialmente hidrogenadas e óleos marinhos, muito precisa e que fornece a informação completa, é constituída por várias etapas e consequentemente demorada e laboriosa. As etapas a seguir são normalmente :

- isolamento dos ácidos monoinsaturados
- separação dos isómeros geométricos
- identificação dos ácidos gordos isolados por GLC.

Na etapa em que se pretende o isolamento das diferentes classes de ácidos gordos utiliza-se a cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Esta técnica permite a separação de acordo com o comprimento da cadeia e da geometria. Estes autores utilizaram uma coluna C₁₈ Nucleosil 5 μ , 200 x 4,6mm i.d., fase móvel metanol/água (89:11, v/v) e um fluxo de 1,2ml/min. O detector usado era de índice de refração. Em HPLC os isómeros *cis* eluem antes dos correspondentes *trans*; a separação completa dos grupos *cis* e *trans* não é possível em grande número de isómeros posicionais.

Na maioria dos óleos hidrogenados os isómeros *cis* dos ácidos gordos monoinsaturados têm a dupla ligação numa localização central (predominantemente em $\Delta 9$) variando muito pouco comparativamente aos isómeros *trans*. Os autores afirmam que há tendência para valores mais elevados para os ácidos *trans* quando analisados por HPLC (~4%) devido possivelmente à pequena diferença de resposta do detector entre *cis* e *trans*, ou devido à maior heterogeneidade dos isómeros *trans* relativamente aos *cis*, Svensson *et al.*, 1982.

Mutter *et al.*, 1987, utilizaram uma coluna de SilicaGel/Nitrato de prata para fraccionar, por HPLC, os ésteres metílicos de gorduras hidrogenadas. Verificaram que o cromatograma de HPLC não mostra influência nem da geometria nem da posição das duplas ligações mas apenas o efeito do tamanho da cadeia carbonada nos tempos de retenção. Os componentes com maior peso molecular são os primeiros a eluir.

Grandgirard *et al.*, 1987, para a separação de isómeros geométricos do ácido linolénico, a partir de óleo de linhaça, utilizaram a técnica de HPLC preparativa usando uma coluna Prep-pak 500 C₁₈ (30cm x 5,7cm i.d.), detecção por refractometria e acetonitrilo como solvente, mas para a sua identificação utilizaram a cromatografia gasosa após separação por TLC/AgNO₃.

Sebedio *et al.*, 1988, para a separação de isómeros geométricos e posicionais do ácido linoleico utilizaram também HPLC em coluna C₁₈ de fase reversa e TLC/AgNO₃.

A cromatografia em camada fina impregnada de nitrato de prata (TLC/AgNO₃) é muito utilizada na separação de isómeros *trans* devido ao facto de os iões prata terem a capacidade de formar complexos π com os electrões da camada p das duplas ligações. Estes complexos são mais fortes no caso das duplas ligações com configuração *cis*.

Os ésteres metílicos da amostra são aplicados numa placa de Silicagel com 20% de nitrato de prata, activada a quente, Hoffmann, 1986.

Os isômeros do ácido linoleico que têm apenas um átomo de carbono entre os carbonos da dupla ligação têm maior mobilidade em TLC/ AgNO₃ que os que têm dois ou mais carbonos nessa mesma posição, Ratnayake *et al.*, 1992.

A utilização de colunas de ião prata em HPLC de fase reversa apresenta um grande potencial para a determinação quantitativa da insaturação *trans*; os derivados fenacil dos ácidos gordos permitem uma quantificação por UV. A fase móvel usada para a resolução de isômeros posicionais e configuracionais de ácidos mono, di e triênicos é o dicloroetano-diclorometano (1:1, v/v), Christie *et al.*, 1989, Christie, 1991.

Ratnayake *et al.*, 1990, utilizaram também HPLC em fase reversa para isolar a fração C_{18:2} de uma mistura constituída por óleo de canola parcialmente hidrogenado, óleo de palma e manteiga usando uma coluna C₁₈ Prep-pack 25mm x 10cm.

Takagi *et al.*, 1981, tentaram a separação de isômeros posicionais do ácido linolênico com 1 e 2 duplas ligações em configuração *trans*. Utilizaram a técnica de HPLC com pré-coluna Permaphase ODS (5cm x 2mm) e uma coluna Zorbax ODS 25cm x 4,6mm. Concluíram que geralmente a técnica de GLC apresenta melhor separação que HPLC com a coluna utilizada.

Sebedio *et al.*, 1991, estudaram a composição de cremes de barrar comercializados em França. Para a distinção dos isômeros do ácido linolênico estes foram isolados por HPLC em coluna C₁₈ semi-preparativa com a mistura acetonitrilo-acetona (90:10, v/v) a um fluxo de 4ml/min sendo a detecção dos picos feita por refractometria diferencial.

Ainda para a identificação dos isômeros geométricos do ácido linolênico de óleo de soja hidrogenado é referida por Perkins *et al.*, 1987, a utilização de HPLC de fase reversa para a separação de ésteres metílicos, baseada no número de carbonos e na insaturação.

A aplicação de colunas WCOT (wall coated open tubular), de cianossilicone moderadamente polares, na análise de misturas de gorduras vegetais não hidrogenadas é por vezes difícil devido à coincidência do pico do ácido linolênico com o do ácido araquídico ou do ácido gadoleico.

A polaridade da coluna de sílica fundida flexível CP Sil 88 permite ultrapassar o problema já que o ácido linolênico elui entre os ácidos araquídico e gadoleico e o ácido araquidónico elui imediatamente após o ácido beénico.

Trata-se de uma coluna que apresenta uma excelente estabilidade de linha de base durante a programação de temperaturas.

Apresenta capacidade de separação de ésteres metílicos de ácidos gordos com configuração *cis* e *trans*. Nas colunas WCOT cianossilicone mais polares a ordem de eluição é *tt*, *ct*, *tc* e *cc*, não sendo tão clara esta situação noutra tipo de colunas menos polares, Ackman, 1986.

Relativamente aos isómeros mono-*trans* do ácido linolénico, embora sejam estruturas difíceis de racionalizar apenas com os tempos de retenção, parece razoável aceitar que a sua ordem de eluição seja *cct*, *tcc*, *ctc* e *ccc*.

Colunas medianamente polares, do tipo poliglicóis, e colunas relativamente mais polares, do tipo Silar 5 CP, SP-2330 e SP-2340, apresentam separações pobres dos isómeros *cis* e *trans* com duplas ligações localizadas na parte central da molécula e apenas posições extremas de isómeros *cis* ficam livres da interferência dos isómeros *trans*. Neste contexto "polaridade" incluiu a separação específica de *trans* antes de *cis*, propriedade notável das fases líquidas de cianossilicone.

As colunas WCOT ou capilares permitem análises dez vezes mais sensíveis que as obtidas com colunas de empacotamento e que se revela na informação obtida, sobreposição de isómeros e ruído de fundo. É a técnica de separação por excelência, Ackman, 1986.

No "general referee reports" da AOAC de 1987, Firestone refere a execução de um estudo interlaboratorial de um método de cromatografia gasosa com a coluna capilar de sílica fundida de 60m x 0,25mm de SP-2340 para determinação dos isómeros *trans* do ácido oleico em óleos e gorduras hidrogenadas.

A coluna capilar CP Sil 88 (100% cianopropilpolisiloxano) é actualmente das mais utilizadas para a determinação de isómeros posicionais e geométricos de ácidos gordos de vários produtos alimentares, quer acoplada a outras metodologias para fraccionamento das amostras, quer na análise dos produtos tal qual.

A análise directa por GLC, em fases líquidas muito polares de cianossilicone, tem sido recomendada para separação de isómeros *cis* e *trans* dos lípidos alimentares.

Tem sido o método de escolha de muitos laboratórios especializados em óleos e gorduras. Vários trabalhos têm sido publicados utilizando a coluna CP Sil 88 (50m x 0,25mm i.d.). Como exemplo citam-se :

- Hernandez *et al.*, 1988, trabalho em margarinas, minarinas e preparados gordos
- Opstvedt *et al.*, 1988, trabalho em óleo de peixe hidrogenado
- Calvet *et al.*, 1990, trabalho executado em diferentes alimentos
- Hernandez *et al.*, 1991, trabalho em enchidos de diferentes qualidades.

Também Shen *et al.*, 1991, utilizando uma coluna capilar de 60m x 0,25mm i.d. com fase estacionária biscianopropilpolisiloxano determinaram a composição em ácidos gordos de margarinas e produtos equivalentes.

A análise de insaturação *trans* em alimentos por GLC com coluna capilar CP Sil-88, com fracionamento prévio das amostras é também frequentemente usada. Como exemplo citam-se Sebedio *et al.*, 1988, 1991; McDonald *et al.*, 1989; Mossoba *et al.*, 1990, 1991; Wolff *et al.*, 1992; Ulberth *et al.*, 1992.

Por tudo o que foi exposto e mediante as condições disponíveis no nosso Laboratório, quando do início deste trabalho, entendemos optar por GLC de coluna capilar. Teria sido interessante comparar os resultados de GLC com IR, FTIR, todavia apenas muito recentemente se adquiriu este equipamento.

CAPÍTULO 4

EFEITOS INDESEJÁVEIS DOS LÍPIDOS ALIMENTARES

4.1. DOENÇAS CARDIOVASCULARES

A doença cardiovascular é um dos mais significativos problemas de saúde em que a dieta desempenha um papel importante no seu desenvolvimento. Trata-se de uma doença multifacetada sendo a sua patologia influenciada por factores fisiológicos, genéticos, ambientais e de stress psico-social, Bruckner, 1992.

Dentro deste grupo de doenças citam-se mais frequentemente a aterosclerose, que é a construção de depósitos lipídicos na parede interior das artérias coronárias, e a trombose, que consiste na formação de trombos que podem bloquear os vasos do coração ou bloquear vasos em qualquer outra localização, Hunter, 1991.

Os principais factores de risco relacionados com este tipo de doença são o tabaco, a pressão sanguínea elevada, o colesterol plasmático elevado, a obesidade, a diabetes e a concentração plasmática de triglicéridos. Consequentemente verifica-se um aumento de risco de doença coronária dependente da quantidade total de calorias consumidas, da quantidade de hidratos de carbono ingeridos, da ingestão de álcool, do tipo de proteína ingerida, do tipo de gordura consumida e do seu estado de oxidação.

As gorduras, triglicéridos, colesterol e os seus ésteres, são transportados no sistema circulatório, após absorção, em associação com proteínas e fosfolípidos, em várias formas micelares, entre elas quilomicrons (CM), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL), Bruckner, 1992.

As LDL-colesterol são consideradas as lipoproteínas do soro com maior responsabilidade no transporte do colesterol e sua deposição nos tecidos. Por seu turno as HDL-colesterol têm efeito inverso retirando colesterol dos tecidos, Marsic *et al.*, 1992.

A LDL-colesterol foi identificada como a lipoproteína mais aterogénica. A diminuição dos altos níveis de LDL-colesterol deverá ser o primeiro objectivo a atingir numa terapia de diminuição dos níveis de colesterol. Níveis baixos de HDL-colesterol

(inferiores a 35mg/dl no sexo masculino e 45mg/dl no sexo feminino) são o maior factor de risco de doença coronária, Hunter, 1992.

De todos os factores de risco o mais estudado é o colesterol, embora não esteja ainda completamente esclarecida a sua relação com os outros factores. Embora esteja bem documentada a associação níveis de colesterol de dada população / risco aumentado de aterosclerose, não está tão clara a associação ingestão de colesterol / concentrações séricas resultantes.

4.1.1. Influência do tipo de gordura da dieta

Não está descrita uma relação consistente entre ingestão total de gordura, independentemente do tipo de ácidos gordos que a constituem, e doença coronária.

A elevada ingestão de gordura está associada com risco aumentado de doença coronária mas não está completamente esclarecido se devido à gordura em si se à adiposidade resultante.

A ingestão de dietas ricas em ácidos gordos saturados está fortemente associada com a elevação do colesterol sérico e da LDL-colesterol, intensificando assim o risco de doença coronária. De acordo com Bruckner, 1992, a ingestão de ácidos gordos saturados tem um efeito hipercolesterolémico 2 vezes superior ao efeito hipocolesterolémico dos ácidos polinsaturados (n-6).

A ingestão de ácidos gordos polinsaturados (n-6), especialmente ácido linoleico, diminui os níveis de colesterol sérico, quando substituem numa dieta os ácidos gordos saturados. Os resultados de alguns estudos sugerem que os óleos vegetais insaturados, fonte importante de ácidos gordos polinsaturados (n-6) podem baixar os níveis de colesterol circulante por outro processo que não a substituição dos ácidos gordos saturados. Há quem defenda a acção de componentes minoritários, fitosteróis, triterpenos, tocotrienóis, que actuam na vez de/ou em sinergia com os ácidos gordos insaturados, Marsic *et al.*, 1992.

Os ácidos gordos polinsaturados (n-6) diminuem os níveis de colesterol plasmático por aumento da secreção fecal de ácidos biliares, diminuição da síntese hepática de VLDL e/ou alterando a composição das lipoproteínas VLDL, IDL e LDL e influenciando o seu metabolismo, Bruckner, 1992.

Os ácidos gordos polinsaturados (n-3), especialmente presentes em óleos de peixe, diminuem os níveis de triglicéridos séricos e a tendência para a trombose, podendo ainda reduzir os riscos de doença coronária por outros mecanismos, Shrapnel, 1992.

Para prever o efeito nos valores séricos de colesterol foram descritas equações tendo em conta alterações nas percentagens de calorias fornecidas por ácidos gordos saturados, ácidos gordos polinsaturados e alterações nos níveis de ingestão de colesterol. Um exemplo deste tipo de equações é a seguinte:

$$\Delta \text{colesterol} = 2,19 \Delta \text{Saturados} - 1,65 \Delta \text{Polinsaturados} + 1,76 \text{ Colesterol}$$

Os resultados obtidos por este tipo de equações foram confirmados experimentalmente por alguns investigadores.

A substituição de gorduras saturadas (S) por gorduras polinsaturadas (P) e monoinsaturadas (M), aumentando a relação (P+M)/S provoca uma redução dos níveis de colesterol total e de LDL-colesterol. Se a ingestão de ácidos gordos polinsaturados atinge valores muito elevados ($P/M > 3,0$) verifica-se também uma redução de HDL-colesterol, no entanto este tipo de formulação não é utilizado por constituir dietas líquidas, Marsic *et al.*, 1992.

O papel protector atribuído à HDL-colesterol na aterosclerose pode ser devido à actuação da HDL₃ na remoção do colesterol livre do interior das células. Esta actuação pode ser afectada por alteração do tipo de gordura ingerida, a qual por sua vez altera a composição e fluidez da HDL₃, afectando o efluxo de colesterol.

Compararam-se os efeitos obtidos com dietas, fornecidas a mulheres durante 7 semanas, constituídas por 30% de gordura sendo 15,6% fornecidos respectivamente por gordura de leite, óleo de girassol, azeite e óleo de colza. O maior efluxo de colesterol foi obtido após ingestão da dieta contendo azeite, Jacotot, 1991, gordura rica relativamente às outras em ácidos gordos insaturados.

De acordo com Ginsberg, 1991, as concentrações plasmáticas de HDL-colesterol parecem ser inconsistentemente afectadas por alterações dietéticas.

Um aumento de ingestão de ácidos gordos monoinsaturados diminui também o colesterol total e a LDL-colesterol, Denke, 1991, não havendo alteração nos níveis de HDL-colesterol, mesmo com teores elevados de ácidos gordos monoinsaturados. Estes têm um efeito hipocolesterolémico semelhante aos ácidos gordos polinsaturados (n-6). As alterações verificadas nos teores de colesterol são basicamente devidas à redução da LDL-colesterol pois a HDL-colesterol permanece inalterada, Bruckner, 1992.

Assim, a substituição isocalórica das gorduras saturadas por gorduras monoinsaturadas permite a diminuição dos níveis de colesterol e evita problemas associados ao aumento de ácidos gordos polinsaturados, mantendo os níveis correntes de ingestão de gordura, Parthasarathy, 1991, Marsic *et al.*, 1992.

Recomenda-se então a ingestão reduzida de ácidos gordos saturados e colesterol e uma ingestão mais significativa de ácidos gordos polinsaturados (n-6) ou preferencialmente ácidos gordos monoinsaturados.

A ingestão de suplementos de ácidos gordos polinsaturados (n-3) embora pareça ter efeito benéfico nas lipoproteínas do soro, especialmente VLDL, pode provocar, devido à grande instabilidade e susceptibilidade à oxidação destes ácidos gordos, alterações no teor de peróxidos e consequentemente aumentar a aterogenicidade destas fracções lipoproteicas, Bruckner, 1992.

Estudos epidemiológicos confirmam o efeito referido das gorduras monoinsaturadas. Por exemplo, na região mediterrânica verifica-se uma baixa incidência de doença coronária em áreas em que se verifica um consumo elevado de gorduras monoinsaturadas, Denke, 1991.

A hiperlipidémia tem sido identificada como um grande risco para aterosclerose e geralmente está associada com níveis elevados de colesterol (valores elevados de LDL-colesterol e reduzidos de HDL-colesterol), ésteres de colesterol e triglicéridos.

Muitas vezes os aumentos de triglicéridos no sangue são resultantes de problemas genéticos que parecem não estar relacionados com doença coronária. Segundo outros investigadores os triglicéridos elevados podem ser facilitadores de fenómenos de coagulação em adição com outros efeitos na aterogénese, Hunter, 1992.

A acção dos isómeros *trans* será referida posteriormente.

4.1.2. Resistência das gorduras ingeridas à oxidação

É do conhecimento geral que os produtos da cisão das gorduras oxidadas têm um papel importante em várias doenças. Recentemente foi verificado que a oxidação pode ter um papel importante no início do desenvolvimento de doenças do coração e coronárias.

A visão tradicional da doença coronária omite o possível papel dos produtos de oxidação lipídica. Contudo, há indícios fortes de serem um factor significativo, especialmente o componente lipídico da LDL-colesterol susceptível à oxidação, em processos biológicos normais, Parthasarathy, 1991.

Uma vez oxidada, a LDL-colesterol resultante acelera a produção de células "foam" com posterior injúria arterial e possibilidade de formação de trombos, Hunter, 1991.

Confirma-se o referido anteriormente com a diferente resposta obtida, em ensaios *in vivo*, com a LDL-colesterol oxidada e a não oxidada.

Os macrófagos, células que removem detritos da parede arterial, apresentam uma certa aptência para a LDL-colesterol oxidada. O aumento de ligação dos macrófagos à LDL-colesterol oxidada pode provocar uma acumulação de lípidos nessas células

provocando várias alterações morfológicas que culminam no desenvolvimento de células "foam". A coalescência destas células na parede arterial constitui o início da doença coronária normalmente referida como "risca gorda".

Várias investigações foram feitas, em modelos animais, para estudarem o efeito das gorduras ingeridas no impedimento da oxidação da LDL-colesterol.

Um desses estudos avaliou o efeito dos ácidos gordos da dieta na oxidação da LDL-colesterol, em indivíduos normolipidémicos e saudáveis. Dois grupos de indivíduos, durante 5 semanas, ingeriram uma dieta rica em ácidos gordos monoinsaturados e em ácidos gordos polinsaturados respectivamente. Verificou-se que a LDL-colesterol isolada do grupo que ingeriu a dieta rica em ácidos gordos monoinsaturados continha níveis significativamente mais elevados de oleato que linoleato, como seria de esperar. Dada a maior estabilidade à oxidação do ácido oleico parece ser dedutível que esta LDL-colesterol será mais dificilmente oxidada. Este facto foi comprovado em ensaios *in vitro*.

As LDL-colesterol resultantes de diferentes dietas foram incubadas num sistema biológico de oxidação. A LDL-colesterol mais rica em grupos oleato apresentou menor afinidade para os macrófagos. Parece assim possível concluir que a resistência à oxidação dos ácidos gordos componentes das lipoproteínas tem um papel protector na progressão da doença coronária. Assim, uma dieta rica em ácidos gordos monoinsaturados, além de não aumentar os níveis de LDL-colesterol, simultaneamente diminui a sua susceptibilidade à oxidação, Marsic *et al.*, 1992.

O colesterol e os ácidos gordos não oxidados parecem não provocar fenómenos vasculares injuriosos. Contudo foi observado que os produtos de oxidação do colesterol, colestano-3 β , 5 α , 6 β -triol e 25-hidroxicolesterol causam danos ao nível endotelial quer *in vivo* quer *in vitro*, Bruckner, 1992.

Hidroperóxidos do ácido linoleico têm também um efeito citotóxico endotelial potente *in vitro*, Chow, 1992.

De acordo com Addis, 1990, vários estudos publicados indicam claramente que os lípidos oxidados possuem propriedades angiotóxicas. Apresentam respostas fisiológicas, comparativamente com os compostos não oxidados, diferentes. Entre elas citam-se :

- os óxidos de colesterol são fagocitados pelos macrófagos o que não acontece com o colesterol,
- os hidroperóxidos do ácido linoleico inibem a síntese de prostaglandina I₂ enquanto o ácido gordo não tem esse efeito,
- os óxidos de colesterol inversamente ao colesterol aumentam a permeabilidade endotelial das células e

- a LDL-colesterol oxidada comparativamente ao colesterol tem um efeito quimiotáctico superior no recrutamento de monócitos.

Os lípidos ingeridos sofrem uma grande variedade de processos celulares que levam à sua oxidação. Simultaneamente há mecanismos de protecção contra os radicais livres e os peróxidos resultantes.

Entre os processos biológicos de oxidação podemos citar os constituídos pelas enzimas cicloxigenase, lipoxigenase, citocromo P-450 e outras enzimas com grupo heme. Dos sistemas enzimáticos capazes de inactivar radicais livres e peróxidos citam-se a superóxido dismutase, a catalase, e a glutathiona-peroxidase, Chow, 1992.

A vitamina E faz parte do equipamento antioxidante do organismo juntamente com o ascorbato e a glutathiona. Além de prevenir a peroxidação dos lípidos membranares parece inibir a ciclooxygenase e a fosfolipase.

Se se verificar um desequilíbrio entre as reacções prooxidantes e antioxidantes podem ocorrer danos celulares causados pelos compostos oxidados, Bruckner, 1992.

4.1.3. Efeito dos ácidos gordos da dieta na trombose

De acordo com alguns estudos publicados parece possível concluir que os ácidos gordos saturados são protrombogénicos relativamente aos ácidos gordos polinsaturados (n-6) e estes são-no comparativamente com os ácidos gordos polinsaturados (n-3).

Estudos efectuados em animais indicam que o aumento de ingestão de ácidos gordos saturados aumenta a tendência trombótica.

Estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão de ácidos gordos saturados, particularmente C₁₆ e C₁₈ pode ser correlacionada com doença coronária e reactividade plaquetária.

A suplementação da dieta de babuínos com ácidos gordos polinsaturados (n-3) produz efeitos antitrombóticos. Estes parecem ser devidos, de modo mais significativo, à diminuição da trombogenicidade das artérias danificadas que devidos à diminuição da actividade dos factores trombóticos do sangue. Contudo estes factos não foram ainda comprovados no homem.

A suplementação da dieta no homem com ácidos gordos polinsaturados (n-3) provocou a acumulação destes na membrana das plaquetas, particularmente do ácido eicosapentaenóico em substituição do ácido araquidónico. Verificou-se a diminuição dos teores de tromboxano A₂ e conseqüentemente diminuição da tendência para agregação plaquetária. Sendo o C_{20:5} um substrato pobre para a cicloxigenase das plaquetas, forma-se uma menor quantidade de prostaglandina endoperóxido H₃, substância proagregante. Contudo, segundo alguns autores, a ingestão de teores da ordem de 1-

3g/dia deste tipo de ácido gordo não parece ter ou tem um pequeno efeito na funcionalidade das plaquetas; esses efeitos só serão consideráveis ingerindo 6-10g/dia durante pelo menos 30 dias, Hunter, 1991.

Segundo Dicorleto os efeitos benéficos referidos para os óleos de peixe (n-3) na doença coronária podem ser devidos em parte à diminuição dos teores do factor plaquetário que promove o desenvolvimento das células vasculares do músculo liso e consequentemente podem estimular o desenvolvimento da aterosclerose.

A Lipoproteína (a) é um complexo macromolecular constituído pela apolipoproteína B, colesterol e outros lípidos e a proteína designada apo (a). Os seus níveis são determinados geneticamente e praticamente não se alteram com a idade. Níveis elevados (superiores a 150mg/l) aumentam marcadamente o risco para doença coronária pois podem competir com o plasminogénio e predispor um indivíduo para a aterosclerose, Hunter, 1992, Nestel *et al.*, 1992, Mensik *et al.*, 1992.

4.2. EFEITOS DA INGESTÃO DE ÁCIDOS GORDOS INSATURADOS COM CONFIGURAÇÃO *TRANS*

4.2.1. Nas lipoproteínas séricas e doenças cardiovasculares

Os ácidos gordos *trans* afectam de modo adverso o perfil lipídico do soro, Wood *et al.*, 1993. Têm pelo menos um efeito tão indesejável como os ácidos gordos saturados, pois não só aumentam os níveis de LDL-colesterol como também diminuem os níveis de HDL-colesterol, Mensink *et al.*, 1990, Katan *et al.*, 1991.

Estes factos foram comprovados em 34 mulheres e 25 homens que ingeriram durante 3 semanas dietas idênticas à excepção de 10% de energia que eram fornecidos por ácido oleico (C_{18:1}), isómeros *trans* do ácido oleico ou ácidos gordos saturados, principalmente láurico e palmítico, respectivamente.

Os autores verificaram que os ácidos gordos *trans* (isómeros *trans* do C_{18:1}) são hipercolesterolémicos quando comparados com o ácido oleico, e que o seu efeito é de cerca de metade do efeito provocado por uma mistura isocalórica de ácidos gordos saturados.

O teor de LDL-colesterol sofreu um incremento contrariamente ao nível de HDL-colesterol que surgiu reduzido.

A relação LDL/HDL-colesterol era superior na dieta enriquecida em ácidos gordos *trans* (2,02 na dieta com com ácido oleico; 2,34 na dieta com ácidos gordos saturados; 2,58 na dieta com isómeros *trans*).

Os efeitos observados eram similares em homens e mulheres. Os autores referiam desconhecer se este efeito ocorria também com ácidos gordos *trans* de cadeia carbonada superior a 18 átomos de carbono e ainda se havia proporcionalidade entre os teores de ácidos gordos *trans* ingeridos e os níveis séricos de HDL e LDL-colesterol.

Estes resultados foram posteriormente confirmados quando da ingestão de teores moderados de ácidos gordos *trans* (8% das calorias fornecidas pelos lípidos). Um aumento de 1% em ácidos gordos *trans* resulta num aumento da LDL-colesterol de 1,3 mg/dl e 0,6 mg/dl de redução nos níveis de HDL-colesterol, Marsic *et al.*, 1992.

Zock *et al.*, 1992, num estudo efectuado em 56 indivíduos normolipémicos e saudáveis comparou os efeitos da ingestão durante períodos de 3 semanas de dietas contendo respectivamente 0,1%, 0,3% e 7,7% de isómeros *trans*.

Confirmou a diminuição sérica da HDL-colesterol e a subida da LDL-colesterol nos indivíduos que ingeriram a dieta com 7,7% de ácidos gordos *trans* e encontrou uma relação linear dose/resposta.

Troisi *et al.*, 1992, verificaram, num estudo em 748 homens com idades compreendidas entre os 43 e os 85 anos, que a ingestão de ácidos gordos *trans* estava directamente relacionada com o teor total de colesterol e o teor de LDL-colesterol e inversamente relacionada com o teor de HDL-colesterol.

Pelas relações LDL/HDL-colesterol obtidas e estudos anteriormente publicados os autores concluíram haver um aumento de risco de enfarte do miocárdio nos indivíduos que ingeriam maior quantidade de ácidos gordos *trans* comparativamente com os que ingerem teores inferiores.

Siguel *et al.*, 1993, estudaram o perfil plasmático em ácidos gordos *trans* de 47 indivíduos com doença coronária comprovada e 56 indivíduos saudáveis, com o intuito de associar ingestão de ácidos gordos *trans*/factor de risco de doença cardiovascular. Verificaram que os teores individuais e totais de ácidos gordos *trans* eram superiores nos indivíduos doentes. Concluíram que os ácidos gordos *trans*, os ácidos gordos saturados e o colesterol total estão positivamente associados com doença coronária, o que não acontece com a HDL-colesterol e os ácidos gordos insaturados.

Willett *et al.*, 1993, efectuaram um estudo em mulheres que visava relacionar a ingestão de isómeros *trans* com risco de doença coronária. Verificaram que essa relação existia e era mais forte nas mulheres que tinham consumido margarina (produto hidrogenado rico em ácidos gordos *trans*) de modo estável nos últimos 10 anos.

O uso de multivitaminas, vitamina E e C, carotenos, fibra, e a ingestão de gorduras saturadas, monoinsaturadas, ácido linoleico e colesterol não alteravam o risco relativo substancialmente.

Um dos mais fortes factores de risco de doença cardiovascular é o teor sérico de lipoproteína a (Lp a).

Mensik *et al.*, 1992, compararam a alteração dos níveis séricos de Lp (a) devidos a dietas com iguais teores de ácido eláidico e oleico e encontraram diferenças altamente significativas.

Nestel *et al.*, 1992, compararam o efeito na Lp(a) de 4 dietas respectivamente enriquecidas em manteiga, ácido oleico, ácido eláidico e ácido palmítico, ingeridas durante 11 semanas. A dieta suplementada com ácido eláidico provocou uma elevação significativa nos teores de Lp(a) comparativamente com todas as outras.

De acordo com Hunter, 1992a, dietas ricas em isómeros *trans* do ácido oleico e com níveis adequados de ácidos gordos essenciais não têm efeito aterogénico. Tal facto foi anteriormente exposto por Kritchevsky, 1982 que afirmou que os ácidos gordos *trans*

parecem exercer um efeito hipercolesterolémico mas não influenciam a aterosclerose aórtica em coelhos ou a sudanofilia aórtica em macacos *vervet*.

Estudos que decorreram em períodos curtos com coelhos, porcos e macacos mostraram que o ácido eláidico ou óleos vegetais parcialmente hidrogenados têm efeito colesterolémico mas não aterogénico comparativamente com o ácido oleico e os óleos não hidrogenados.

Toda *et al.*, 1984, efectuaram um estudo com 3 grupos de porcos de 2 meses de idade que ingeriram durante 4 meses respectivamente uma dieta base e a dieta base suplementada com 8,3% de margarina e com 8,3% de manteiga. Entre as várias alterações detectadas na ultraestrutura e composição em ácidos gordos do tecido arterial dos porcos, alimentados com dietas suplementadas, referem um aumento significativo da espessura da íntima da artéria coronária, caracterizada pela presença de células de músculo liso modificadas, células com gordura e células degeneradas, comparativamente com os alimentados com a dieta base. Não encontraram diferenças significativas entre os porcos alimentados com os suplementos de margarina ou manteiga.

De acordo com o que foi referido e referindo Booyens *et al.*, 1988, a ingestão de isómeros não naturais de ácidos gordos insaturados deve ser considerada como um factor de risco na etiologia da doença coronária.

4.2.2. Efeito no desenvolvimento de neoplasias

Em contraste com os extensos estudos efectuados relativamente à doença coronária, um menor número de investigadores tem desenvolvido estudos no sentido de associar a ingestão de ácidos gordos *trans* com o desenvolvimento de tumores, Hunter, 1992a.

Nenhuns dados publicados até à actualidade, quer resultantes de estudos epidemiológicos quer experimentais, demonstraram uma associação consistente entre a ingestão de ácidos gordos *trans* e a formação de tumores, Hunter *et al.*, 1985, Hunter, 1992a.

Entre os estudos que confirmam o referido, citam-se:

- Selenskas *et al.*, 1984, que investigaram o efeito da ingestão de gorduras, com 38% de ácidos gordos *trans*, em ratos fêmea tratados previamente com o carcinógeno mamário específico 7,12- dimetilbenzo(a)antraceno.

Três grupos de ratos fêmea ingeriram, durante 6 meses, dietas contendo respectivamente 5 e 20% de gordura constituída por 38% de ácidos gordos *trans*,

isocalórica mas apenas com isômeros *cis* e óleo de milho com 60% de ácido linoleico, respectivamente.

Embora os ratos alimentados com as dietas mais ricas em gordura (20%) apresentassem uma incidência e produção de tumores superior às dietas de 5%, a diferença não era significativa, tabela 4.1.

Tipo de gordura	% de gordura da dieta	Incidência de tumores (a)	Número total de tumores (b)
(1) 38% AG trans	5	4/25 (16%)	9
	20	8/25 (32%)	18
(2) AG cis	5	6/25 (24%)	16
	20	10/25 (40%)	27
(3) Ól. de milho "6% AG trans"	5	8/25 (32%)	21
	20	17/25 (68%)	56

Tabela 4.1. Efeito da ingestão de ácidos gordos *trans* na incidência de tumor mamário, Selenskas *et al.*, 1984.

(a) Relação entre o número de ratos com pelo menos 1 tumor e o total de ratos do grupo. (b) número total de tumores entre todos os ratos do grupo.

As dietas do primeiro e segundo grupo mostraram-se com menor capacidade, relativamente à do terceiro grupo, de promover o desenvolvimento de neoplasia mamária.

- Erickson *et al.*, 1984, que estudaram a influência da concentração e configuração dos ácidos gordos da dieta no desenvolvimento de tumores mamários e de metástases experimentais, em cobaias fêmea alimentados com dietas contendo respectivamente 5 e 20% de gordura constituída por apenas isômeros *cis* ou isômeros *trans*. A implantação de células de tumor mamário, linha 168, foi feita subcutaneamente para observar os efeitos da gordura da dieta na latência e desenvolvimento de tumores locais, e intravenosamente para verificar as influências nas metástases experimentais. Não se verificaram diferenças no desenvolvimento de tumores locais entre os 2 tipos de dieta. O fígado e baço dos animais alimentados apenas com isômeros *cis* continham significativamente mais células de tumor viáveis que os alimentados com isômeros *trans*.

Parece possível concluir que os ácidos gordos *trans* se comportam de modo similar aos isômeros *cis* no que respeita à promoção do desenvolvimento de tumores

mamários transplantados. Contudo apresentam menor capacidade que os ácidos gordos *cis* na promoção de implantações no sangue e sobrevivência de células de tumor.

Este facto está possivelmente associado à diminuição dos teores de ácido araquidónico, nos tecidos de vários órgãos, quando da ingestão de ácidos gordos *trans*.

A diminuição dos teores de ácido araquidónico tem como consequência uma redução dos precursores da síntese de prostaglandinas. Sabendo que as prostaglandinas deprimem o sistema imunitário, a sua menor formação, quando da ingestão de isómeros *trans*, tem o efeito benéfico de impedir o desenvolvimento de tumores ou a manutenção de células tumorais viáveis.

- Hogan *et al.*, 1984, que avaliaram, em ratos, o efeito promocional na carcinogénese do cólon de dietas ricas em isómeros de ácidos gordos. Forneceram aos 120 animais do ensaio dietas respectivamente com 25% de ácido eláidico, 25% de ácido oleico e uma dieta base com 4,5% de gordura, isenta de C_{18:1t}. As duas primeiras dietas eram deficientes em ácido linoleico.

Os animais tiveram um período de ingestão destas dietas de 4 semanas a partir do qual uma parte deles eram injectados semanalmente com azoximetano (2 mg/kg). Ao fim de 11 semanas de tratamento com o carcinógeno foram sacrificados alguns animais. Os restantes foram injectados mais 12 vezes e foram sacrificados apenas 8 semanas depois. O desenvolvimento de adenocarcinoma do intestino grosso ocorreu em maior número nos animais alimentados com a dieta com ácido eláidico, embora sem diferenças significativas de incidência relativamente à dieta rica em ácido oleico.

Verificaram também uma incidência não significativa de nefroblastomas e neoplasmas escamosos do ducto do ouvido em animais tratados que ingeriam as dietas ricas em gordura (25% de C_{18:1t} ou C_{18:1c}) comparativamente com os que ingeriam uma dieta com 4,5% de gordura.

- London *et al.*, 1993, que descreveram um estudo efectuado com 380 mulheres a quem tinha sido diagnosticado recentemente cancro da mama (grau I ou II), 176 mulheres com doença proliferativa benigna da mama e 397 mulheres a quem não foi diagnosticada essa doença e que serviram de grupo controlo. Não verificaram nenhuma associação consistente entre risco de cancro da mama e qualquer ácido gordo presente na composição do tecido adiposo subcutâneo.

Concluíram não ser possível associar a ingestão de ácidos gordos polinsaturados e ácidos gordos *trans* com maior risco de cancro da mama ou doença proliferativa benigna da mama.

- Record *et al.*, 1992, que confirmaram que a ingestão de ácidos gordos *trans* não está relacionada com alterações genéticas. Para tal efectuaram um estudo

comparativo entre dietas contendo ácidos gordos monoinsaturados *cis*, monoinsaturados *trans* e saturados respectivamente, ingeridas durante 3 semanas.

Verificaram não haver efeito quer no número de micronúcleos quer na frequência de células micronucleadas em cultura de linfócitos humanos de sangue periférico.

4.2.3. Efeito na actividade enzimática e nas membranas

De um modo geral, há unanimidade quanto à ausência de efeitos adversos provocados pela ingestão de ácidos gordos *trans*, em níveis que simulem as dietas humanas, considerando os isómeros normalmente presentes nas gorduras hidrogenadas, e fornecendo os teores mínimos de ácidos gordos essenciais, Welch, 1992.

A dessaturação enzimática dos ácidos gordos ingeridos tem sido um dos alvos predilectos dos investigadores nesta área. As enzimas envolvidas, localizadas nos microsomas do fígado, são :

- a $\Delta 5$ -dessaturase responsável pela conversão do ácido 8,11,14-eicosatrienoico a ácido araquidónico (5,8,11,14- eicosatetraenoico) ;
- a $\Delta 6$ -dessaturase que promove a conversão do ácido linoleico ($C_{18:2}$) a γ -linolénico ($C_{18:3}$); esta enzima é considerada a enzima chave na conversão dos ácidos gordos essenciais a ácido araquidónico e prostaglandinas, Mahfouz, 1981;
- e a $\Delta 9$ -dessaturase responsável pela conversão do ácido palmítico (C_{16}) a ácido palmitoleico ($C_{16:1}$).

Mahfouz *et al.*, 1980, estudaram, em microsomas de fígado de ratos sujeitos a uma dieta deficiente em ácidos gordos essenciais, o efeito inibitório *in vitro* de isómeros de posição do $C_{18:1t}$ na $\Delta 5$, $\Delta 6$ e $\Delta 9$ -dessaturases.

Verificaram que esses isómeros têm efeito inibitório nessas enzimas microsomais e que a posição da dupla ligação parece ter grande importância no grau de inibição. Contudo a adição de ácidos gordos essenciais ao meio provocou uma ligeira inibição da $\Delta 9$ e não tem efeito inibitório na $\Delta 5$ nem na $\Delta 6$ -dessaturase.

Mahfouz, 1981, verificou o efeito, *in vivo*, da ingestão, durante 195 dias, de uma dieta com 43% de $C_{18:1t}$, nas enzimas microsomais, $\Delta 5$, $\Delta 6$ e $\Delta 9$ -dessaturases, de fígado de ratos. Comparativamente ao grupo controlo, que ingeria óleo de milho, verificou um decréscimo significativo da $\Delta 9$ -dessaturase assim como da $\Delta 6$ -dessaturase. A $\Delta 5$ -dessaturase apresentou uma maior actividade mas não significativa.

Verificou também que os ácidos gordos saturados apresentam *in vivo* um efeito inibitório apenas na $\Delta 9$ -dessaturase, não desempenhando papel inibidor nas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ -dessaturases.

Kurata *et al.*, 1980, estudaram, na fracção microsomal de fígado de ratos, o efeito da ingestão de 3 tipos de dietas, com 5 e 20% de gordura, na biossíntese do ácido araquidónico.

As dietas eram constituídas por óleo de cártamo, óleo de coco hidrogenado e isómeros *trans* (50,3% de C_{18:2tt} e 24,3% de C_{18:1t}), respectivamente.

A última dieta citada era deficiente em ácidos gordos essenciais e provocou uma diminuição do crescimento dos ratos, o que sugere uma supressão do sistema enzimático Δ6-dessaturase. Esta supressão é possivelmente explicada pela ausência de ácidos gordos essenciais e ainda devido ao efeito inibidor do C_{18:2tt} sobre esta enzima.

Um efeito semelhante mas menos extenso foi verificado com os ratos alimentados com óleo de coco hidrogenado.

Schrijver *et al.*, 1982, alimentaram ratos, após desmame, durante 1 ano com dietas constituídas por 10% de óleo de cártamo e 10% de óleo de coco hidrogenado, respectivamente.

Após o ano, metade da gordura fornecida na dieta foi substituída por ácidos gordos *trans*, C_{18:1t}, C_{18:2tt} e C_{18:2ct} e *tc* durante 12 semanas.

A ingestão de ácidos gordos *trans* provocou a diminuição da actividade da Δ6-dessaturase nos microsomas, mais intensamente no grupo alimentado com óleo de coco hidrogenado, deficiente em ácidos gordos essenciais.

A inibição da Δ6-dessaturase foi confirmada *in vivo* pela acumulação de C_{18:2(n-6)} e pela consequente depressão na biossíntese de C_{20:4(n-6)}, C_{22:4(n-6)} e C_{22:5(n-6)} nesses animais.

A Δ9-dessaturase sofreu um incremento devido à ingestão de ácidos gordos *trans* e verificou-se uma biossíntese extra de C_{16:1} e C_{18:1} quando da ingestão desses ácidos gordos.

Resultados semelhantes obtiveram Holmer *et al.*, 1982, quando efectuaram um estudo sobre a influência de óleos vegetais e marinhos parcialmente hidrogenados, no metabolismo lipídico do fígado e do coração de ratos. Verificaram uma diminuição da actividade da Δ6-dessaturase com a consequente diminuição de C_{20:4} na fosfatidilcolina do fígado e coração.

Segundo os autores a inibição da enzima foi devida não só aos isómeros do C₂₀ e C₂₂ presentes nos óleos de peixe como também aos monoenos do C₁₆ e C₁₈ resultantes da β-oxidação peroxisomal dos ácidos gordos de cadeia longa.

Svensson, 1983, concluiu que, quando da ingestão de óleos marinhos parcialmente hidrogenados, as alterações no metabolismo do ácido linoleico se

relacionam mais com o teor de isómeros do C₂₀ e C₂₂ presentes, do que com o teor total de ácidos gordos *trans* ingeridos.

Bruckner *et al.*, 1982, estudaram os efeitos da ingestão de C_{18:2 tt} sobre parâmetros relacionados com o metabolismo dos ácidos gordos essenciais em ratos. Após ingestão durante 11 semanas de uma dieta suplementada com C_{18:2 tt} (2,5% de gordura da dieta) e deficiente em ácidos gordos essenciais, verificaram : acumulação de C_{18:2 tt} nos lípidos do fígado; inibição da Δ 6-dessaturase, evidenciada pelo valor da relação C_{18:2}/C_{20:4}; e uma diminuição acentuada do ganho de peso corporal sem contudo afectar o peso dos órgãos. Não foi também afectado o consumo de oxigénio nem se verificou perda de água invisível.

Concluíram não haver um agravamento de situações de deficiência em ácidos gordos essenciais com a ingestão de C_{18:2 tt} em níveis superiores aos normalmente encontrados em dietas humanas.

Blomstrand *et al.*, 1985, apresentaram um estudo em que também averiguavam a influência da ingestão de óleos vegetais e óleos marinhos parcialmente hidrogenados nas funções microsomais do fígado e plaquetas de ratos. Verificaram ao fim de 10 semanas de ingestão de 4 diferentes dietas, deficientes e não deficientes em ácidos gordos essenciais, que :

- a Δ 5-dessaturase apresentava uma actividade significativamente aumentada quando da ingestão de óleo de colza, pobre em ácido erúico, parcialmente hidrogenado comparativamente com uma dieta com igual teor lipídico constituída por azeite. Contudo o teor de C_{20:4} não diferia entre os 2 grupos. Uma possível explicação será o aumento da velocidade de metabolização do C_{20:4} por β -oxidação peroxisomal.

- a actividade da Δ 6-dessaturase praticamente não variava nas dietas contendo quer óleo de colza quer óleo de peixe parcialmente hidrogenados, suplementadas com ácido linoleico.

- as actividades das Δ 5 e Δ 6-dessaturases aumentavam significativamente quando em presença de dietas deficientes em C_{18:2 cc} .

Então a presença de C_{18:2 cc} em quantidade suficiente, anula a interferência pejorativa na síntese do ácido araquidónico dos monoenos *trans* ingeridos.

Alaniz *et al.*, 1986, verificaram, em ratos Wistar, que a Δ 9-dessaturase aumentava a sua actividade quando os animais ingeriam uma dieta isenta de gordura ou suplementada com C_{18:2 tt} .

A suplementação da dieta com C_{18:2 cc} , ácido γ -linolénico ou ácido columbínico (C_{18:3 $5t,9c,12c$}) restabelecia a actividade da dita enzima, uma vez que todos estes compostos têm ligações duplas *cis* localizadas no carbono 9 e 12 .

Os resultados obtidos sugerem que alterações na actividade da $\Delta 9$ -dessaturase poderão ocorrer devido ao tipo de gordura ingerida e que estas alterações estão fortemente dependentes da configuração das duplas ligações desses ácidos.

Hwang *et al.*, 1982, haviam já referido que todos os isómeros *trans* do linoleato podem reduzir os metabolitos do ácido araquidónico formados nas plaquetas de rato, quando os níveis da dieta são iguais ou excedem os isómeros *cis* do linoleato.

A partir deste estudo parece possível afirmar que um nível de 0,5% de $C_{18:2tt}$, nível geralmente não excedido nos alimentos, não é suficiente para reduzir o teor de $C_{20:4}$ nos lípidos das plaquetas; o isómero *ct* do $C_{18:2}$ assim como o *tc* podem sofrer dessaturação e alongação e originar ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, pelo que os animais que os ingeriram possivelmente apresentarão nos lípidos dos seus tecidos $C_{20:4}$ e ácidos gordos polinsaturados com duplas ligações *trans*.

Cook, 1981, estudou a influência dos ácidos gordos *trans* na dessaturação e alongação dos ácidos gordos, em cérebros de rato em desenvolvimento.

Concluiu que, embora não tenha sido demonstrado que os ácidos gordos *trans* são de facto significativamente prejudiciais ao desenvolvimento, manutenção da composição e funcionamento do Sistema Nervoso Central de ratos, com poucos dias de idade, deverá continuar a investigar-se a ocorrência de possíveis efeitos subtis que possam surgir na formação e manutenção da estrutura crucial da membrana. Estes ácidos gordos *trans* podem influenciar as enzimas responsáveis pelas dessaturação e alongação no Sistema Nervoso Central, quer *in vitro* quer *in vivo*.

Quanto aos efeitos no Homem, refere que encontrou em 5 cérebros humanos autopsiados, pertencentes a indivíduos com idades compreendidas entre 8 meses e 84 anos, concentrações de $C_{18:1t}$ que variavam, de modo arbitrário, entre 0,5 e 3,0%. Foram detectados vários isómeros de posição do $C_{18:1t}$ mas não foram detectados ácidos gordos de cadeia longa na configuração *trans* nem $C_{18:2tt}$.

Em 1983, Rosenthal *et al.*, estudaram o efeito selectivo de ácidos gordos *cis* e *trans* na dessaturação pelas $\Delta 9$ e $\Delta 6$ dessaturases de fibroblastos de pele humana. Estas células incorporam e dessaturam activamente ácidos gordos de cadeia longa. O seu desenvolvimento num meio sem lípidos pode ser usado para incrementar a dessaturação pelas $\Delta 6$ e $\Delta 9$ -dessaturases do C_{18} e do $C_{18:2}$ marcados.

Verificaram que a suplementação do meio com ácidos gordos *cis* inibe a $\Delta 9$ -dessaturase. Os inibidores de maior acção parecem ser por ordem decrescente o $C_{18:2}$, $C_{18:19c}$ e $C_{18:111c}$. Não apresentam qualquer efeito o $C_{18:2tt}$, o $C_{18:111t}$ (*trans*-vacenato) e ácidos gordos saturados. O $C_{18:19t}$ parece ser um estimulador.

Relativamente à $\Delta 6$ -dessaturase os autores referem que os ácidos gordos *trans*, $C_{18:1t}$ e $C_{18:2tt}$ são inibidores potentes; o $C_{18:111t}$ tem um efeito de 50%

relativamente ao C_{18:1t}. A dessaturação do C_{18:2} é apenas ligeiramente inibida pelo C_{18:1^{9c}}, C_{18:1^{11c}} ou C_{18:3}.

Verificaram também que a actuação relativa dos isómeros do C_{18:1}, *cis* e *trans*, como inibidores das Δ⁹ e Δ⁶-dessaturases em células humanas intactas é diferente da encontrada em estudos microssomais.

Relativamente à Δ⁵-dessaturase, Rosenthal *et al.*, 1984, referiam que também a sua actividade pode ser aumentada quando as células se desenvolvem num meio isento de lípidos.

Verificaram que o C_{18:1t} é um potente inibidor enquanto o C_{18:1^{11t}} não tem qualquer efeito. O C_{18:1^{9c}} e o C_{18:2^{cc}} são moderadamente inibidores. O C_{18:2^{tt}} tem maior efeito inibidor que o C_{18:2^{cc}} mas significativamente inferior ao do C_{18:1t}. O efeito inibidor do C_{18:1t} é facilmente ultrapassado aumentando o fornecimento exógeno de eicosatrienoato (C_{20:3}).

Dos estudos efectuados com vários ácidos gordos monoénicos *trans* de diferentes tamanhos de cadeia carbonada verificaram que os ácidos gordos *trans* (n-9) são potentes inibidores da Δ⁵-dessaturase enquanto os (n-7) têm um efeito significativamente menos relevante.

Defendem a utilização de sistemas de cultura de células para a avaliação dos efeitos fisiológicos dos ácidos gordos isoméricos nos processos metabólicos celulares. Os fibroblastos humanos intactos parecem ser importantes na caracterização de ácidos gordos como inibidores selectivos da síntese *in vivo* de ácido araquidónico.

Ainda no que se refere à inibição, pelos ácidos gordos *trans* da dieta, do sistema enzimático dessaturação/elongação do fígado de rato, Thomassen *et al.*, 1984, referem que o tipo de gordura ingerida afecta fortemente a composição em ácidos gordos (n-6) nos fosfolípidos do fígado mesmo durante períodos curtos de 3 semanas.

Dietas deficientes em ácido linoleico provocam a acumulação de C_{20:3} (n-9) quando da ingestão de óleos parcialmente hidrogenados, o que não se verifica com uma dieta com óleos marinhos não hidrogenados.

Nishiyama *et al.*, 1985, referem que a configuração geométrica das gorduras ingeridas não afecta a quantidade de proteína microssomal nem o teor de citocromo P-450, após 35 dias de ingestão, em presença de quantidades adequadas de ácido linoleico. Referem também ter pequeno efeito na modulação do sistema oxidativo de função mista do fígado e que os ácidos gordos *trans* não afectam o sistema de metabolização de xenobióticos.

O efeito da ingestão de dietas ricas em gordura e em ácidos gordos *trans* na mitocôndria e na actividade peroxisomal foi estudado por vários autores.

Christiansen *et al.*, 1981, verificaram que dietas com percentagem elevada de calorias fornecidas por óleo de peixe hidrogenado induziam uma adaptação do metabolismo lipídico justificada pela acumulação de trigliceridos e hipertrofia das células e um aumento de 4,9 vezes da actividade de β -oxidação peroxisomal.

Verificaram também uma ligeira proliferação de peroxisomas, pois o seu número e volume aumentavam 1,5 vezes, embora preservassem a homogeneidade morfológica e bioquímica características.

A nível mitocondrial verificaram o desenvolvimento de megamitocôndrias como principal alteração morfológica, com um aumento de tamanho médio de 1,6 vezes. De acordo com os autores, a deficiência em ácidos gordos essenciais, reforçada pela presença de ácidos gordos *trans* de cadeia muito longa, parecem ser os factores determinantes para o desenvolvimento de megamitocôndrias e também para as alterações peroxisomais.

Thomassen *et al.*, 1982, caracterizaram o efeito estimulante, de dietas ricas em gordura, na β -oxidação peroxisomal do fígado de rato. Verificaram um aumento não significativo da actividade total e específica do fígado de ratos alimentados com dietas contendo quantidades crescentes de óleo de soja, de 5 a 25% p/p.

Quanto ao efeito de óleos de peixe hidrogenados, confirmaram o referido por Christiansen *et al.*, 1981, pois o seu estudo revelou a existência de uma curva sigmoidal dose/resposta com um aumento de 4 a 6 vezes na actividade de β -oxidação peroxisomal em dietas com 20% ou mais deste tipo de gordura.

A adição de pequenas quantidades de óleo de soja à dieta rica em óleo de peixe hidrogenado não afectava a actividade peroxisomal mas reduzia a relação $C_{20:3}/C_{20:4}$, nos fosfolípidos do fígado, de 0,74 para 0,01, ou seja, o óleo de soja repõe a actividade da $\Delta 6$ -dessaturase inibida pelos componentes do óleo de peixe hidrogenado.

Verificaram ainda que a fome durante 2 dias provocava um aumento de 1,5-1,8 vezes da actividade peroxisomal de β -oxidação em ratos previamente alimentados com uma dieta padrão mas não tinha efeito em ratos alimentados com dietas ricas em gordura.

Veerkamp *et al.*, 1986, concluíram, do estudo efectuado acerca do efeito dos lípidos da dieta na oxidação total e peroxisomal de ácidos gordos em tecidos de rato, que dietas ricas em gordura apenas induzem actividade de β -oxidação peroxisomal se contêm ácidos gordos em C_{20} e em C_{22} . A ingestão de altos teores de ácidos gordos *trans* em C_{18} não provocam aumento da actividade peroxisomal comparativamente com a observada com ácidos gordos *cis* do mesmo comprimento de cadeia.

Schrijver *et al.*, 1984, verificaram em ratos que ingeriam dietas contendo 10% de gordura constituída respectivamente por óleo de cártamo (dieta 1 - 0% *trans*) e suplementos contendo 36% de C_{18:1t} (2), 0,7% de C_{18:1t} + 2,6% de C_{18:2tt} (3 - 0,5% *trans*), 1,4% de C_{18:1t} + 5,1% de C_{18:2tt} (4 - 1% *trans*), 2,7% de C_{18:1t} + 10,2% de C_{18:2tt} (5 - 2% *trans*) e por último 6,7% de C_{18:1t} + 25,5% de C_{18:2tt} (6 - 5% *trans*) que :

- não havia alteração do metabolismo basal nem dos valores de energia metabolizável
- os ratos que ingeriam a dieta (2) não apresentavam alteração da função respiratória mitocondrial nem de utilização de energia
- nas dietas com C_{18:2tt} parecia haver uma redução da eficiência de utilização de energia metabolizável especialmente na dieta com teores de 5% de ácidos gordos *trans*
- a síntese de ATP mitocondrial baixava significativamente com as dietas contendo 2 e 5% de ácidos gordos *trans*.

Observaram um paralelismo entre a incorporação de C_{18:2tt} na mitocôndria do fígado, redução da função oxidativa mitocondrial e diminuição da eficiência energética. O C_{18:2tt} exercia um efeito pejorativo significativo na utilização de energia quando presente em teores de 2 e 5%.

Zevenbergen *et al.*, 1988, referem que, para ratos, um nível de 2% de ácido linoleico na dieta é suficiente para prevenir os efeitos indesejáveis de ingestão de grandes quantidades de C_{18:1t}, no que se refere à função mitocondrial.

Embora possam alterar significativamente a composição em ácidos gordos das membranas da mitocôndria não é detectada diferença na sua função nem efeitos específicos na respiração mitocondrial.

Em animais sem deficiência de ácidos gordos essenciais a membrana mitocondrial adapta-se a alterações de composição de modo a que a sua função se mantenha inalterada.

Flatmark *et al.*, 1988, descreveram um estudo sobre o mecanismo de indução da β -oxidação peroxisomal de ácidos gordos em fígado de rato devido à ingestão de dietas com 20% de gordura fornecida por óleo de peixe parcialmente hidrogenado.

Descreveram alterações bioquímicas imediatas que ocorriam em células hepáticas de ratos. Em apenas horas verificaram um aumento dos níveis de ornitina descarboxilase surgindo às 24 horas o seu nível 11 vezes mais elevado, regressando a níveis normais até às 48 horas.

Verificaram também um aumento de cerca de 12 vezes nos níveis celulares de mRNA para a produção da enzima bifuncional de β -oxidação peroxisomal (enoil-coA hidratase : β -hidroxiacil-coA dehidrogenase (HD); aumentos de cerca de 3 vezes no teor específico de proteína (HD) e um aumento de 5,3 vezes na capacidade de β -oxidação dos peroxisomas. Também o nível celular de ácidos gordos de cadeia longa-coA aumenta 2,1 vezes.

Pelo contrário, a ingestão de dietas, durante 1 semana, constituídas por 20% de óleo de soja com adição de 3 ou 6% de C_{18:1t}, C_{22:1t} ou C_{22:1c} respectivamente, não provocou alterações significativas nos parâmetros referidos.

Verificaram em análises morfométricas não haver proliferação de peroxisomas nestas dietas contrariamente ao que acontecia com as dietas com óleo de peixe hidrogenado. Concluíram que o tipo de resposta induzida pelo óleo de peixe parcialmente hidrogenado é semelhante à induzida por xenobióticos designados indutores da proliferação peroxisomal e que os ácidos gordos *trans* ingeridos, especialmente o C_{22:1t} tem um efeito pronunciado na biogénese mitocondrial em hepatócitos de rato devido à deficiência em ácidos gordos essenciais.

Ide *et al.*, 1987, num estudo sobre a actividade das enzimas mitocondriais e peroxisomais do fígado de ratos, alimentados com gorduras isoméricas, concluíram que a diferença na geometria dos ácidos gordos dietéticos tem apenas um efeito marginal na modulação do sistema hepático de oxidação dos ácidos gordos, embora se verifiquem diferenças marcadas no comportamento metabólico dos ácidos gordos *cis* e *trans* em preparações celulares e em fígados em perfusão.

Em 1984, Ide *et al.*, estudaram o metabolismo do ácido oleico e linoleico, com diferentes configurações geométricas, em fígados de rato em perfusão.

Quando da adição de ácidos gordos *trans* formava-se maior quantidade de corpos cetónicos o que pode querer significar que os ácidos gordos *trans* são uma fonte eficiente de energia nos tecidos animais.

Em contraste, apenas os isómeros *cis* aumentam a secreção de triglicéridos e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). As respostas obtidas mostraram-se independentes do grau de insaturação. Os monoenos *trans* são incorporados mais prontamente nos lípidos hepáticos que os dienos *trans* sendo estes oxidados mais rapidamente.

Biagi *et al.*, 1984, usando corações de rato em perfusão estudaram o efeito de ácidos gordos *trans* na funcionalidade mitocondrial e composição dos fosfolípidos, em situações de oxigenação e anoxia.

Verificaram que os ácidos gordos da dieta influenciavam a composição dos tecidos do coração, provocando uma acumulação de ácidos gordos *trans*.

Concluíram que a ingestão de uma gordura hidrogenada com 28% de C_{18:1t} provocava uma diminuição da funcionalidade mitocondrial em diferentes estados de oxigenação e que esta alteração estaria possivelmente correlacionada com a composição em ácidos gordos dos fosfolípidos do coração.

Também Awad *et al.*, 1983, após alimentar, durante 4 semanas, ratos após desmame com dietas contendo 5% de C_{18:1t} e igual quantidade de isómero *cis* verificaram que a fracção de lípidos do sarcolema dos animais alimentados com isómeros *trans* estava enriquecida nesses ácidos gordos. A sua incorporação nas membranas provocou um aumento do colesterol membranar sem afectar o perfil de fosfolípidos da membrana.

As alterações induzidas na composição de lípidos do sarcolema do coração sugerem possíveis modificações funcionais nessas membranas.

No entanto posteriormente Hoy *et al.*, 1990, num estudo feito acerca da influência do ácido linoleico e ácidos gordos *trans* da dieta no perfil de ácidos gordos das cardiolípidinas no rato verificaram que embora as gorduras ingeridas, óleo de peixe parcialmente hidrogenado rico em isómeros do C_{16:1}, C_{18:1}, C_{20:1} e C_{22:1} contivessem 33% de ácidos gordos *trans*, os níveis destes nas cardiolípidinas eram inferiores a 2,5% mostrando diferentes respostas à dieta ingerida.

Ide *et al.*, 1986, compararam o metabolismo do C_{18:1c} e *t* em várias estirpes de rato em diferentes estados nutricionais.

Concluíram que as diferentes estirpes respondiam de modo diferente à oxidação dos ácidos gordos *trans*, a corpos cetónicos, assim como à secreção de triglicéridos. E ainda que o sistema oxidativo de ácidos gordos mitocondrial e peroxisomal aparentemente discriminava as diferenças geométricas dos ácidos gordos substrato.

Relativamente à actividade da ciclooxigenase das plaquetas de rato e da 12-lipoxigenase, Blomstrand *et al.*, 1985, concluíram que altos níveis de isómeros *trans*, fornecidos por gorduras hidrogenadas, vegetais e de peixe, não interferem desde que sejam fornecidas concomitantemente quantidades suficientes de ácido linoleico.

Mahfouz *et al.*, 1982, verificaram o efeito de ácidos gordos *trans* da dieta na actividade das enzimas colinesterase e monoaminooxidase (MAO) em diferentes órgãos de rato. Para tal utilizaram 3 grupos de ratos albinos que ingeriram respectivamente 10% de óleo de milho, óleo de coco hidrogenado e óleo de soja hidrogenado, durante 105 dias. Verificaram uma diminuição da actividade destas enzimas no coração e no fígado, devida à ingestão de ácidos gordos *trans*.

Quanto ao efeito dos ácidos gordos *trans* na actividade da adenilato ciclase e fluidez da membrana em ratos podemos citar 3 estudos feitos respectivamente em 1985, 1988 e 1989.

Os autores utilizaram 3 grupos de ratos alimentados respectivamente com 20% de óleo de milho (1), 20% de óleo de soja parcialmente hidrogenado (2) e 18 ou 19% de óleo de soja parcialmente hidrogenado e 2 ou 1% de óleo de milho (3).

Alam *et al.*, 1985, verificaram que com a dieta (2) as membranas plasmáticas da glândula lacrimal apresentavam uma actividade superior da adenilato ciclase e menor fluidez. Com a adição de 1% de óleo de milho a actividade enzimática e a fluidez da membrana tendiam para a normalidade.

Ren *et al.*, 1988, estudaram as alterações da actividade da adenilato ciclase das glândulas salivares submandibulares, estimuladas pelo fluoreto e pelo isoproterenol. Verificaram o seu aumento nos ratos alimentados com a dieta (2) relativamente à (1). Com a ingestão de 2% de óleo de milho, na dieta (3), a actividade da enzima estimulada pelo isoproterenol regressava à normalidade mas no caso do fluoreto era apenas parcialmente normal.

Alam *et al.*, 1989, estudaram o comportamento desta e doutras enzimas da membrana e de receptores do coração de rato. Verificaram que a $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{ATPase}$, sensível à ouabaina, apresentava actividades significativamente inferiores nos ratos alimentados com a dieta (2) comparativamente com os ratos alimentados com a dieta (1). A adição de 2% de óleo de milho restaurava parcialmente a actividade da enzima. A densidade dos receptores β -adrenérgicos nas membranas cardíacas é inferior nos ratos alimentados com a dieta (2).

Koletzko, 1992, publicou um trabalho em que refere que os ácidos gordos *trans* em prematuros estavam correlacionados inversamente com o peso ao nascer mas não com a idade de gestação.

De acordo com o autor os dados obtidos indicam haver um potencial enfraquecimento do metabolismo dos ácidos gordos essenciais e do crescimento de recém-nascidos devido à ingestão de ácidos gordos *trans*, questionando a sua ingestão em altos teores na gravidez e no período perinatal.

CAPÍTULO 5

AMOSTRAS ESTUDADAS

O número de amostras estudado esteve dependente da variedade de produtos disponíveis para consumo e da disponibilidade, por parte da indústria, de fornecer e de permitir o estudo de algumas matérias-primas utilizadas.

Faremos uma abordagem e enumeração do tipo e número de amostras estudadas; das condições de aquecimento, sempre que este ocorreu; da amostragem efectuada; e dos parâmetros avaliados.

5.1. ÁCIDOS GORDOS E TRIÉSTERES

Para um estudo comparativo da capacidade de oxidação de ácidos gordos e dos correspondentes triésteres foram analisadas amostras de:

ácido oleico	ácido elaídico	trilinoleína
trioleína	trielaídina	trilinolelaídina.

Condições de aquecimento

Todas as amostras, ácidos gordos e triésteres, foram aquecidos a 110°C e submetidas a arejamento forçado a um fluxo de 20l/h. A única diferença que se verificou entre as 6 amostras foi o tempo de aquecimento. Para os ácidos foi de 7 horas e para os triésteres foi de 24 horas.

O tratamento térmico foi efectuado num aparelho Rancimat e simultaneamente foi determinada a resistência à oxidação das amostras em estudo.

De acordo com as instruções do aparelho só se deve interromper a operação quando a condutividade aumenta bruscamente e atinge o máximo (300µS). Este facto ocorreu ao fim de 7h com os ácidos gordos. Com os triésteres o aquecimento teve de prolongar-se até 24h consecutivas e em algumas das amostras não se atingiu o valor máximo de condutividade.

Amostragem

Consistiu em analisar todas as amostras, antes e após aquecimento.

Parâmetros avaliados

Resistência à oxidação, absorvências no ultravioleta, composição em ácidos gordos e espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

5.2. MARGARINAS

Para avaliar os teores em isómeros *trans* e simultaneamente as variações de lote para lote foram analisadas 8 das marcas de margarinas mais comercializadas na cidade do Porto e adquiridas no período Novembro/Dezembro de 1991.

O número total de amostras avaliado foi 40 (35 margarinas e 5 minarinas).

De cada marca foram avaliados 5 lotes.

Das 8 marcas estudadas, 3 eram margarinas de cozinha (MC) e 5 margarinas de mesa (MM), apresentando nos rótulos as seguintes composições lipídicas :

Amostra 1 - óleos e gorduras vegetais simples e hidrogenados (MC)

Amostra 2 - óleos e gorduras vegetais simples (MM)

Amostra 3 - óleos e gorduras vegetais refinados e hidrogenados (MM)

Amostra 4 - óleos e gorduras vegetais refinados e hidrogenados (MC)

Amostra 5 - óleos e gorduras vegetais simples e hidrogenados (MM)

Amostra 6 - óleos e gorduras vegetais e animais refinados e hidrogenados (MC)

Amostra 7 - óleos e gorduras vegetais simples e hidrogenados (MM)

Amostra 8 - óleos e gorduras vegetais simples e hidrogenados (MM)

5.3. MANTEIGA DE CACAU E PRODUTOS SIMILARES UTILIZADOS COMO SEUS SUBSTITUTOS NA FABRICAÇÃO DO CHOCOLATE

Foram analisadas 7 amostras de manteiga de cacau, de diferentes origens, cedidas por uma empresa que processa este tipo de matéria-prima.

Foi também determinada a composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* de 4 amostras de "Cocoa butter equivalentes".

Analisaram-se também 3 amostras de chocolate, aos quais tinham sido adicionados 5% de CBE, de acordo com a informação dada pelo produtor.

O parâmetro avaliado foi a composição em ácidos gordos e isómeros *trans*.

5.4. ÓLEOS VEGETAIS

5.4.1. Óleos vegetais refinados

Para avaliar o teor de isómeros *trans* dos ácidos gordos insaturados, presentes nos óleos edíveis refinados, foram analisadas 40 amostras de óleos vegetais pertencentes aos tipos de óleo mais consumidos no mercado português e acessíveis ao consumidor.

Os tipos analisados foram : óleo alimentar, óleo de amendoim, óleo de girassol, óleo de milho e óleo de soja.

Estas amostras foram colhidas aleatoriamente no mercado de retalho da cidade do Porto, no período Outubro/Dezembro de 1992.

Todas se encontravam dentro do prazo de validade e foram numeradas aleatoriamente de 1 a 40.

As marcas e tipos de óleos analisados, por ordem alfabética, foram :

Óleo alimentar (18 amostras)

Becel	Continente	Duna	Finóleo
Finor	Frigi	Frilar	Frissol
Fritus	Fula	Gesi	Litoral
Pão de Açúcar	Pima	Prestígio	Sol do Campo
Tianica	Vegê		

Óleo de amendoim (3 amostras)

Gesi
Maná
Sol do Campo

Óleo de girassol (11 amostras)

Continente	Finor	Gesi	Girassol 3A
Prazol	Seara Cozinha	Seara Fritura	Seara Tempero
Sol do Campo	Vaqueiro	Vitóleo	

Óleo de milho (2 amostras)

Gesi
Solmil

Óleo de soja (6 amostras)

Campo d'Ouro	Finor
Ibersoja	Novos Pioneiros
Pão de Açúcar	Prazol.

5.4.2. Óleos vegetais aquecidos em estufa

Analisaram-se 5 tipos de óleos vegetais adquiridos no mercado de retalho da cidade do Porto, óleo de milho, óleo de girassol, óleo de soja, óleo alimentar e azeite virgem extra, numerados respectivamente com os números 1, 2, 3, 4 e 5.

Condições de aquecimento

As amostras foram aquecidas de modo ininterrupto e simultaneamente, durante 96 horas, à temperatura de $145 \pm 5^\circ\text{C}$.

O aquecimento efectuou-se em estufa, em recipientes de aço inoxidável abertos, na ausência de alimento e do borbulhar do ar no óleo e ainda sem adição de óleo novo para reposição de volume.

A temperatura de ensaio foi controlada através de um termómetro de imersão e nunca ultrapassou os 150°C .

Amostragem

Foram colhidas tomas de cada amostra imediatamente antes do aquecimento (tempo 0) e após 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas de aquecimento

Parâmetros avaliados

Acidez; Índice de peróxido; Índice de *para*-anisidina; Índice de Totox; Compostos polares; Resistência à oxidação; Cor e características cromáticas; Absorvências no ultravioleta; Cor Lovibond; Composição em ácidos gordos e em isómeros *trans*.

5.4.3. Óleos vegetais utilizados como banhos de fritura

O tipo de óleo utilizado nos ensaios que descrevemos é o óleo alimentar. Tem a grande vantagem de ser o mais económico e obedecer minimamente às características desejadas para um banho de fritura.

O tratamento térmico dos óleos foi levado a cabo numa cantina da Universidade do Porto, nas condições correntemente praticadas na indústria hoteleira (restaurantes, cantinas, snacks e demais estabelecimentos do ramo) segundo um modelo semi-industrial.

As condições de trabalho foram escrupulosamente respeitadas, assim como o tipo de óleos utilizados e o tipo de alimentos fritos.

Além da avaliação das alterações sofridas pelo óleo, utilizado como banho de fritura, foi também estudada a composição em ácidos gordos e isómeros *trans* da gordura do produto frito.

5.4.3.1. Fritura de batatas

Nos banhos de fritura foram colocadas amostras de batatas, cortadas em palitos, em condições idênticas de tratamento e de temperatura, e deixadas a fritar até obtenção de um produto de características similares.

Com exceção do óleo de fritura, houve o cuidado de fixar os restantes parâmetros, que se conhecem como susceptíveis de influenciarem o sistema complexo que a fritura constitui.

Ensaio 1.

Aquecimento do óleo durante 17 horas com reposição de volume

Tipo de amostras : óleo de fritura e batatas fritas.

Utilizou-se um óleo alimentar, devidamente embalado, que se encontrava dentro do seu período de validade e estava armazenado à temperatura ambiente no interior de caixas opacas. Este produto constituiu o banho para fritura de batatas frescas.

Em cada período de 3 horas de aquecimento do óleo eram fritos cerca de 60kg de batatas.

Condições de aquecimento

Antes de se iniciar a fritura das batatas, o óleo era posto a aquecer atingindo um valor máximo de 195°C.

Após adição das batatas a temperatura do banho de fritura descia para 145±5°C e mantinha-se a esta temperatura durante todo o processo.

A fritura das batatas foi efectuada em fritadeira semi-industrial de aço inoxidável com uma capacidade de 15 l e com as dimensões de 32 x 42 x 25 cm de profundidade.

Entre cada período de aquecimento o banho de fritura repousava pelo menos 24h à temperatura ambiente.

Amostragem

Amostras representativas da composição do banho de fritura foram retiradas imediatamente antes de se iniciar o aquecimento (tempo 0) e após 3, 6, 7, 10, 13 e 17 horas de aquecimento.

Às 7, 10 e 13 horas de aquecimento procedeu-se à adição de óleo novo, para reposição do volume inicial, em consequência da absorção do óleo de fritura pelas batatas.

Quanto ao produto frito seguiu-se o critério de recolher 1 amostra de batatas após cada etapa de aquecimento, num total de 6.

Parâmetros avaliados

Composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* no banho de fritura e na gordura extraída das batatas fritas.

Apenas no óleo de fritura : Acidez; Índice de peróxido; Índice de *para*-anisidina; Índice de Totox; Compostos polares; Resistência à oxidação; Cor e características cromáticas; Absorvências no ultravioleta; Cor Lovibond.

O fim do ensaio foi determinado pelo operador da fritura.

Segundo o seu hábito e experiência, a altura de eliminar o óleo foi determinada pela observação das características organolépticas do alimento frito, por se afastarem das consideradas aceitáveis, ensopado em óleo, mole e de cor escura.

Outros critérios de rejeição foram a formação de espuma, a cor do óleo e a presença de resíduos.

Ensaio 2.

Aquecimento do óleo durante 89 horas com reposição de volume

Tipo de amostras

Tal como no ensaio 1, óleo do banho de fritura e batatas fritas.

Condições de aquecimento

Tal como no ensaio 1.

Sempre que necessário procedeu-se à adição de óleo novo para reposição do volume inicial.

Amostragem

Amostras representativas da composição do banho de fritura foram retiradas imediatamente antes de se iniciar o aquecimento (tempo 0) e após 3, 6, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 35, 44, 50, 56, 59, 65, 71, 77, 83 e 89 horas de aquecimento.

A recolha de produto frito verificou-se a partir das 22 horas de aquecimento.

Parâmetros avaliados

Os mencionados no ensaio 1.

Tal como no ensaio 1, o fim deste ensaio foi determinado pelo operador de fritura.

Ensaio 3.

Aquecimento do óleo durante 7 horas sem reposição de óleo novo

Amostras

As análises incidiram sobre amostras de um óleo alimentar utilizado a fritar batatas.

Condições de aquecimento

As descritas para o ensaio 1.

Amostragem

Amostras representativas da composição do banho de fritura foram retiradas imediatamente antes de se iniciar o aquecimento (tempo 0) e após 1,5, 4,5 e 7 horas de aquecimento.

Parâmetros avaliados

Os mencionados no ensaio 1, à excepção dos ensaios efectuados no produto frito, que neste caso não foi alvo de estudo.

O fim deste ensaio foi determinado pelo facto do óleo da fritadeira ter atingido um volume inferior ao mínimo necessário para fritar.

5.4.3.2. Fritura de rissóis

Tipo de amostras

- 2 óleos alimentares que constituíam os banhos de fritura;
- 2 amostras de rissóis fritos em cada banho de fritura;
- 1 amostra de rissóis crus, que se encontravam à temperatura de congelação.

Condições de aquecimento

Cada amostra de óleo foi aquecida durante 10 minutos, até à temperatura de 210°C, sendo em seguida adicionados os rissóis. A sua entrada no banho de fritura provocou uma diminuição da temperatura para 170°C, mantendo-se esta a 165±5°C durante todo o ensaio.

O tempo de fritura dos rissóis foi de cerca de 8 minutos. A fritura de 300 rissóis demorou 1h30m.

Foi utilizada uma fritadeira semi-industrial de aço inoxidável, quadrada com 55 cm de lado. A espessura da camada de óleo era de cerca de 5 cm.

Amostragem

Foram retiradas amostras representativas da composição dos 2 banhos de fritura imediatamente antes do aquecimento e após fritura, durante 1h30m, de rissóis.

No produto frito, a amostragem consistiu em retirar 2 tomas de rissóis fritos de cada um dos banhos de fritura.

Foi analisada também uma amostra de rissóis por preparar, que se encontravam congelados.

Parâmetros avaliados

Composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* dos óleos que constituíam os banhos de fritura e da gordura extraída quer do produto processado quer do produto por processar.

Doseamento da gordura dos rissóis antes e após fritura.

Apenas nos banhos de fritura: Acidez; Índice de peróxido; Índice de *para*-anisidina; Índice de Totox; Compostos polares.

5.4.3.3. Fritura de filetes de polvo

Os filetes de polvo são um tipo de alimento frequentemente apresentado aos utentes da cantina que colaborou na execução dos ensaios que têm sido descritos.

O polvo é previamente cozido, aberto e envolto numa polme de farinha e ovo.

Tipo de amostras

2 óleos alimentares que constituíam os banhos de fritura;

2 amostras de filetes de polvo fritos em cada banho de fritura;

1 amostra de filetes de polvo, antes de contactar com o óleo de fritura.

Condições de aquecimento

Cada amostra de óleo foi aquecida durante 10 minutos, até à temperatura de 210°C, sendo em seguida adicionados os filetes de polvo.

A sua entrada no banho de fritura provocou uma diminuição da temperatura para 180°C, mantendo-se esta a 180±5°C durante todo o ensaio.

A fritura de 25kg de filetes de polvo demorou 1h30m.

Foi utilizada uma fritadeira semi-industrial de aço inoxidável, quadrada com 55 cm de lado. A espessura da camada de óleo era de cerca de 5 cm.

Amostragem

Foram retiradas amostras representativas da composição dos 2 banhos de fritura imediatamente antes do aquecimento e após fritura durante 1h30m de filetes de polvo.

No produto frito, a amostragem consistiu em retirar 2 tomas de filetes de polvo fritos em cada um dos banhos de fritura.

Foi analisada também uma amostra de filetes de polvo, envoltos em polme de farinha e ovo, sem contactar com o banho de fritura.

Parâmetros avaliados

Composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* dos óleos que constituíam os banhos de fritura e da gordura extraída quer do produto frito quer do produto por fritar.

Doseamento da gordura dos filetes de polvo, antes e após fritura.

Apenas nos banhos de fritura: Acidez; Índice de peróxido; Índice de *para*-anisidina; Índice de Totox; Compostos polares; Resistência à oxidação; Cor e características cromáticas; Absorvências no ultravioleta; Cor Lovibond.

5.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

5.5.1. Margarinas

A preparação das amostras de margarinas foi feita de acordo com a NP-896 (1985) e consistiu em amolecer a gordura em banho de água a uma temperatura da ordem de 40°C. Com auxílio de espátula homogeneizou-se a totalidade do produto a preparar.

Para a eliminação da água, procedeu-se à filtração do produto por filtro de papel e sulfato de sódio anidro, à temperatura acima referida.

5.5.2. Manteiga de cacau e produtos similares utilizados como seus substitutos na fabricação do chocolate

As amostras tiveram uma preparação semelhante à descrita para as margarinas.

No caso dos chocolates efectuou-se a sua trituração, seguida de extracção da gordura com éter de petróleo, em dispositivo de Soxhlet.

5.5.3. Óleos vegetais

As amostras antes e após aquecimento foram filtradas por filtro de papel e desidratadas com sulfato de sódio anidro, de acordo com a NP-896 (1985).

5.5.4. Alimentos confeccionados

Os rissóis, as batatas e os filetes de polvo sofreram polpação e a sua gordura foi extraída, em dispositivo de Soxhlet, com éter de petróleo, durante pelo menos 6 horas.

Após recuperação do solvente, a gordura extraída foi filtrada por filtro de papel e desidratada com sulfato de sódio anidro.

CAPÍTULO 6

REAGENTES

A maioria dos reagentes utilizados tinha grau p.a. Entre eles citam-se :

- n-heptano
- iso-octano
- éter de petróleo p.e. 40-60°C
- éter etílico
- clorofórmio
- metanol
- tetracloreto de carbono
- ácido acético glacial
- sulfato de sódio anidro

Foram ainda utilizados :

- Água bidestilada
- Clorofórmio deuterado, com um grau de deuteração de 99,8%
- Trifluoreto de boro em metanol, solução a 14% v/v, Sigma

Soluções utilizadas :

- Solução de hidróxido de sódio 0,1N
- Solução de tiosulfato de sódio 0,01N
- Solução de álcool 95% e éter etílico (1 + 1)
- Solução de clorofórmio e metanol (2+1)
- Solução de hidróxido de potássio em metanol aproximadamente 0,2N (11g/l)
- Solução de *p*-anisidina em ácido acético glacial 0,25g/100ml
- Solução de amido
- Solução de fenolftaleína
- Solução saturada de cloreto de sódio
- Solução saturada de iodeto de potássio

6.1. PADRÕES UTILIZADOS

Os ésteres metílicos usados como padrões tinham uma pureza aproximada de 99%. Entre os usados citam-se :

- Caproato de metilo (C₆)
- Caprilato de metilo (C₈)
- Caprato de metilo (C₁₀)
- Laurato de metilo (C₁₂)
- Miristato de metilo (C₁₄)
- Palmitato de metilo (C₁₆)
- Palmitoleato de metilo (C_{16:1c})
- Palmitoelaidato de metilo (C_{16:1t})
- Heptadecanoato de metilo (C₁₇)
- Heptadecenoato de metilo (C_{17:1})
- Estearato de metilo (C₁₈)
- Oleato de metilo (C_{18:1^{9c}})
- Elaídato de metilo (C_{18:1^{9t}})
- Vacenato de metilo (C_{18:1^{11c}})
- Petroselinato de metilo (C_{18:1^{6c}})
- Linoleato de metilo (C_{18:2^{9c,12c}})
- Linolelaídato de metilo (C_{18:2^{9t,12t}})
- Linolenato de metilo (C_{18:3^{9c,12c,15c}})
- Nonadecanoato de metilo (C₁₉)
- Araquidato de metilo (C₂₀)
- *cis*-11-eicosenoato de metilo (C_{20:1})
- Beenato de metilo (C₂₂)
- Erucato de metilo (C_{22:1^{13c}})
- Lignocerato de metilo (C₂₄).

Os padrões de trigliceridos usados (Sigma) foram :

- Trioleína
- Trielaidina
- Trilinoleína
- Trilinolelaídina

CAPÍTULO 7

METODOLOGIA

7.1. APARELHAGEM UTILIZADA

- Cromatógrafo PHILIPS Pye Unicam PU 4500, adaptado para colunas capilares, munido de detector de ionização de chama e de um integrador Pye Unicam CDP 4 PHILIPS.
- Cromatógrafo CHROMPACK modelo CP-9000 equipado com injetor com sistema splitless e detector FID. Recolha e tratamento dos dados por microprocessador PCI Dell provido de um disco duro 325SX e uma impressora Citizen Swiff 9/9x.
- Espectrofotômetro de Ressonância Magnética Nuclear Bruker Pulser NMR NR 200 AF
- Cromatógrafo líquido VARIAN modelo 5000, equipado com detector de Ultravioleta de comprimento de onda variável e ligado a integrador Varian modelo 4290.
- Sistema de HPLC composto por : uma bomba GILSON modelo 302 ligada a manômetro GILSON modelo 802C; coluna S10 ODS2; injetor automático GILSON modelo 231-401; detector fluorimétrico GILSON 121; integrador VARIAN modelo 4290.
- Espectrofotômetro de Ultravioleta e Visível Hitachi 150-20, com um processador de dados Hitachi 150-20
- Food Oil Sensor, modelo NI-21
- Lovibond Tintometer
- Rancimat, modelo 617 da Methrom-Herisau A.G.
- Centrifuga Heraeus, Sepatech, Labofuge Ae

- Ultra Torrax, Janke & Kunkel utilizado na homogeneização dos tecidos e fezes a 8000r.p.m.
- Sistema evaporador de solventes com azoto industrial da Pierce, modelo 18780, Reacti-Vap TM
- Demais aparelhagem de uso corrente em laboratório como balanças analíticas, estufas, mantas eléctricas e micropipetas.
- Material de vidro de uso corrente incluindo aparelhos de Soxhlet e buretas automáticas.

7.2. DETERMINAÇÕES

As técnicas utilizadas foram as seguintes :

Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .

Os espectros de RMN ^1H foram efectuados a 200MHz em clorofórmio deuterado. Os espectros de RMN ^{13}C foram efectuados a 55,3 MHz em clorofórmio deuterado. Os desvios químicos foram registados em unidades de δ e as constantes de acoplamento (γ) em Hz.

Vitamina E

Determinada por HPLC, técnica adaptada de Catignani *et al.*, 1983 e Deschuytere *et al.*, 1986.

Condições cromatográficas

Coluna RP-18, Spherisorb, 25cm de comprimento, 4,5mm i.d. e 10 μ de tamanho de partícula. Pré-coluna C₁₈ Altech, 30-40 μ .

Fase móvel metanol:água (98:2, v/v).

Detecção a 280nm.

Volume injectado 20 μ l.

Padrão interno α -tocopheryl.

Condições de extracção

No fígado : A 3ml de tampão (EDTA / KH_2PO_4 , 50mM, pH=7,4) adicionaram-se cerca de 1g de fígado, 3ml de metanol e 1ml de álcool amílico. Extraiu-se 2 vezes com 3ml de n-hexano e levou-se à secura.

No soro : A 1ml de etanol ou metanol adicionaram-se 0,5ml de soro e padrão interno, agitou-se em vortex e extraiu-se 2 vezes com 1ml de n-hexano, voltou a agitar-se, centrifugou-se, recuperou-se a camada de n-hexano e levou-se à secura.

Retomaram-se os extractos à secura com 125ml de éter etílico e após agitação adicionaram-se 375ml de metanol.

Taurina

Determinada por HPLC/Detector de fluorescência

Condições cromatográficas

Coluna S10 ODS2, Spherisorb, 25cm x 4,6mm

Fase móvel - Tampão de diidrogenofosfato de sódio em água e metanol (0,05M, pH 5,3) preparado conforme descrito por Larsen *et al.*, 1980.

Deteccção fluorimétrica com filtro de excitação a 305-395 nm e filtro de emissão a 420-650 nm

Agente derivatizante- OPA (*o*-phthalaldehyde/mercaptoethanol)

Volume injectado 20µl.

Condições de extracção

No fígado : 1) Preparação da amostra - A 200-300mg de fígado adicionaram-se 4ml de tampão (ácido sulfossalicílico 0,2M). Homogeneizou-se e centrifugou-se.

2) Purificação da amostra em coluna de resina de troca iónica - Fez-se atravessar a coluna por 4x1ml de água após colocação de 25µl de sobrenadante.

Na urina : Procedeu-se apenas à purificação da amostra em coluna de resina de troca iónica (25 µl urina + 4x1ml de água)

Acidez (A)

Executada segundo a NP-903 (1987)

A acidez, parâmetro indicador do ranço hidrolítico, tem um grande valor nas transacções comerciais.

Segundo a Legislação Americana a acidez é um parâmetro importante, especialmente na fritura industrial. Esta limita o uso de gorduras em fritura a um teor máximo de 1% de ácidos gordos livres, Pérez-Camino *et al.*, 1988.

Índice de peróxido (IP)

Determinado segundo a NP-904 (1987)

Parâmetro que fornece informação acerca do estado oxidativo das amostras, indicador muito sensível dos estágios iniciais da deterioração oxidativa. Por este motivo o seu interesse restringe-se à fase inicial de oxidação já que os peróxidos sofrem decomposição ao longo do processo.

Índice de *p*-Anisidina (IpA)

A técnica utilizada foi a descrita na NP-1819 (1984)

Também fornece informação acerca do estado oxidativo das amostras, sendo um indicador dos níveis de produtos de oxidação secundária. Assim a história térmica de um óleo pode ser conhecida através do seu IpA, teste que determina os níveis de aldeídos, principalmente 2-alcenais, Grompone, 1991.

Índice de Totox (IT)

Determinado pela expressão $2 IP + IpA$, Rossell, 1983.

O IT fornece uma informação que associa a história passada do óleo, dada pelo IpA, e o estado presente do óleo, dado pelo IP.

Cor dos óleos e suas características cromáticas

Técnica efectuada segundo a NP-937 (1987).

Determinação que fornece informação acerca das características cromáticas dos produtos em análise. Entre elas citam-se:

- as coordenadas cromáticas x e y do ponto da superfície do diagrama de cromaticidade correspondente à luz transmitida pelo óleo
- a transparência da luz incidente transmitida após a passagem pela camada de óleo
- o comprimento de onda dominante, ou seja, a radiação espectral que predomina na luz transmitida pelo óleo
- a pureza, que corresponde à percentagem da luz transmitida pelo óleo com o comprimento de onda dominante.

Cor pelo método do Lovibond Tintometer

Trata-se de um critério importante de avaliação da qualidade de um óleo refinado ou de controlo de determinado processamento.

Nesta técnica compara-se a cor da luz transmitida através de determinada espessura de óleo com a cor da luz transmitida através de uma série de vidros coloridos padrão.

A cor dos óleos é então dividida em unidades de escala Lovibond amarelo, vermelho e azul.

Absorvências no Ultravioleta.

Determinação adaptada da técnica descrita na NP-970 (1986).

Efectuaram-se espectros entre 190 e 350 nm.

Trata-se de um teste clássico de análise de óleos.

As extinções específicas a determinados comprimentos de onda permitem um entendimento dos processos de oxidação que ocorrem em óleos contendo ácidos gordos insaturados.

A formação de hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, de ácidos gordos conjugados e de dienos conjugados pode ser acompanhada, pois estes compostos absorvem na banda dos 232nm.

Os produtos secundários de oxidação, especialmente as dicetonas apresentam uma banda de absorção na vizinhança dos 270nm, comprimento de onda a que absorvem também os trienos conjugados.

Os tetraenos conjugados absorvem a 301nm e a 275nm absorvem os oxodienos, resultantes dos hidroperóxidos conjugados do ácido linoleico, por desidratação, Rossell, 1986.

Pelo que foi dito, a relação das absorvências a 232 e 270nm fornece informação quanto à situação oxidativa do produto, já que é uma relação predominantemente entre produtos iniciais de oxidação e produtos secundários de oxidação.

Compostos polares

De acordo com Azpilicueta *et al.*, 1991, e Suys, 1991, o parâmetro fracção polar é o mais representativo da alteração global das matérias gordas utilizadas em fritura profunda.

Incluem-se nesta fracção grande parte das entidades formadas durante o aquecimento dos óleos e gorduras.

1) Avaliados pelo Food Oil Sensor (FOS).

Nesta técnica o teor dos compostos polares é determinado a partir da variação da constante dielétrica, a qual é devida ao aparecimento de compostos com polaridade superior à dos trigliceridos.

Para converter o valor lido em compostos polares utilizou-se a fórmula
$$CP = (FOS + 0,642) / 0,236.$$

O aparelho é calibrado com o óleo de partida do ensaio, considerado como tendo um teor nulo de compostos polares. Após cada determinação deve ser novamente calibrado.

Trata-se de uma técnica essencialmente utilizada em óleos de fritura ou em situações de estudo da evolução deste parâmetro ao longo de determinado tratamento térmico.

Apresenta uma elevada correlação com os métodos padrão para esta determinação e também com o teor de ácidos gordos oxidados (0,7-1% de ácidos gordos oxidados <> a 25-30% de compostos polares) com a vantagem de ser muito rápido.

De acordo com alguns investigadores a alteração na constante dielétrica medida com o FOS é o método de controlo de qualidade mais conveniente em restauração, White, 1991.

2) Avaliados pelo **Very-Fry (R) Test** (Laboratórios LIBRA Inc.)

A técnica consiste em adicionar a um tubo plástico inquebrável, que contém todos os reagentes, a amostra de óleo em estudo.

Após aguardar o tempo necessário de reacção a leitura dos resultados é feita por comparação da cor obtida com uma tabela de cores fornecida com o teste. A tabela relaciona a cor obtida com um intervalo de valores de compostos polares.

Este teste tem como vantagem ser de rápida execução e leitura. No entanto é um teste subjectivo já que exige a comparação de cores com tonalidades próximas. Uma outra característica que apresenta é não fornecer valores absolutos.

Parece ser, em nossa opinião, uma possibilidade exequível de controlo de qualidade feita "*in situ*", pelo operador de fritura, o qual pode basear a sua apreciação, além das características organolépticas do alimento também na qualidade do óleo do banho de fritura.

Determinação da resistência à oxidação pelo método Rancimat.

Neste ensaio determina-se a resistência à oxidação de óleos comestíveis em situação de oxidação acelerada, Hasenhuettl *et al.*, 1992, Barrera-Arellano *et al.*, 1992.

Entende-se por resistência à oxidação o período de indução, expresso em horas, determinado a $110 \pm 0,2^\circ\text{C}$ com um fluxo de ar de 20l/h.

O período de indução é o tempo decorrido desde o momento em que a amostra adquire a temperatura de ensaio até ao momento em que os produtos de oxidação começam a desenvolver-se exponencialmente.

Em resumo, este processo consiste em fazer passar uma corrente de ar, a um fluxo de 20l/h, através de uma toma de cerca de 2,5g de óleo ou gordura, aquecida a 110°C . Os compostos de oxidação, desenvolvidos ao longo do tempo, são arrastados pelo fluxo de ar que borbulha posteriormente numa solução aquosa. Nesta solução está imerso um eléctrodo que mede a sua condutividade. O aparelho efectua as análises automaticamente só podendo interromper-se a operação quando, para cada amostra, a condutividade medida aumenta bruscamente e atinge o máximo ($300\mu\text{S}/\text{cm}$).

O cálculo dos tempos de estabilidade das amostras é feito pelo traçado das tangentes à curva obtida no registador. Uma régua especial transforma o comprimento (expresso em cm) em tempo (expresso em segundos). O comprimento medido é o espaço compreendido entre o início do registo e o ponto de intersecção das tangentes à curva.

Determinação da composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* dos ácidos gordos insaturados

Utilizou-se a Cromatografia em fase gasosa de coluna capilar dos ésteres metílicos obtidos por transesterificação.

7.2.1. Análise cromatográfica da composição em ácidos gordos de óleos e gorduras

7.2.1.1. Extracção dos lípidos totais

Nas rações e nas fezes :

A extracção ocorreu em dispositivo de Soxhlet, com éter de petróleo durante pelo menos 6h.

Terminada a extracção, procedeu-se à recuperação do solvente utilizando ampolas de recuperação.

No caso de se tratar do doseamento dos lípidos totais, este era feito por gravimetria, ou seja, o produto era aquecido em estufa a $100\pm 5^{\circ}\text{C}$ até peso constante.

Nos órgãos e fezes :

A extracção dos lípidos totais foi feita de acordo com Folch *et al.*, 1957.

A amostra foi previamente fraccionada e colocada em tubos de extracção.

Sofria homogeneização com a mistura clorofórmio-metanol 2:1 (v/v) numa proporção 1:10.

Era centrifugada e procedia-se à recolha do solvente.

Repetia-se a homogeneização e a centrifugação mais 2 vezes.

O solvente era lavado com água.

Após separação das 2 fases o solvente de extracção era filtrado por filtro de papel e sulfato de sódio anidro para retirar todos os vestígios de humidade.

A eliminação do solvente foi feita por corrente de azoto até próximo da secura.

7.2.1.2. Preparação dos ésteres metílicos

Os ésteres metílicos foram obtidos por transesterificação com trifluoreto de boro em metanol ($\text{BF}_3 / \text{MeOH}$).

Uma toma de cerca de 200mg de amostra foi colocada em balão aferido de 50 ml.

Adicionaram-se 2 ml de n-heptano para a dissolução da amostra e 10 ml de solução de KOH 0,2N em metanol como agente hidrolisante.

Levou-se à ebulição, com refluxo, em manta eléctrica, até obtenção de uma só fase. Geralmente o tempo utilizado variava entre 10 e 15 minutos.

Seguia-se a adição de 2 ml de BF_3/MeOH , através do refrigerante. Este produto funcionava como catalisador da transesterificação (BF_3) e dador de grupos metilo (MeOH).

Após um período de ebulição de cerca de 2 minutos retirava-se o aquecimento e deixava-se arrefecer.

Adicionava-se então solução saturada de cloreto de sódio até ao gargalo do balão e aguardava-se a separação da fase orgânica.

Esta era retirada para tubo de vidro contendo sulfato de sódio anidro.

Cada amostra antes de ser injectada sofria a diluição necessária e conveniente para a obtenção de um cromatograma que se aproximasse o mais possível do ideal.

7.2.1.3. Condições de trabalho

Coluna : Tipo - Sílica fundida WCOT (Wall Coated Open Tubular)

Fase estacionária - CP Sil-88 (Chrompack), 100% cianopropilpolisiloxano

Comprimento - 50 m

Diâmetro interno - 0,25 mm

Diâmetro externo - 0,39 mm

Espessura do filme - 0,19 μm

Temperatura - 185°C

A escolha desta temperatura deve-se ao facto de se tratar da temperatura que melhor conjuga a informação desejada com o tempo de análise.

Detector : Ionização de chama (FID)

Temperatura - 250°C

Injector : Splitt/Splittless

Temperatura - 230°C

Gás de arraste : Hélio

Filtros Chrompack destinados a eliminar restos de humidade e de oxigénio.

Fluxo - 0,6 ml/min

Fluxo de Hidrogénio e Ar - optimizados

7.2.1.4. Identificação dos picos cromatográficos

Na identificação dos picos cromatográficos foram utilizados fundamentalmente padrões.

Nos casos em que não foi possível ter padrões, caso dos isómeros geométricos do ácido linoleico, C_{18:2ct} e *tc*, recorreu-se a dados bibliográficos.

No caso dos isómeros geométricos do ácido linolénico, dado o elevado número de isómeros possíveis, e a dificuldade da sua separação, acrescida da inexistência de padrões acessíveis, optou-se por referir o seu conjunto como C_{18:3t}.

Os padrões utilizados, além dos normalmente considerados em análise de óleos e gorduras, foram:

- palmitoelaídato de metilo
- petroselinoato de metilo
- vacenato de metilo
- elaídato de metilo
- linolelaídato de metilo

7.2.1.5. Expressão dos resultados

Os resultados expressam-se em percentagens relativas de cada ácido gordo, calculadas por normalização interna das áreas dos picos cromatográficos, considerando para todos um factor de resposta de 1.

A não utilização de um padrão interno deve-se ao facto de :

- O C₁₇ ser um ácido gordo normalmente presente, embora em pequena quantidade, nas amostras estudadas.
- O C₁₉, não sendo um ácido gordo normalmente presente, elui muito próximo do C_{18:2tt} e numa zona muito rica em picos, especialmente se se trata de um produto parcialmente hidrogenado.
- A utilização de qualquer outro ácido gordo como padrão interno não obedeceria às características desejadas para ter essa designação.

A expressão dos resultados em mg/100mg obtém-se por cálculo, utilizando a fórmula, Dobarganes *et al.*, 1988,

$$\text{AG (mg/100mg)} = \frac{\% \text{ C}_{16} \text{ no produto inicial}}{\% \text{ C}_{16} \text{ no produto aquecido}} \times \% \text{ AG no produto aquecido}$$

Apenas se utiliza esta forma de expressão de resultados quando se estuda a evolução da composição em ácidos gordos de determinado óleo com o tratamento térmico.

A escolha do C₁₆ deveu-se ao facto de ser um ácido gordo saturado, dos mais abundantes e, de acordo com os conhecimentos actuais, não sofrer alteração devida ao tratamento térmico.

Quando se refere no texto a percentagem de AG que sofreu isomerização, no caso dos isómeros *trans*, ou a percentagem de degradação de determinado AG, o cálculo foi feito a partir da seguinte fórmula

$$\frac{\% \text{ inicial de AG} - \% \text{ final de AG}}{\% \text{ inicial de AG}}$$

7.2.1.6. Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da técnica cromatográfica utilizada consistiu em determinar, a partir da mesma amostra, 6 vezes a sua composição em ácidos gordos.

Dada a grande variação composicional das matrizes usadas o estudo da repetibilidade foi feito numa amostra de margarina e numa amostra de óleo vegetal.

Considerando apenas os ácidos gordos com 18 átomos de carbono o estudo da repetibilidade forneceu os valores expressos na tabela 7.1.

Os coeficientes de variação (CV%) obtidos estão de acordo com Christie, 1982.

Segundo este autor são considerados diferentes coeficientes de variação de acordo com a concentração de ácido gordo presente na amostra. Assim :

CV%	Concentração (%)
15	2%
8,5	5%
7	10%
3	50%

Ácidos gordos	$\bar{x} \pm sd$	CV%
C18	13,67±0,085	0,62
C18:1t	6,15±0,089	1,45
C18:1c	18,00±0,575	3,20
C18:2tt	0,02±0,004	27,44
C18:2ct	0,22±0,025	11,38
C18:2tc	0,20±0,020	10,06
C18:2cc	30,87±0,343	1,11
C18:3ccc	3,00±0,026	0,88
C18:3outros	0,74±0,115	15,63

Tabela 7.1. Estudo da repetibilidade da técnica cromatográfica utilizada considerando a matriz margarina.

Apenas o CV% obtido para o C_{18:2tt} está elevado, de acordo com Christie, 1982. No entanto parece ser de salientar a pequena percentagem em que está presente este isómero (0,02%).

Na tabela 7.2. apresentam-se os valores da repetibilidade da técnica cromatográfica obtidos com um óleo vegetal.

7.2.1.7. Limite de detecção

Os limites de detecção descritos para esta técnica, obtidos com padrões de ésteres metílicos, são da ordem de 8ng.

O limite de detecção obtido para a trielaídina foi de 10ng, considerando a totalidade da técnica, desde a extracção da gordura, sua metilação e posterior determinação cromatográfica.

A matriz utilizada para esta determinação foi o fígado de rato.

A extracção dos lípidos totais foi feita com a mistura clorofórmio-metanol 2:1.

Efectuou-se o estudo da linearidade de resposta da trielaídina (triéster do ácido eláídico) nas concentrações compreendidas entre 10 e 1000µg/ml. A figura 7.1. representa a curva obtida com as concentrações de 10, 75, 125 e 250µg/ml.

O factor de recuperação determinado na concentração de 125µg/ml foi de 81,3% e na concentração de 10µg/ml foi de 99,8%.

Ácidos gordos	$\bar{x}\pm sd$	CV%
C14	0,07±0,004	5,70
C15	0,02±0	0
C16	6,97±0,076	1,10
C16:1t	0,01±0,006	63,25
C16:1c	0,09±0,008	8,21
C17	0,06±0,010	18,23
C17:1	0,03±0,008	23,78
C18	4,85±0,056	1,17
C18:1t	0,02±0,016	87,39
C18:1c	22,70±0,097	0,43
C18:2tt	0,01±0,009	89,44
C18:2ct	0,13±0,047	36,69
C18:2tc	0,21±0,025	11,92
C18:2cc	62,23±0,128	0,21
C20	0,33±0,008	2,57
C18:3outros	0,28±0,074	26,44
C18:3ccc	0,96±0,047	4,89
C21	0,06±0,005	8,15
C22	0,72±0,018	2,42
C24	0,22±0,013	6,00

Tabela 7.2. Estudo da repetibilidade da técnica cromatográfica utilizando como matriz um óleo vegetal (n=6).

7.3. TRATAMENTO DOS DADOS

Os resultados expressam-se na forma de média e desvio padrão ($\bar{x}\pm sd$) tendo sido utilizado o programa Statview 2.0., Macintosh.

Para verificação de diferenças significativas entre os valores obtidos (nas várias etapas de aquecimento e/ou nos grupos ensaio e controlo) utilizou-se o programa Anova.

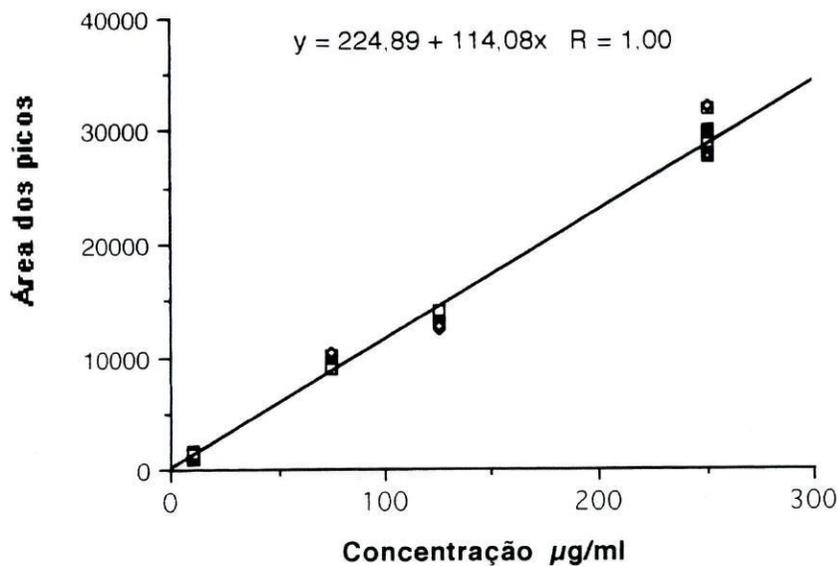


Figura 7.1. Linearidade de resposta da trielaídina entre as concentrações de 10 e 250µg/ml

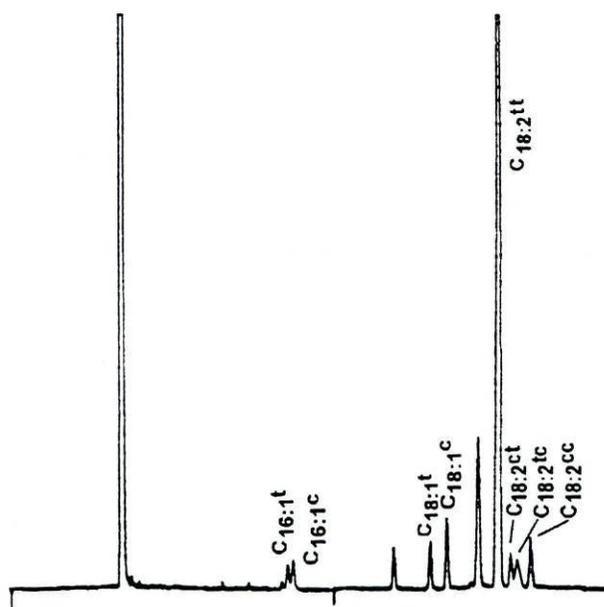


Figura 7.2. Cromatograma de padrões obtido nas condições descritas

CAPÍTULO 8

ALTERAÇÃO DA QUALIDADE DOS LÍPIDOS ALIMENTARES. EFEITO DO CALOR.

Inicia-se no capítulo 8 a apresentação e discussão dos resultados.

Aborda-se neste capítulo a evolução da qualidade dos óleos estudados, através da informação dada pela resistência à oxidação (RO), compostos polares (CP), índices de peróxido, *p*-anisidina e Totox, cor e acidez.

Efectuaram-se determinações de vários parâmetros analíticos uma vez que ainda não é consensual o método ou métodos que melhor e mais completa informação fornecem acerca das alterações sofridas pelos óleos e gorduras quando do seu tratamento térmico, Sánchez-Muniz *et al.*, 1989.

O tipo de tratamento térmico efectuado dependeu do tipo de alimento em estudo e teve por objectivo manter as condições de aquecimento o mais próximo possível da realidade.

Iniciou-se a avaliação da qualidade de lípidos alimentares, por efeito de calor, com o estudo de padrões, ácido oleico, ácido eláidico, trioleína, trielaídina, trilinoleína e trilinolelaídina.

Seguiu-se o estudo da evolução da qualidade de óleos vegetais aquecidos em estufa a temperaturas normalmente utilizadas em práticas culinárias.

Finalmente avaliou-se a degradação de qualidade que ocorre nos banhos de fritura quando utilizados a fritar diferentes tipos de alimentos, batatas, rissóis de carne e filetes de polvo.

8.1. ESTUDO COMPARATIVO DA ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS E DE TRIÉSTERES

No estudo de avaliação da estabilidade à oxidação de ácidos gordos e de triésteres compararam-se o comportamento do ácido oleico ($C_{18:19c}$) e do ácido eláidico ($C_{18:19t}$), seu isómero geométrico, antes e após aquecimento, nas mesmas condições.

Compararam-se também os comportamentos dos triésteres correspondentes a cada um deles, trioleína e trielaídina.

Para avaliar a instabilidade provocada pela presença de mais de uma dupla ligação incluiu-se no estudo a trilinoleína, triéster do ácido linoleico ($C_{18:29c/2c}$) e a trilinolelaídina, triéster do ácido linolelaídico ($C_{18:29t/2t}$).

Na tabela 8.1.1. apresentam-se os resultados obtidos, com as substâncias acima citadas, nas determinações das absorvências no ultravioleta, da composição em ácidos gordos e da resistência à oxidação.

As figuras 8.1.1. e 8.1.2. contêm os cromatogramas (CGL) obtidos respectivamente com o ácido oleico e a trioleína antes e após tratamento térmico.

As figuras 8.1.3. e 8.1.4. incluem os cromatogramas (CGL) obtidos respectivamente com o ácido eláidico e a trielaídina, antes e após tratamento térmico.

As figuras 8.1.5. a 8.1.10. apresentam os espectros de RMN de 1H ou de ^{13}C do ácido oleico, da trioleína, do ácido eláidico e da trielaídina, antes e após tratamento térmico.

A figura 8.1.11. contém os espectros de RMN de 1H da trilinoleína e da trilinolelaídina.

Na figura 8.1.12. apresentam-se as curvas obtidas, com os ácidos oleico e eláidico, os triésteres trioleína e trilinolelaídina e um óleo vegetal, na determinação da RO.

Relativamente à **resistência à oxidação** verificou-se ser a trilinolelaídina e a trielaídina, trigliceridos constituídos por ácidos gordos na configuração *trans*, os compostos que apresentam maior estabilidade, pois ao fim de 24 horas de um tratamento térmico a $110^\circ C$ em condições de arejamento forçado (fluxo de 20l/h) não se tinha verificado o incremento brusco do valor da condutividade apresentado pela solução aquosa onde mergulha o eléctrodo, característico do fim do ensaio. Por este motivo não foi possível quantificar este parâmetro.

Ensaio efectuado Padrões utilizados	Absorvências no Ultravioleta				CGL A.G.%	Resistência à oxidação
	E1%1cm 232nm	E1%1cm 270nm	Relação 232/270	E1%1cm máximo		
Ácido Oleico	0,35	0,02	17,5	208nm	99,2±0,13	0,65h
Ácido Oleico aquecido (1)	17,11	2,95	5,8	200nm	34,4±0,18	
Trioleína	0,90	0,02	45	217nm	99,3±0,13	2,6h
Trioleína aquecida (2)	14,29	1,78	8	209nm	86,7±2,04	
Ácido elaidico	0,34	0,02	17	210nm	100±0	1,5h
Ácido elaidico aquecido (1)	13,20	1,26	10,5	201nm	66,5±1,46	
Trielaídina	0,99	0,03	33	211nm	99,6±0,33	*
Trielaídina aquecida (2)	5,45	0,36	15,1	201nm	99,0±0,06	
Trilinoleína	0,29	0,12	2,4	207nm	98,8±0,23	0,8h
Trilinoleína aquecida (2)	2,19	0,82	2,7	198nm	80,5±0,90	
Trilinolelaídina	9,23	0,07	132	212nm	95,52±0,26	*
Trilinolelaídina aquecida (2)	64,04	10	6,4	199nm	92,16±0,97	

Tabela 8.1.1. Resultados obtidos, no estudo comparativo de ácidos gordos e de triésteres, nas determinações da absorvências no ultravioleta, composição em ácidos gordos e resistência à oxidação.

(1) Aquecimento a 110°C/7h com arejamento forçado a um fluxo de 20l/h.

(2) Aquecimento a 110°C/24h com arejamento forçado a um fluxo de 20l/h.

(*) Curvas de inflexão diferentes do habitual pelo que não se determinou a resistência à oxidação. De acordo com as instruções só se deve interromper a operação quando a condutividade medida pelo aparelho aumenta bruscamente e atinge o máximo (300µS/cm)

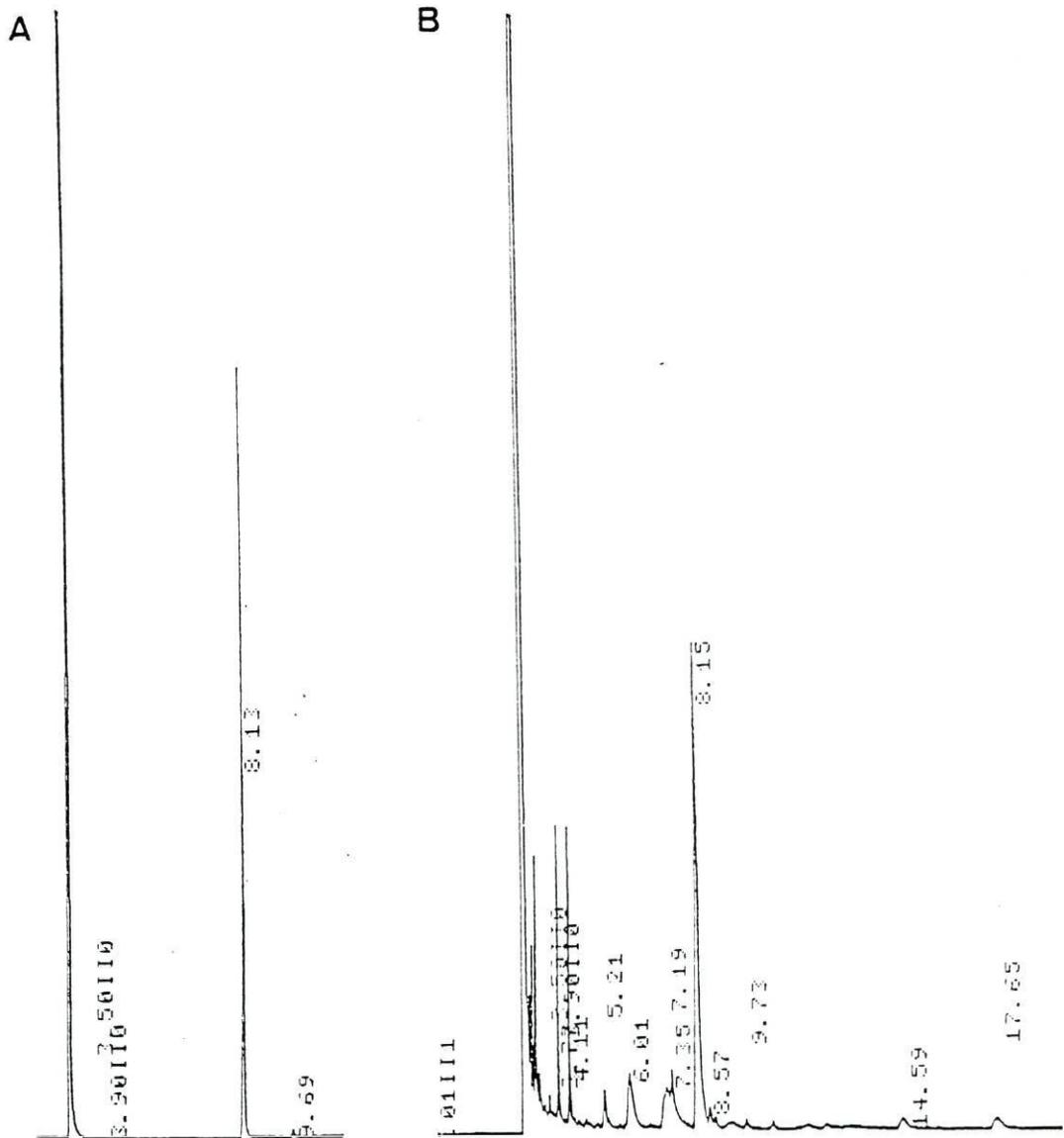


Figura 8.1.1. Cromatogramas de ácido oleico (A) antes e (B) após aquecimento a 110°C/7h

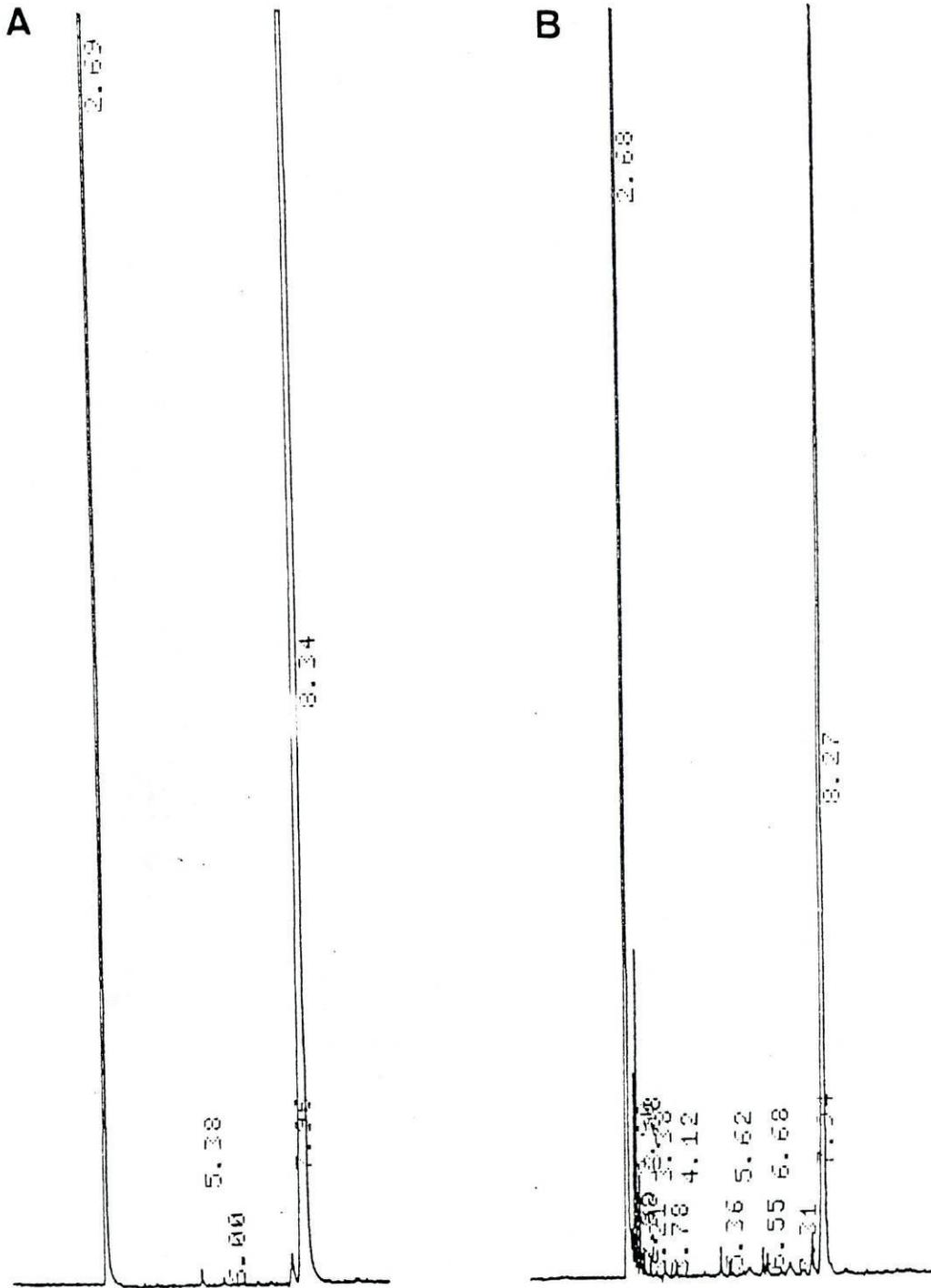


Figura 8.1.2. Cromatogramas da trioleína (A) antes e (B) após aquecimento a 110°C/24h

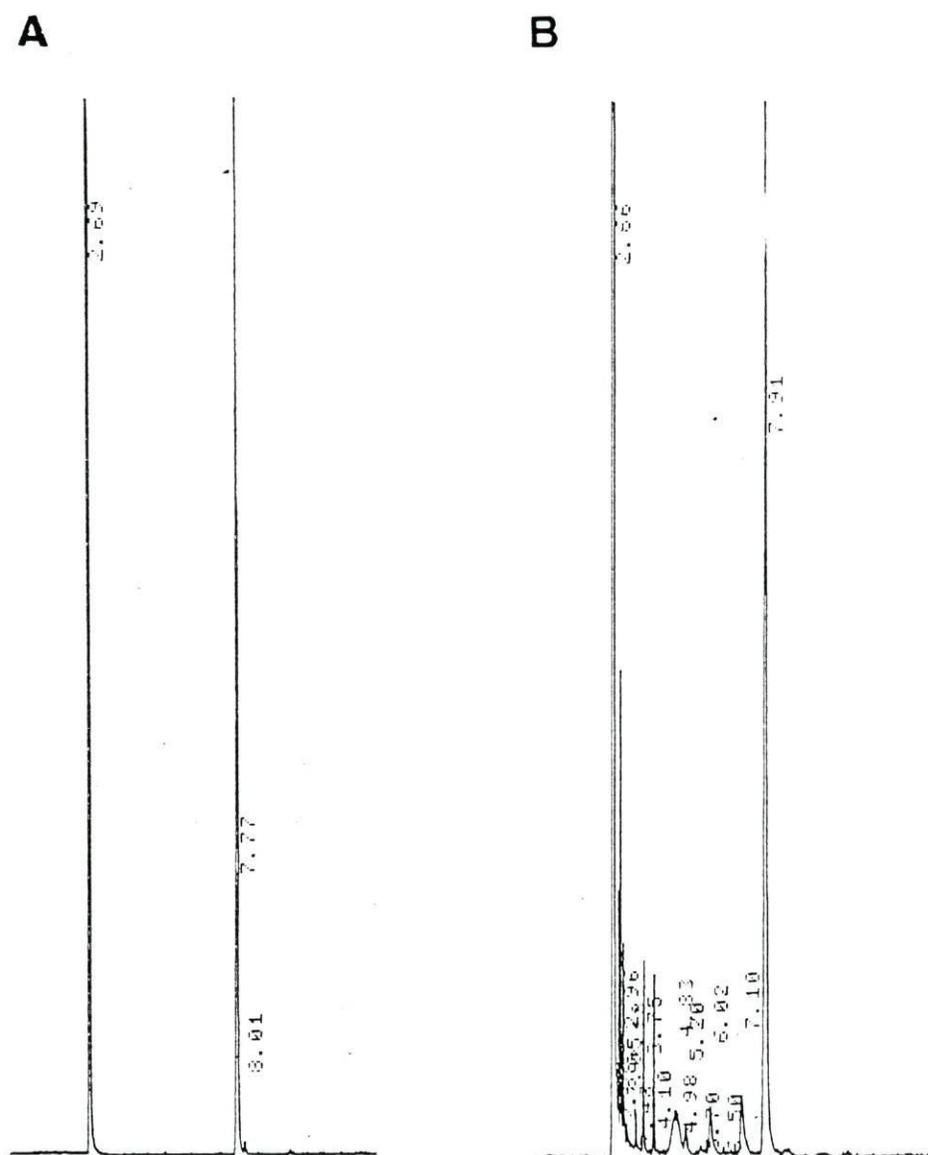
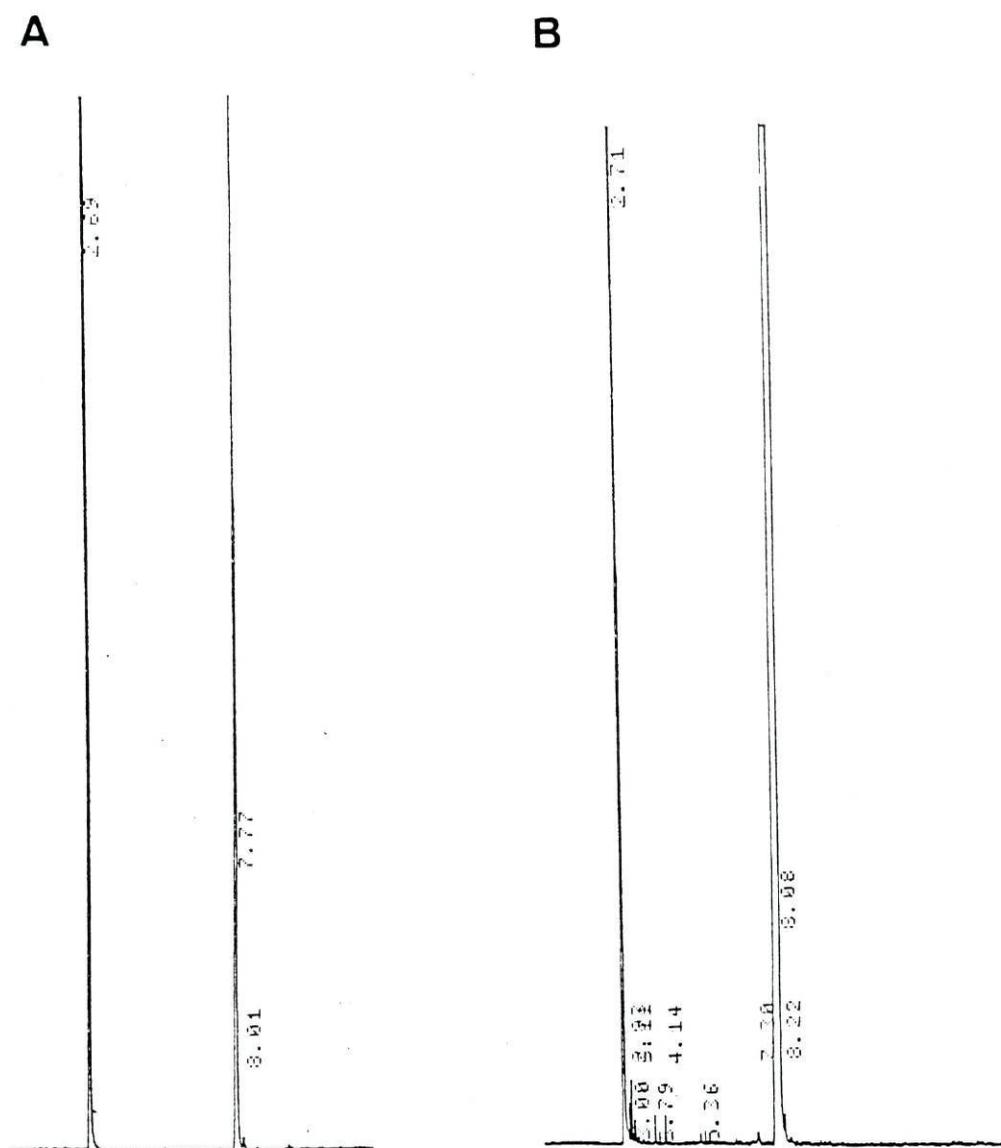


Figura 8.1.3. Cromatogramas do ácido eláidico (A) antes e (B) após aquecimento a 110°C/7h



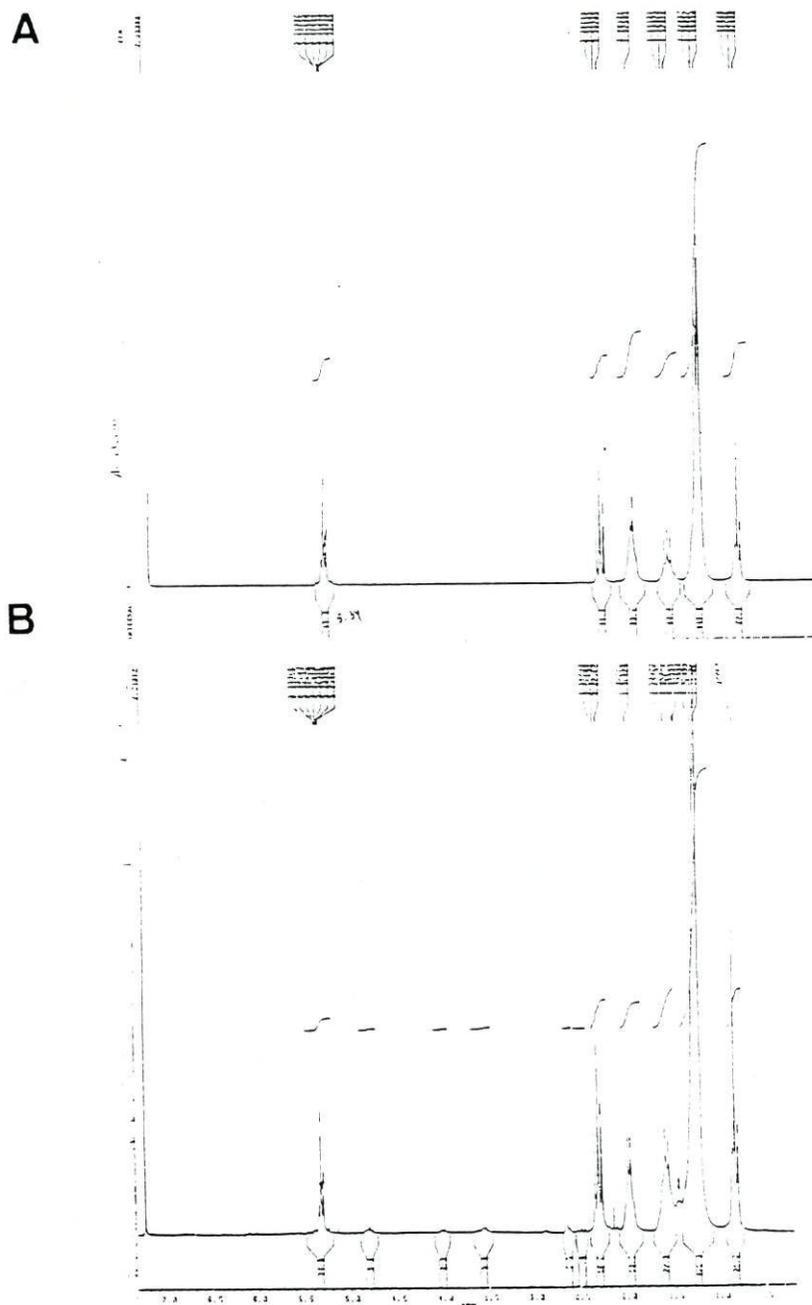


Figura 8.1.5. Espectros de RMN de ^1H (200MHz, CDCl_3) do ácido oleico antes (A) e após (B) aquecimento a 110°C/7h

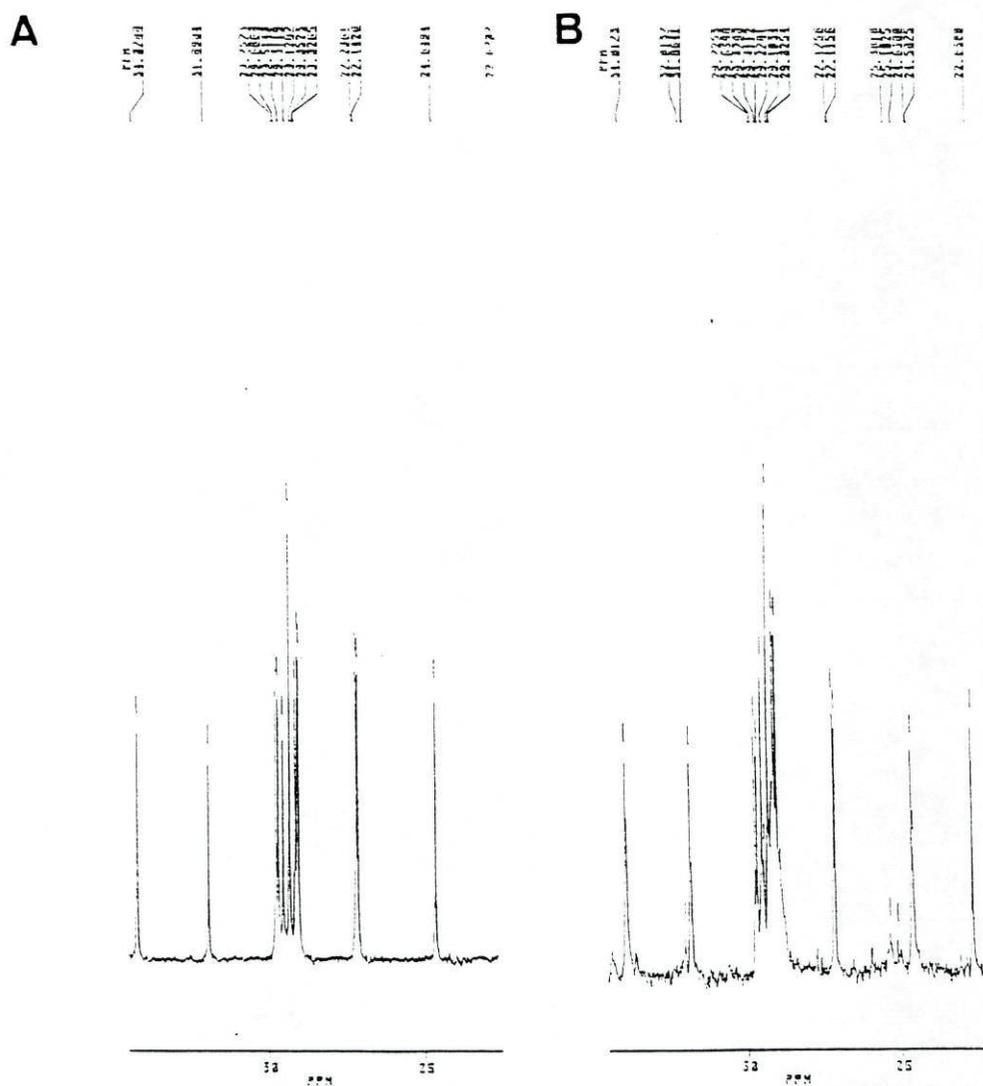


Figura 8.1.6. Espectros de RMN de ^{13}C (55,3MHz, CDCl_3) do ácido oleico, antes (A) e após (B) aquecimento a $110^\circ\text{C}/7\text{h}$

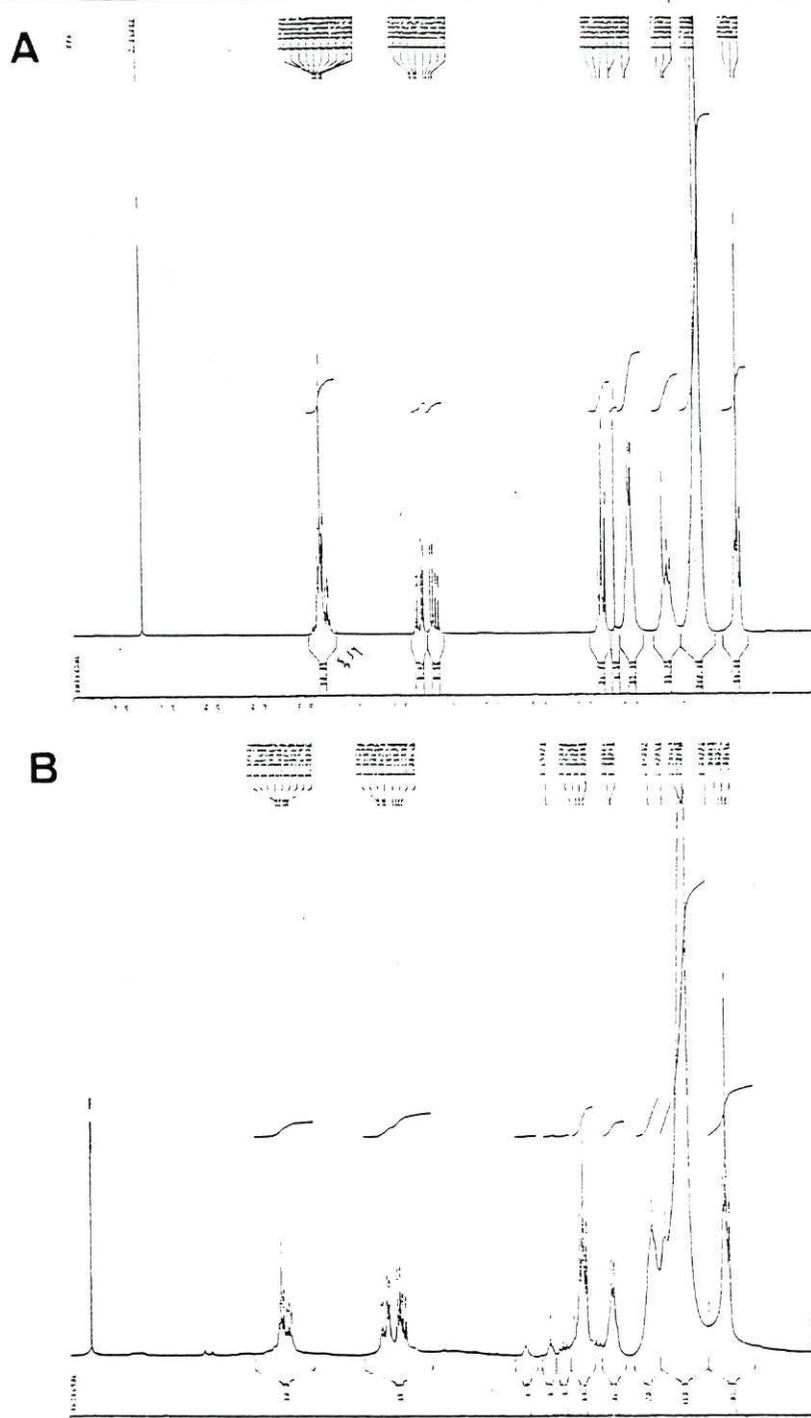


Figura 8.1.7. Espectros de RMN de ^1H (200MHz, CDCl_3) da trioleína antes (A) e após (B) aquecimento a $110^\circ\text{C}/24\text{h}$

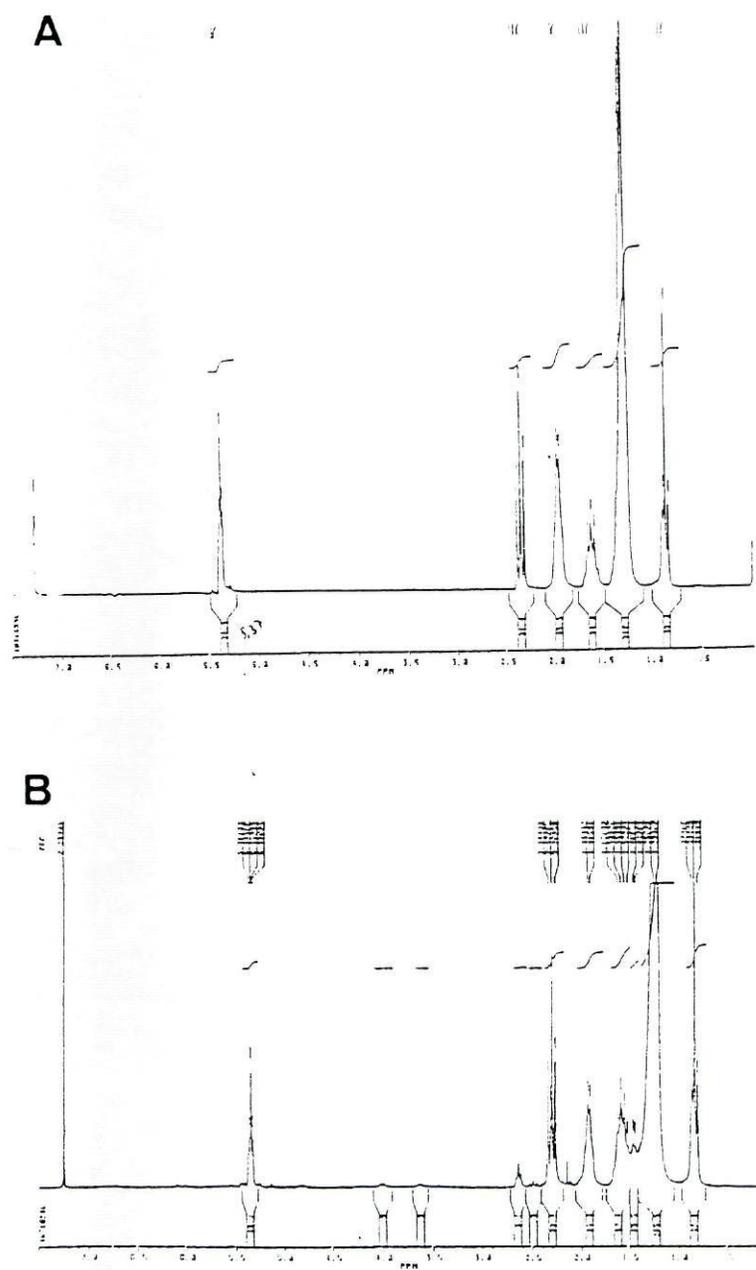
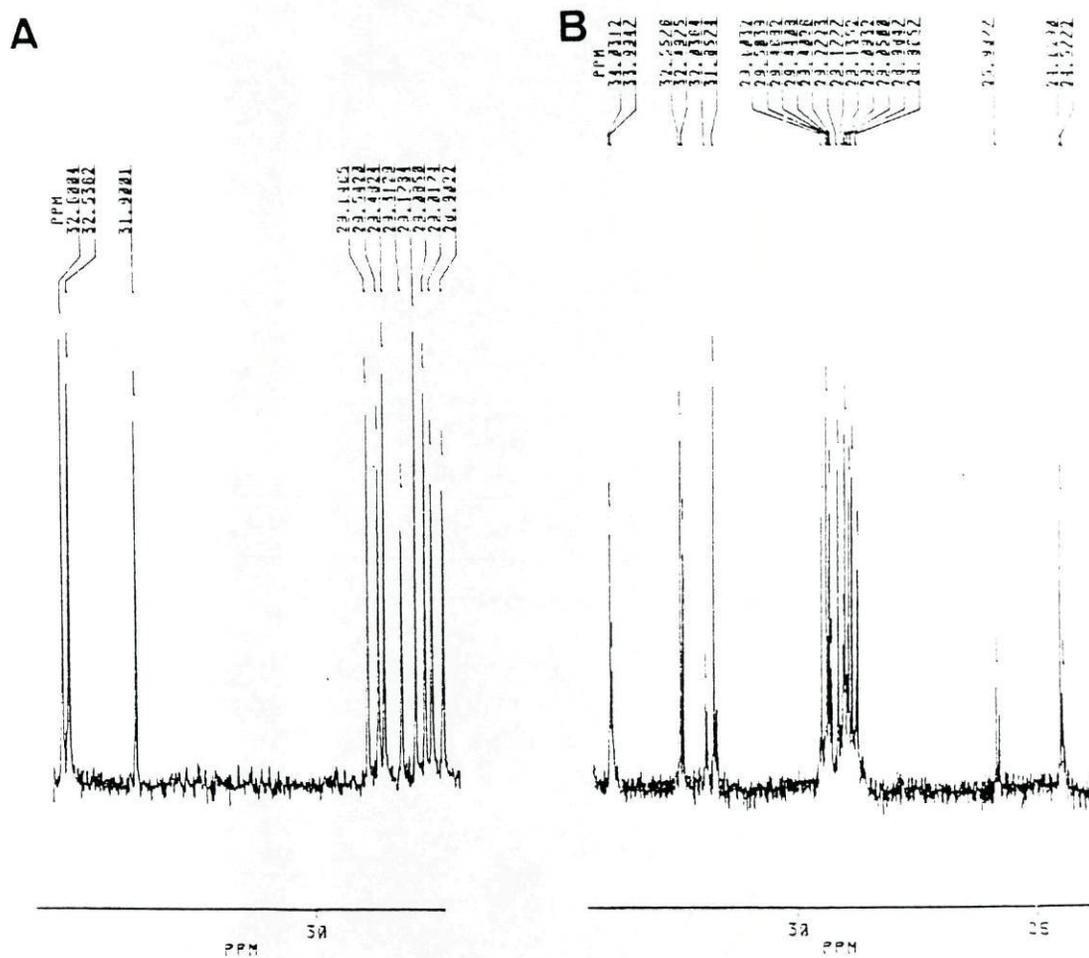


Figura 8.1.8. Espectros de RMN de ^1H (200MHz, CDCl_3) do ácido eláidico antes (A) e após (B) aquecimento a $110^\circ\text{C}/7\text{h}$



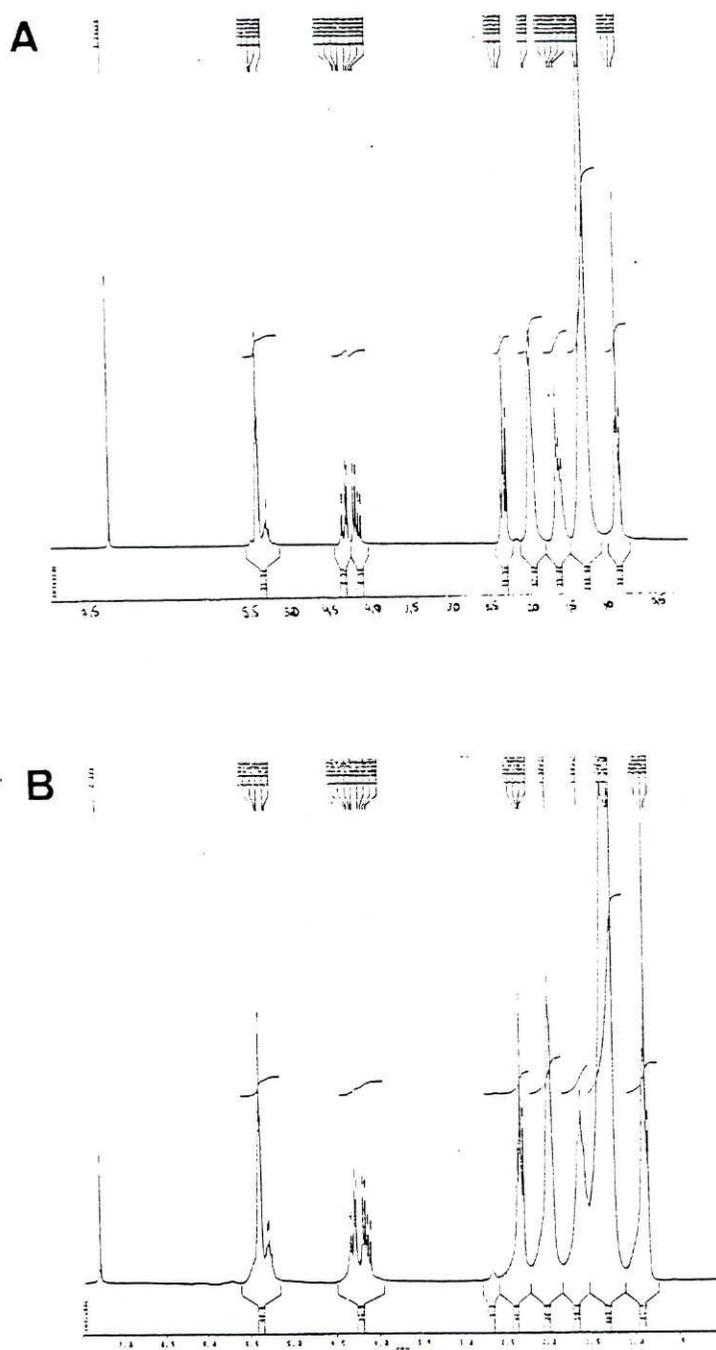


Figura 8.1.10. Espectros de RMN de ^1H (200MHz, CDCl_3) da trielaidina antes (A) e após (B) aquecimento a $110^\circ\text{C}/24\text{h}$

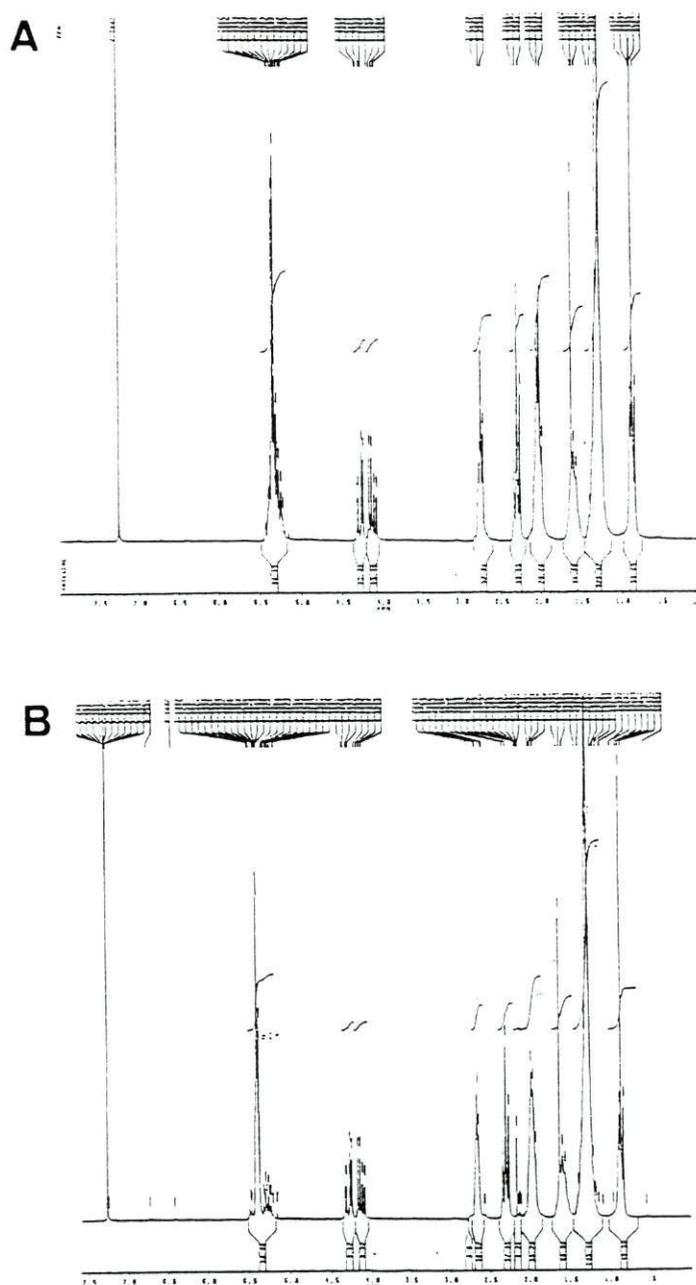


Figura 8.1.11. Espectros de RMN de ^1H (200MHz, CDCl_3) da trilinoeína (A) e da trilinoolelaídina (B)

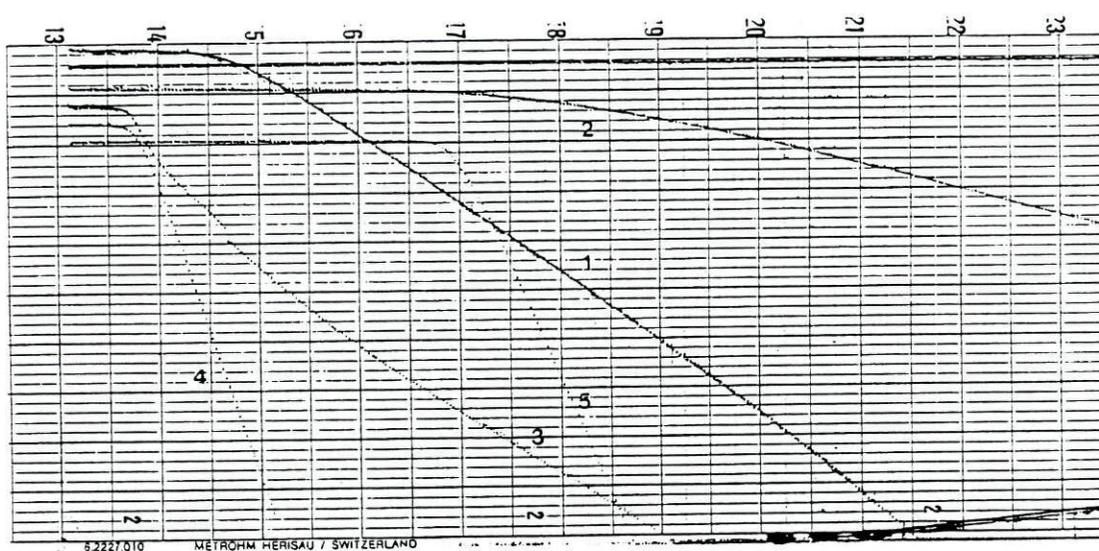


Figura 8.1.12. Gráficos obtidos na determinação da RO

- (1) $C_{18:1^c}$
- (2) $C_{18:1^t}$
- (3) $C_{18:2^{tt}}$
- (4) $C_{18:2^{cc}}$
- (5) Óleo de girassol

Este facto parece justificar a utilização de gorduras hidrogenadas na preparação de alimentos que exigem temperaturas elevadas. Por exemplo, o uso em fritura de gorduras hidrogenadas permite a sua utilização durante mais tempo devido à sua maior resistência à oxidação, consequência do alto teor de isómeros *trans* que contêm.

Verifica-se também que os ácidos gordos são menos estáveis que os correspondentes triésteres, o que não é de admirar já que os radicais carboxilo são prooxidantes, Tatum *et al.*, 1992. Este efeito verifica-se com qualquer tipo de ácido gordo livre.

Comparativamente o ácido oleico apresenta uma resistência à oxidação 2,3 vezes inferior à do ácido eláidico, seu isómero geométrico.

A trioleína, triéster do ácido oleico, apresenta uma estabilidade à oxidação 4 vezes superior à apresentada pelo ácido livre.

A trilinoleína, triéster do ácido linoleico apresenta um valor de 0,8 h relativamente a este parâmetro, valor 3,3 vezes inferior ao apresentado pela trioleína. O facto de ser um triéster mais insaturado reduz a resistência à oxidação.

Relativamente a um óleo vegetal (estabilidade à oxidação variável entre 3,8 e 5h) os triésteres atrás referidos apresentam valores de resistência à oxidação muito inferiores, o que nos leva a pensar na existência de outros factores que interferem também activamente na maior ou menor capacidade de oxidação dos óleos, além da sua composição em ácidos gordos.

Relativamente às alterações estruturais dos compostos, ocorridas por oxidação, durante o tratamento térmico e determinadas por cromatografia em fase gasosa de coluna capilar CP-Sil 88 verificou-se :

- Dos ácidos estudados, oleico e eláidico, o que sofreu maior degradação foi, como seria de prever, o ácido oleico. Após aquecimento apenas 34,4% do ácido oleico se manteve inalterado, enquanto que com o ácido eláidico 66,5% se mantiveram e a alteração ocorreu em 33,5%.

- Dos triésteres, trioleína, trielaídina, trilinoleína e trilinolelaídina, o que mostrou menor grau de alteração foi a trielaídina (0,6%) seguida da trilinolelaídina (3,5%). O triéster que se mostrou mais instável, nas condições em que se efectuou o estudo descrito, foi a trilinoleína (18,5%).

Pela determinação das absorvências no Ultravioleta, quer a 232nm quer a 270nm, parece evidente a maior instabilidade do ácido oleico, relativamente a todas as outras amostras estudadas. É o composto que apresenta maior valor da relação $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ após aquecimento / $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ antes do tratamento térmico, quer a 232nm quer a 270nm.

A trilinoleína foi o triéster que melhor se comportou relativamente a este parâmetro.

A alteração sofrida pelas amostras é também visível nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , no entanto de muito maior dificuldade de interpretação e quantificação, relativamente à cromatografia em fase gasosa de coluna capilar.

Em conclusão, confirma-se que a resistência à oxidação está estreitamente ligada ao grau de insaturação do ácido gordo, à sua configuração geométrica e à forma em que se encontra, livre ou esterificado.

8.2. ÓLEOS VEGETAIS AQUECIDOS EM ESTUFA

Os óleos vegetais têm variadíssimas finalidades de aplicação, entre elas, são usados na preparação de alimentos com intervenção do calor, como por exemplo a fritura.

As temperaturas utilizadas na fritura variam com o tipo de alimento em questão mas de acordo com dados bibliográficos e conhecimentos adquiridos ao longo do trabalho que se descreve, essas temperaturas, embora inicialmente superiores, mantêm-se durante a maior parte do tempo na ordem dos 140-160°C.

Procedeu-se ao estudo comparativo da alteração sofrida por 5 tipos de óleos vegetais, óleo de milho, óleo de girassol, óleo de soja, óleo alimentar e azeite, com o aquecimento contínuo em estufa.

A temperatura utilizada foi 145±5°C, temperatura a que ocorre a fritura semi-industrial de batatas. Este valor foi escolhido de acordo com trabalhos efectuados e também de acordo com dados bibliográficos, Cuesta *et al.*, 1993, Sánchez-Muniz *et al.*, 1993.

Durante o processo de fritura o óleo está submetido a vários factores que interferem negativamente na sua qualidade, contudo este estudo visou as alterações físico-químicas que ocorrem durante o aquecimento contínuo de um óleo, cujo factor determinante é o tipo de tratamento térmico a que este está sujeito.

Sabendo que óleos e gorduras de diferentes fontes se deterioram a diferentes velocidades, que o mesmo tipo de óleo sofre variação de lote para lote, reflectindo não só a sua origem, como também as condições climáticas de desenvolvimento, os tratamentos após colheita, extracção, refinação e armazenamento, os resultados deste estudo não poderão ser conclusivos e abrangentes de todos os óleos.

As tabelas 8.2.1., 8.2.2. e as figuras 8.2.1. a 8.2.6. contêm os resultados dos parâmetros resistência à oxidação (RO), compostos polares (CP), índice de peróxido (IP), índice de *p*-anisidina (IpA), índice de Totox (IT) e Acidez, referentes às 5 amostras estudadas, nas diversas fases de aquecimento.

As tabelas 8.2.3. e 8.2.4. contêm os resultados dos parâmetros cor e absorvências no ultravioleta, referentes às 5 amostras estudadas, nas diversas fases de aquecimento.

Amostras	RO (h)	CP (%)	IP	IpA	IT	Acidez
Amost. 1						
0	4,7	0	6±0,2	14,6±0,43	25,9±0,85	0,12±0,014
1	5,3	0	3±0,2	18,9±0,30	25,8±0,71	0,13±0
3	5,3	3,3	3±0,1	24,3±0,30	30,5±0,50	0,11±0,007
5	5,3	3,4	2±0,1	28,9±0,90	33,5±1,06	0,12±0,007
10	5,3	3,5	2±0,1	36,4±0,40	40,8±0,14	0,11±0,014
24	4,3	4,2	3±0,5	51,6±1,02	57,6±2,05	0,14±0,014
48	2,9	6	4±0	85,3±0,33	92,3±0,28	0,17±0,007
72	1,8	8,2	6±0,3	125,0±0,69	136,6±1,27	0,18±0,014
96	1,8	13,7	15±0,8	169,4±0,55	199,3±2,12	0,27±0
Amost. 2						
0	3	0	6±0,1	4,7±0,25	16,6±0,42	0,13±0,007
1	2,7	2,8	6±0,1	13,5±1,06	26,4±1,20	0,14±0,007
3	2,9	3,2	4±0	22,8±0,05	31,7±0,07	0,16±0,007
5	2,4	3,6	4±0,1	30,1±0,24	38,1±0,57	0,13±0,007
10	2,7	4	4±0	41,7±0,10	49,2±0,07	0,14±0
24	1,9	4,8	6±0,1	61,8±0,11	73,9±0,28	0,15±0
48	1,3	7,1	5±0,2	98,3±0,29	109,2±0,71	0,17±0,007
72	0,9	12,1	11±0,1	160,3±1,17	182,7±1,06	0,24±0
96	—	22	40±1,0	209,1±0,35	289,9±2,33	0,41±0

Tabela 8.2.1. Resultados da resistência à oxidação (RO), compostos polares (CP), índices de peróxido (IP), de *p*-anisidina (IpA) e Totox (IT) e da acidez de 2 amostras estudadas, antes (0) e após 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas de aquecimento.

Perante as amostras estudadas e os parâmetros avaliados foi possível verificar :

Resistência à oxidação

O comportamento apresentado pela amostra 5, o azeite, era significativamente diferente de todas as outras. Como possível explicação cita-se a diferente forma de processamento sofrida já que se trata de um azeite virgem extra. Contudo a partir das 48 horas de aquecimento apresentava já um comportamento semelhante às restantes amostras.

As amostras 2, 3 e 4 não apresentavam diferenças significativas entre si.

A partir das 72 horas de aquecimento a amostra β era a que apresentava valores inferiores. Às 96 horas de aquecimento esta amostra não apresentava período de indução e conseqüentemente tinha uma resistência à oxidação nula.

Amostras	RO (h)	CP (%)	IP	IpA	IT	Acidez
Amost. 3						
0	4,1	0	6±0,1	2,1±0,10	14,0±0,07	0,08±0
1	4,4	2,7	4±0,2	10,5±0,05	18,7±0,35	0,11±0,007
3	4,5	3	3±0,2	18,0±0,30	24,3±0,14	0,11±0,014
5	4,3	3,4	3±0,1	23,2±0,29	28,7±0,42	0,10±0
10	4,1	3,8	2±0,3	31,6±0,35	35,4±0,92	0,14±0,007
24	3,5	4,3	4±0,1	57,0±0,32	64,1±0,50	0,13±0
48	2,8	6,2	5±0,3	103,5±0,15	113,4±0,78	0,12±0
72	1,6	9,2	8±0,1	122,8±0,16	137,9±0,28	0,18±0,007
96	1,4	14,4	15±0,1	165,7±0,73	195,8±0,57	0,28±0,021
Amost. 4						
0	3,6	0	4±0,3	5,0±0,24	12,3±0,78	0,12±0,007
1	3,3	3,2	7±1,1	10,7±0,25	24,3±1,98	0,14±0
3	3,3	3,5	6±0,1	19,8±0,29	32,4±0	0,13±0,021
5	3,3	3,4	5±0,1	27,8±0,55	38,5±0,64	0,12±0
10	3,7	3,8	3±0,2	38,5±0,96	44,4±1,41	0,12±0
24	3,6	4,1	3±0,2	58,4±0,15	64,1±0,57	0,14±0,014
48	2,7	6,7	5±0,1	86,4±0,13	97,0±0,07	0,15±0,007
72	1,6	9,1	7±0,5	120,2±0,42	134,9±0,57	0,18±0,007
96	0,9	14	18±0,4	158,1±0,33	194,0±1,20	0,22±0
Amost. 5						
0	8,8	0	20±0,7	4,0±0,26	44,6±1,13	0,76±0,021
1	10,5	3	13±0,3	12,1±1,34	38,7±0,71	0,81±0,021
3	11,3	3,3	10±0,4	13,8±0,10	33,7±0,78	0,78±0,014
5	8,5	3,3	7±0,3	17,3±1,10	31,3±1,63	0,78±0,007
10	9,8	3,6	6±0,1	18,7±0,04	31,5±0,21	0,81±0,007
24	8,8	4	7±0,1	24,6±0,21	39,2±0,07	0,86±0,014
48	3,2	5,3	9±0,2	31,1±0,19	50,1±0,21	0,81±0,007
72	1,1	7,5	12±0,4	43,8±0,26	67,9±0,99	0,93±0,021
96	1,1	11,9	15±0,8	66,1±1,78	96,1±0,14	0,91±0,014

Tabela 8.2.2. Resultados da resistência à oxidação (RO), compostos polares (CP), índices de peróxido (IP), de *p*-anisidina (IpA) e Totox (IT) e da acidez de 3 amostras estudadas, antes (0) e após 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas de aquecimento.

Este comportamento poderá ser explicado pelo valor inicial apresentado pela amostra, já que óleos de girassol apresentam normalmente valores deste parâmetro superiores a 4,5h.

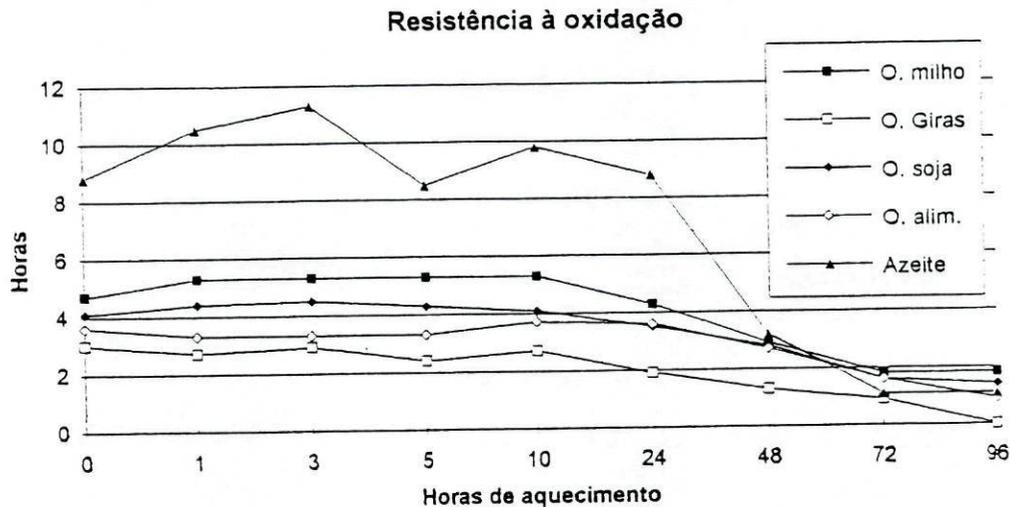


Figura 8.2.1. Evolução dos valores de resistência à oxidação apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

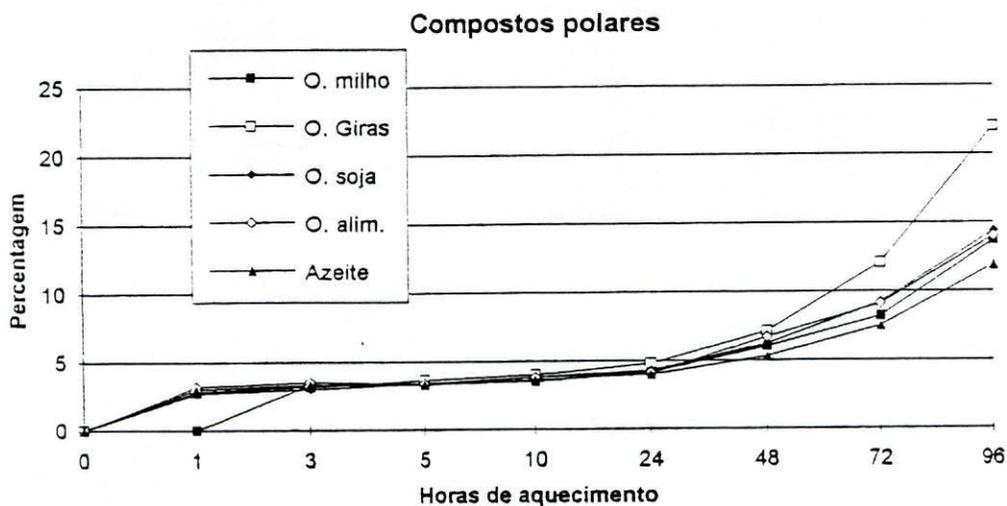


Figura 8.2.2. Evolução dos valores de compostos polares apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

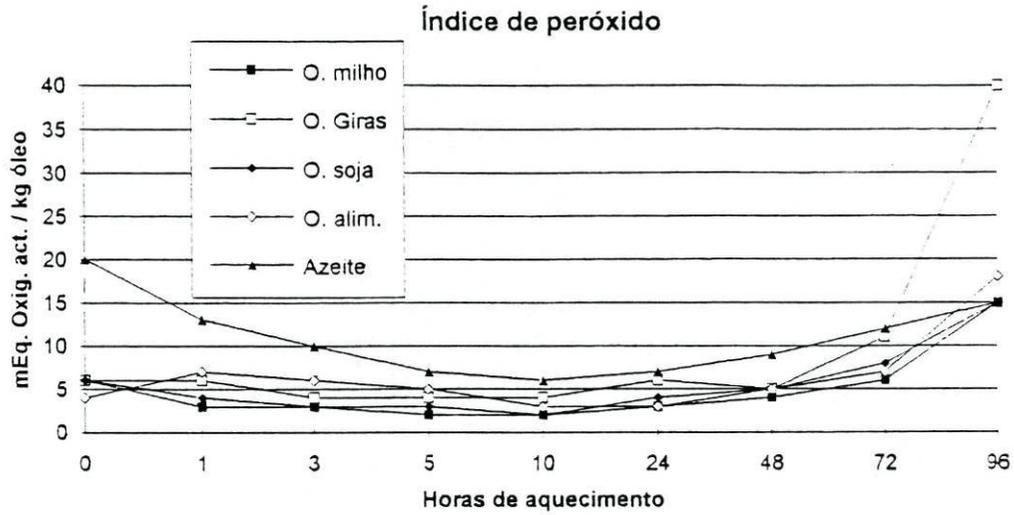


Figura 8.2.3. Evolução dos valores de índice de peróxido apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

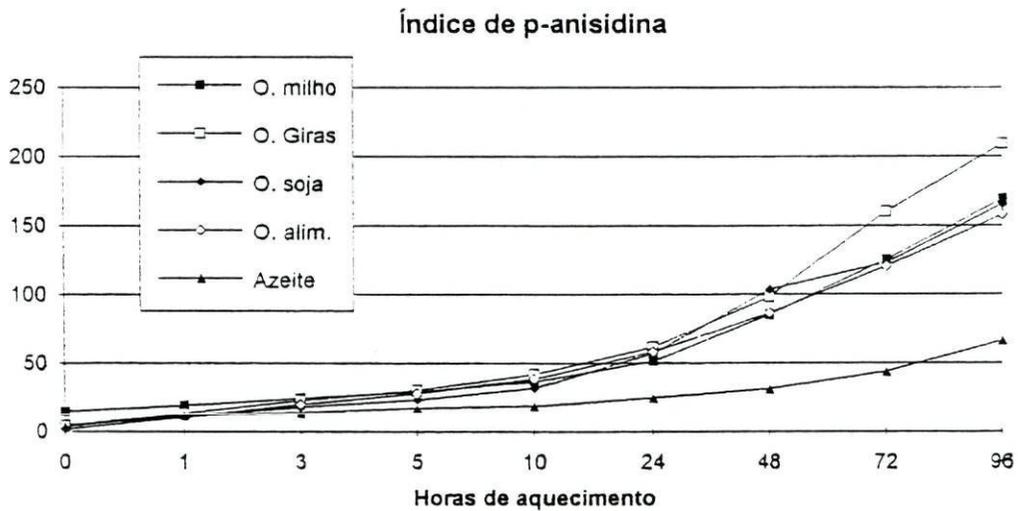


Figura 8.2.4. Evolução dos valores de índice de *p*-anisidina apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

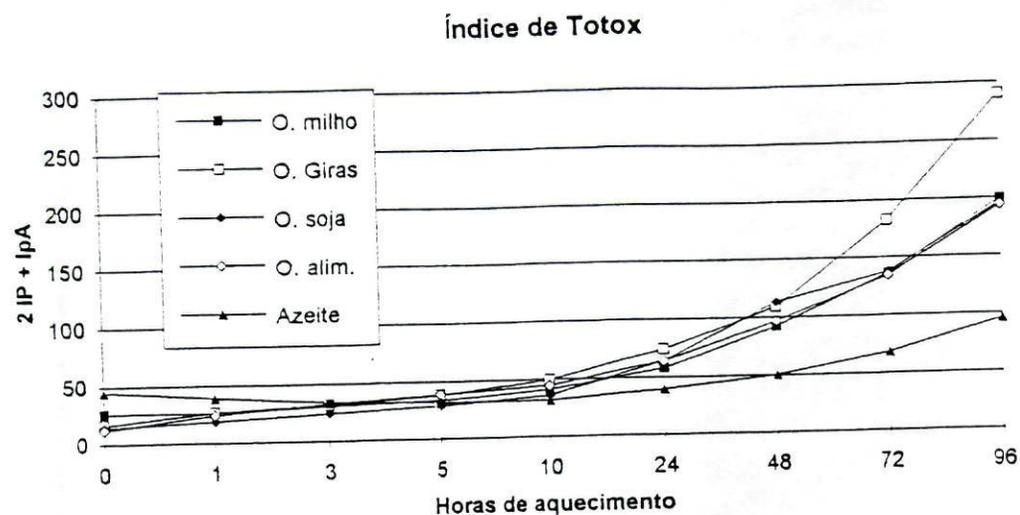


Figura 8.2.5. Evolução dos valores de índice de Totox apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

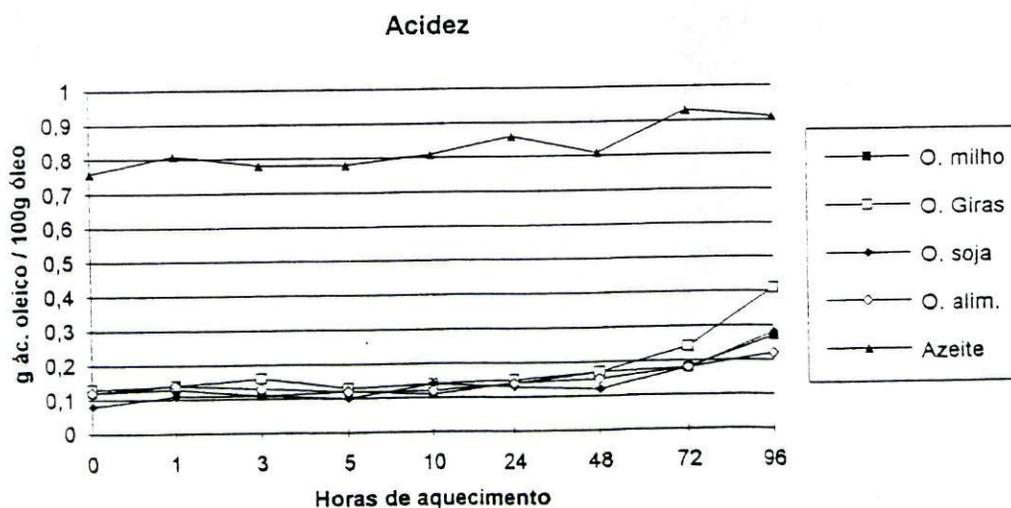


Figura 8.2.6. Evolução dos valores de acidez apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas.

Na fase final de aquecimento a amostra 1, óleo de milho, era a que apresentava maiores valores de resistência à oxidação, o que pode ser explicado pela presença de ubiquinona, tocoferóis e ácido ferúlico esterificado, responsáveis pela excelente estabilidade apresentada, White, 1992.

Compostos polares

Por comparação das amostras entre si, relativamente a este parâmetro, verificou-se diferirem significativamente as amostras 1 e 2 e as amostras 2 e 5.

A apreciação individual permitiu verificar que a amostra 1 não sofreu alteração ao fim de 1 hora de aquecimento, tendo as restantes sofrido deterioração semelhante (valores na ordem de 3%).

Às 96 horas de aquecimento verificou-se que a amostra 2, óleo de girassol, era a mais alterada, com teores próximos do limite máximo admitido, 22% de compostos polares para um máximo admitido de 25%.

As restantes amostras apresentavam teores semelhantes e que variavam entre 11,9 para o azeite e 14,4 para o óleo de soja.

Andrikopoulos *et al.*, 1989, referiam que a 180°C 20 e 30 horas de aquecimento contínuo, respectivamente de azeite virgem e óleo de girassol, são suficientes para estes produtos atingirem 27% de compostos polares.

A discrepância de resultados verificada deve-se à diferente temperatura usada nos ensaios e que pelos resultados apresentados é significativa. O incremento de 30°C na temperatura reduz o tempo de aquecimento para cerca de 1/3 no caso do óleo de girassol e muito mais drasticamente no caso do azeite. Nas condições de ensaio usadas, ao fim de 96 horas de aquecimento, o azeite apenas apresentava 11,9% de compostos polares e de acordo com os autores anteriormente referidos a 180°C bastavam 20 horas de aquecimento para atingir os 27% de compostos polares.

Índices de peróxido (IP), *p*-anisidina (IpA) e Totox (IT)

Para avaliar o ranço oxidativo desenvolvido nas amostras executaram-se as determinações do IP, IpA e IT.

O teste do ácido tiobarbitúrico (TBA) é também um método empírico frequentemente usado na detecção da oxidação lipídica. Mas devido à sua difícil aplicação em óleos aquecidos, Guillen-Sans *et al.*, 1993, não foi utilizado.

Os peróxidos presentes num óleo são intermediários transitórios que se decompõem em vários compostos carbonílicos.

Esta decomposição é acelerada pelo aumento de temperatura; se o aquecimento se verificar na ausência de ar ou oxigénio, o valor de IP pode até diminuir. Este facto verificou-se com as amostras ensaiadas, pois nas fases intermédias de aquecimento o

valor de IP era inferior ao valor inicial e só nas fases finais de aquecimento se verificou um incremento nos valores deste parâmetro.

Pelo referido, pode acontecer que óleos rançados e com períodos de indução reduzidos apresentem valores de IP baixos.

Apreciando o comportamento evidenciado pelas amostras ensaiadas, relativamente a estes 3 parâmetros, podemos referir :

Relativamente ao IP

Todas as amostras, à excepção da 1, diferiam significativamente do óleo inicial após 72h de aquecimento.

A amostra 5 apresentava diferenças significativas logo após 1h de aquecimento.

As amostras 2 e 3 apresentavam diferenças significativas nas primeiras horas de aquecimento, entre as 3 e as 10 horas, e a amostra 4 entre a 1 e as 5h de aquecimento.

Comparando o comportamento global das amostras entre si verificou-se que apenas as amostras 1 e 5 diferiam significativamente entre si.

A amostra 5 era a que apresentava valores iniciais mais elevados, justificados por se tratar de um azeite e legalmente poder apresentar um IP até 20. Todas as restantes amostras obedeciam à legislação para óleos refinados que permite um máximo de 10 para este parâmetro.

Na fase final do estudo todas as amostras apresentavam valores equivalentes, na ordem dos 15 a 18, à excepção da amostra 2 que apresentava um índice com um valor superior ao dobro do das restantes. Este facto está de acordo com os valores anteriormente discutidos de resistência à oxidação e de compostos polares.

Relativamente ao IpA

Todas as amostras exibiam diferenças significativas a partir da 1ª hora de aquecimento.

A comparação das amostras entre si, permitiu verificar que a amostra 5 diferia significativamente de todas as outras. Era a que apresenta um valor final menor, inferior a metade do valor apresentado pelas restantes. Este comportamento pode ser justificado por se tratar de um azeite virgem, que não sofreu refinação.

Relativamente ao IT

Reflectia as tendências exibidas pelas amostras nos dois ensaios anteriormente discutidos.

Apenas as amostras 2 e 5 apresentavam comportamentos globais que diferiam significativamente.

A amostra 5 era a que evidenciava ranço oxidativo em menor grau e inversamente a amostra 2 foi a que se oxidou em maior grau.

As amostras 1, 3 e 4 apresentavam níveis oxidativos, no final do aquecimento, muito semelhantes.

Acidez

Todas as amostras apresentavam variações significativas, relativamente ao seu estado inicial, a partir das 72h.

Comparativamente entre si, todas as amostras apresentavam um comportamento significativamente diferente da amostra 5. Esta apresentava uma acidez muito superior à das restantes amostras visto tratar-se de um azeite virgem.

A amostra que evidenciou um maior ranço hidrolítico foi a amostra 2.

Absorvência à luz ultravioleta

As amostras 1 e 2 apresentaram comportamentos significativamente diferentes das amostras 4 e 5.

Ao longo do aquecimento, a amostra 4 manteve praticamente inalterado o valor da relação 232/270.

Com a amostra 5 verificou-se um enriquecimento progressivo de produtos secundários de oxidação, uma vez que a relação 232/270 diminuía ao longo do aquecimento. Com a amostra 3 ocorreu uma situação semelhante, mas em muito menor grau.

Com as amostras 1 e 2 verificou-se o aumento da relação 232/270, ou seja, ocorreu um aumento mais acentuado do nível de hidroperóxidos e produtos iniciais de oxidação em detrimento dos produtos secundários de oxidação e de trienos conjugados.

Cor

Foi determinada pelo método do Lovibond Tintometer e pelo método das características de cromaticidade.

A comparação do comportamento das 5 amostras, referentes ao parâmetro cor, unidades amarelo e vermelho, permitiu verificar que as amostras 1 e 5 diferiam significativamente entre si e das restantes, que apresentavam características similares.

A amostra 5, por se tratar de um azeite, apresentava na sua composição além de unidades amarelo e vermelho também unidades azul.

Amostras	Cor Lovibond		Ab. U.V. 232/270	Caract. cromáticas		Y%	λ dom.	Pureza
	Am.	Ver. Az.		x	y			
Amost. 1								
0	30	3,5	1,78	0,3402	0,3639	94,8	571,7	20,8
1	30	3,5	1,81	0,3401	0,3616	93,1	572,3	20,2
3	30	3,8	1,82	0,3373	0,358	92,7	572,1	18,4
5	30	3,8	1,72	0,3428	0,3645	91,1	572,6	21,7
10	30	3,8	1,69	0,3399	0,3622	92,9	572	20,3
24	30	4	1,64	0,3449	0,3701	91,5	572	23,7
48	30	4	1,93	0,3504	0,379	90,3	571,9	27,6
72	30	4	2,41	0,356	0,3865	86,9	572,1	31,1
96	30	4	3,13	0,3573	0,3924	91,5	572,4	33
Amost. 2								
0	11	1,6	0,69	0,322	0,336	96,7	571,1	8,5
1	11	1,7	0,79	0,3233	0,338	96	571,2	9,3
3	11	1,7	1,02	0,322	0,3362	95,8	571	8,5
5	11	1,7	1,03	0,3239	0,3389	94,5	571,2	9,7
10	11	1,7	1,14	0,3233	0,3384	94,1	569,9	9,4
24	14	1,7	1,69	0,3248	0,3414	95,2	570,7	10,7
48	14	1,7	2,25	0,3262	0,3445	96	570,4	11,9
72	14	1,7	3,08	0,3278	0,3463	91,3	570,8	12,8
96	14	1,7	3,25	0,3328	0,3563	92,1	566,8	16,8
Amost. 3								
0	20	2	3,33	0,3292	0,3457	95,3	570,7	13
1	20	2	3,14	0,3238	0,3376	96,9	571,9	9,4
3	20	1,7	2,92	0,3224	0,3359	94,9	571,6	8,5
5	20	1,6	2,97	0,3241	0,339	94,8	571,4	9,8
10	20	1,5	2,75	0,3238	0,3389	95,8	571,2	9,7
24	20	1,4	2,7	0,3283	0,3468	94,7	571	13
48	20	1,7	2,78	0,3345	0,3581	95,3	570,7	17,7
72	20	2	2,99	0,342	0,3709	95,1	570,7	23,2
96	20	2,3	2,75	0,3541	0,3918	93	570,7	32

Tabela 8.2.3. Resultados da determinação da cor Lovibond, das características cromáticas e das absorvências no ultravioleta de 3 amostras estudadas, antes (0) e após 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas de aquecimento.

Amostras	Cor Lovibond			Ab. U.V. 232/270	Caract. cromáticas		Y%	λ dom.	Pureza
	Am.	Ver.	Az.		x	y			
Amost. 4									
0	10	1		4,29	0,3213	0,3339	93	571,8	7,7
1	10	1		4,56	0,3206	0,3333	97	571,4	7,4
3	10	1		4,57	0,3201	0,3327	95,5	571,2	6,4
5	10	1		4,38	0,32	0,3328	96	571	7,1
10	10	0,9		4,43	0,3195	0,332	95	571	6,7
24	10	1		4,78	0,3196	0,3329	96,2	570,5	7
48	10	1		5,13	0,3224	0,3374	95,2	570,7	8,9
72	10	1		4,32	0,3233	0,3397	95,9	570,3	9,8
96	10	1		—	0,3262	0,3453	94,9	570,1	12,1
Amost. 5									
0	70	8	7	10,45	0,4981	0,4989	55,4	578,1	99,2
1	70	8	6	5,03	0,4862	0,4932	59,6	577,7	94,5
3	79	8	6	5,56	0,4655	0,4761	60,9	577,4	84,4
5	79	8	6	4,41	0,4482	0,4658	61,6	576,7	77
10	79	8	6	3,59	0,4207	0,445	65	575,6	64,1
24	79	8	6	3,6	0,3791	0,4091	67,1	573,8	43,3
48	79	8	5	1,9	0,3631	0,3934	72,8	572,8	34,8
72	79	6	2	3,71	0,3561	0,384	75,4	572,6	30,4
96	73	4	3	1,81	0,3498	0,3782	85	571,9	27,2

Tabela 8.2.4. Resultados da determinação da cor Lovibond, das características cromáticas e das absorvências no ultravioleta de 2 amostras estudadas, antes (0) e após 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas de aquecimento.

A determinação da cor dos óleos de acordo com a técnica descrita na NP-937 (1987) permitiu verificar :

Relativamente às características cromáticas, x e y,

A amostra 5 diferia significativamente das restantes.

No caso das ordenadas, y, verificou-se que as amostras 1 e 3 e 2 e 4 apresentavam comportamentos semelhantes.

Relativamente à transparência

A amostra 5 diferia significativamente das restantes.

Verificou-se também que nas amostras 1, 2 e 3 esta característica variava negativamente, ou seja, os seus valores diminuíam com o tratamento térmico, respectivamente 3,3, 4,6 e 2,3%.

No caso das amostras 4 e 5 esta variação era positiva e respectivamente de 1,9 e 29,6%.

Relativamente ao comprimento de onda dominante (λ)

A amostra 5 diferia significativamente das restantes e era a amostra que apresentava maior variação desta característica, 6,2nm.

As restantes amostras, provenientes de sementes oleaginosas apresentavam variações muito semelhantes, à excepção da amostra 2 que sofreu uma variação de 4,3nm enquanto as restantes apresentam variações de 0,7 e 1,7nm respectivamente.

À excepção da amostra 1 o comprimento de onda dominante diminuiu em todas as amostras.

Relativamente à pureza

Verificou-se haver em todas as amostras um incremento desta característica à excepção da amostra 5 que diminuiu de 99,2% para 27,2%.

Pelo descrito, devido às pequenas variações verificadas ao longo do tratamento térmico, parece não ser de grande interesse informativo a determinação da cor pelo método Lovibond, para o controlo da deterioração de um óleo, aquecido em ausência de alimento.

O mesmo já não se aplica ao método descrito pela NP-937 (1987), uma vez que se verificam alterações significativas nos valores das características cromáticas determinadas.

Em conclusão parece possível afirmar que :

Os parâmetros resistência à oxidação, compostos polares e IpA são os que fornecem uma informação mais elucidativa acerca da alteração de óleos aquecidos em ausência de alimento.

Das amostras estudadas, a amostra 5, azeite virgem extra, apresentou um comportamento diverso das restantes. Este facto poderá ser consequência da forma de obtenção do produto em questão.

O azeite é obtido, por processos mecânicos ou físicos, da polpa dos frutos da oliveira (*Olea europea*) enquanto as outras amostras são obtidas, por processos químicos, a partir de sementes oleaginosas.

O azeite foi a amostra que, nas condições de ensaio, sofreu menor alteração.

Pelo contrário, a amostra 2, o óleo de girassol, foi a que se mostrou mais vulnerável ao tratamento térmico.

Atendendo à legislação vigente estes produtos, após 96h de aquecimento, ainda podiam continuar a ser utilizados já que não foram atingidos os máximos preconizados - 25%-27% para os compostos polares, Firestone *et al.*, 1991, e 1% para a acidez - apesar dos valores elevados apresentados pelo IpA e os baixos períodos de indução verificados pela resistência à oxidação.

8.3. ÓLEOS VEGETAIS UTILIZADOS COMO BANHOS DE FRITURA

Verificado o comportamento dos vários tipos de óleos vegetais, por aquecimento contínuo a temperaturas semelhantes às utilizadas na fritura de alimentos, mas na sua ausência, procedeu-se à avaliação do comportamento em situação real de fritura.

Para tal estudaram-se diferentes situações de fritura de batatas, de rissóis e de filetes de polvo.

As amostras estudadas foram óleos alimentares, o tipo de óleo dos mais utilizados em restauração.

8.3.1. Fritura de batatas

As batatas são, sem dúvida alguma, o tipo de alimento frito mais consumido, quer a nível doméstico, de indústria de hotelaria e restauração quer a nível industrial.

Dado o seu baixo teor lipídico é de prever uma intervenção pouco significativa na alteração que ocorre no óleo utilizado como banho de fritura.

O comportamento de diferentes óleos alimentares ao longo da fritura é o que se pretende discutir perante os dados obtidos nos 3 ensaios descritos.

O ensaio 3 terminou ao fim de 7h pois foi o tempo máximo de fritura sem reposição de óleo novo.

Nos outros dois ensaios o limite de fritura foi respectivamente 17 e 89h, limite este determinado pelo operador da fritura.

Nos banhos de fritura foram avaliados vários parâmetros, RO, CP, Acidez, IP, IpA, IT, Relação 232/270 e cor, ao longo do tempo, cujos valores estão expressos nas tabelas 8.3.1.1. e 8.3.1.2.

Tempo de fritura (h)	RO (h)	CP %	Acidez	IP	IpA	IT	Rel. 232/270
Ensaio 1							
t0	3,2	0	0,1±0	11±0	31,7±0,14	53,7±0,14	4,96
t3	2,9	6,3	0,3±0,04	11±1,4	76,3±1,27	98,3±4,10	5,69
t6	2,6	6	0,3±0,01	17±0	86,0±0,57	120,0±0,57	5,37
t7	2	7,5	0,3±0	21±0,7	106,4±0,57	147,4±1,98	5,49
t10	2,6	6,8	0,3±0,06	12±0,7	102,6±0,85	125,6±2,26	5,04
t13	2	6,7	0,3±0,03	22±0	90,3±0,35	134,3±0,35	5,33
t17	2,1	7,2	0,3±0,06	20±0	97,8±0,99	137,8±0,99	5,66
Ensaio 2							
t0	3,4	0	0,2±0	5±0,7	16,7±0,85	25,7±0,57	4,07
t3	3,3	2,8	0,2±0	16±0,7	23,5±0	54,5±1,41	5,59
t6	3	4,8	0,3±0	12±0	66,7±0,99	90,7±0,99	4,7
t7	2,7	5,2	0,3±0	16±0	74,8±0,42	106,8±0,42	5,37
t10	2,7	5,3	0,3±0	13±0,7	75,4±0	100,4±1,41	4,88
t13	2,6	5,6	0,3±0	13±0	80,9±0,57	106,9±0,57	4,96
t17	2,8	6,1	0,3±0	10±0	84,7±0,07	104,7±0,07	4,58
t19	3,4	4,9	0,2±0	7±0	50,2±0,57	64,2±0,57	6,22
t22	3	6,3	0,3±0	10±0,7	79,6±1,77	98,6±3,18	4,95
t25	3,1	6,9	0,3±0	7±0	78,8±1,27	92,8±1,27	4,8
t28	3	6,6	0,3±0	7±0	76,5±1,13	90,5±1,13	4,54
t31	3	6,3	0,3±0	4±0,7	67,7±0,28	74,7±1,70	4,49
t35	3	6,8	0,3±0	9±0	84,7±0,71	102,7±0,7	4,61
t44	3	7,3	0,3±0	8±0,7	79,2±1,13	94,2±0,28	4,2
t50	2,9	5,9	0,3±0	8±0	64,4±0,14	80,4±0,14	4,14
t56	2,7	6,5	0,3±0	14±0,7	72,5±0,21	99,5±1,20	4,23
t59	2,3	8	0,3±0	14±0	91,7±0,42	119,7±0,42	4,19
t65	2,9	6	0,3±0	8±0	67,2±0,35	83,2±0,35	4,09
t71	2,9	6,6	0,3±0	9±0	77,0±1,06	95,0±1,06	3,81
t77	2,5	6,5	0,3±0	13±0,7	73,1±0,78	98,1±2,19	3,95
t83	2,5	7,1	0,3±0	16±0,7	86,6±0,21	117,6±1,63	4,25
t89	2	7,2	0,3±0	11±0	81,3±0,28	103,3±0,28	4,45
Ensaio 3							
t0	3,2	0	0,1±0	18±0	26,4±0	62,4±0	4,07
t1,5	3,2	3,1	0,1±0	21±0	34,9±0,07	76,9±0,07	4,09
t4,5	2,1	5,2	0,1±0	41±0,7	78,2±1,06	159,2±2,48	4,3
t7	2,4	5,9	0,1±0	27±0,7	93,4±0,21	146,4±1,20	4,07

Figura 8.3.1.1. Evolução de RO, CP, Acidez, IP, IpA, IT e da relação 232/270, ao longo do tempo nos ensaios 1, 2 e 3 de fritura de batatas. (t0)- antes de se iniciar o aquecimento; (tx)- x horas a fritar

Tempo de fritura (h)	Cor			Cor e características cromáticas				
	Am.	Verm.	Azul	x	y	Transp.	λ dom.	Pureza
Ensaio 1								
t0	10	3,3		0,3404	0,3605	88,3	572,7	19,7
t3	20	6,4		0,3627	0,3896	86,1	572,7	33,1
t6	23	7,1		0,3692	0,3978	81,6	570,9	38,4
t7	26	7,4		0,3699	0,4	84	570,9	38,4
t10	27	7,9		0,3759	0,4062	81,1	573,8	43,8
t13	28	7,2		0,3686	0,3978	83	570,9	38,4
t17	22	6,2		0,3662	0,3953	84,4	570,9	38,4
Ensaio 2								
t0	10	1,5		0,3272	0,3444	89,7	571,2	12,1
t3	17	1,9		0,3327	0,3507	83,5	572	15,3
t6	20	2,5		0,338	0,3584	78,9	572,3	18,7
t7	21	2,6		0,3348	0,3595	77,6	571,6	18,2
t10	20	2		0,3419	0,3628	77,6	572,7	21
t13	24	2,3		0,3445	0,3659	75,4	572,9	22,5
t17	26	2,8		0,3487	0,3713	74,4	573	25,1
t19	20	2,5		0,3426	0,364	79,8	572,7	21,5
t22	30	3,9		0,3508	0,3755	80,5	572,8	26,7
t25	33	4,1		0,3542	0,3797	77,8	572,9	28,8
t28	40	4,8		0,3577	0,384	77,9	573,1	30,9
t31	49	5		0,3611	0,3883	75	573,2	32,9
t35	49	5		0,3636	0,3907	74,9	573,4	34,2
t44	60	7		0,3676	0,3962	81,2	573,4	36,8
t50	70	7		0,3698	0,3979	78,2	573,5	37,8
t56	70	7,8		0,3694	0,3981	80,5	573,5	37,8
t59	60	7,6		0,3699	0,3992	81,7	573,4	38,2
t65	60	8		0,3753	0,4037	76	573,8	40,8
t71	70	8	0,1	0,3801	0,4092	72,6	573,9	43,6
t77	70	9	0,1	0,3871	0,4153	68,3	574,3	47,1
t83	70	8,6	—	0,3871	0,4164	71,6	574,2	47,4
t89	70	8,8	0,1	0,3904	0,4193	69,6	574,4	49,1
Ensaio 3								
t0	10	1,9		0,3293	0,3468	93,5	571,6	13,3
t1,5	20	2		0,3366	0,3506	88,4	574,3	16,3
t4,5	20	2		0,3368	0,3565	84,1	572,3	17,9
t7	20	3		0,3442	0,366	79,8	572,8	22,4

Figura 8.3.1.2. Evolução da cor e das características cromáticas, ao longo do tempo nos ensaios 1, 2 e 3 de fritura de batatas
(t0)- antes de se iniciar o aquecimento; (tx)- x horas a fritar

Um dos objectivos era estudar o comportamento de 3 óleos que à partida possuíam parâmetros analíticos de qualidade diversos, para se poder inferir da importância da qualidade do óleo de partida.

Mantiveram-se constantes os restantes parâmetros susceptíveis de influenciar a qualidade do óleo ou do produto frito.

Considerando cada parâmetro avaliado individualmente verificou-se :

Resistência à oxidação

À partida, os 3 óleos apresentavam valores muito semelhantes, 3,2h para o óleo 1 e 3 e 3,4h para o óleo 2.

Decorridas 7h a fritar, estes valores baixaram respectivamente para 2, 2,7 e 2,4h nos ensaios 1, 2 e 3.

O óleo usado no ensaio 1 foi o que mais se alterou. O óleo do ensaio 2 foi o que apresentou maior qualidade para fritura, apresentando o valor de 2 para a resistência à oxidação apenas ao fim de 89h de fritura.

A adição de óleo novo em t10, no ensaio 1, provocou um aumento da RO para 2,6h mas na etapa seguinte mesmo com adição de óleo novo o valor regressou a 2 até ao final do ensaio.

Compostos polares

Na técnica usada (FOS) o valor de partida é considerado 0.

Ao fim de 3h o ensaio 1 apresentava 6,3% e o ensaio 2, 2,8%.

No ensaio 3 ao fim de 1,5h de fritura o valor de CP era de 3,1%.

Em t7 os ensaios 1, 2 e 3 apresentavam respectivamente 7,5%, 5,2% e 5,9%.

Confirma-se o verificado para a RO, ou seja, o óleo usado no ensaio 2 é o que apresenta maior resistência ao calor.

Em t17 o óleo do ensaio 1 apresentava um valor de CP (7,2%) superior ao óleo do ensaio 2 (6,1%). O valor apresentado em t17 no ensaio 1 foi obtido apenas ao fim de 89h de fritura no ensaio 2.

Tendo sido a rejeição do produto ordenada pelo técnico de fritura e baseada apenas em características organolépticas do banho e do produto frito, verifica-se haver concordância nessas características e nas características analíticas determinadas laboratorialmente.

Considerando a legislação internacional que permite um máximo de 25-27% de CP nos óleos de fritura, qualquer destes óleos podia continuar a fritar durante mais algum tempo.

Contudo os produtos obtidos não apresentariam os atributos sensoriais característicos dos produtos fritos de qualidade.

Acidez

Os seus valores praticamente não se alteram ao longo da fritura apresentando um valor máximo de 0,3% nos ensaios 1 e 2.

Considerando o limite máximo de 1%, de acordo com a legislação Americana, estes óleos ainda podiam fritar durante mais algum tempo.

A informação que se pode obter deste parâmetro é muito reduzida, nas condições de fritura utilizadas.

IP, IpA, IT

À partida os 3 óleos alimentares apresentavam estados de oxidação muito diversos.

Apenas o óleo do ensaio 2 apresentava um IP inferior a 10 ($5 \pm 0,7$). Os outros 2 apresentavam respectivamente 11 (ensaio 1) e 18 (ensaio 2) o que está em desacordo com o legislado (IP máximo permitido 10).

Evidentemente ao fim de 7h de fritura os valores apresentados são superiores, respectivamente 16 ± 0 para o ensaio 2, $21 \pm 0,7$ para o ensaio 1 e $27 \pm 0,7$ para o ensaio 3.

Ao fim das 17h de fritura os ensaios 1 e 2 apresentavam valores inferiores a t7, 20 ± 0 (ensaio 1) e 10 ± 0 (ensaio 2) respectivamente.

O IpA, parâmetro que nos informa acerca da história oxidativa do óleo, apresenta valores superiores no ensaio 1 ($31,7 \pm 0,14$) seguido do ensaio 3 ($26,4 \pm 0$).

O valor inferior é apresentado pelo ensaio 2 ($16,7 \pm 0,85$).

Estes valores não confirmam os valores apresentados pelo IP.

De acordo com o IP a amostra mais alterada, no iniciada fritura, seria a do ensaio 3 mas com o IpA parece ser a do ensaio 1.

O IT, que dá informação do passado e presente oxidativo da amostra, confirma ser o óleo do ensaio 3 o que está num estado de oxidação superior.

Ao fim de t7 os óleos do ensaio 1 e 3 apresentavam níveis de oxidação semelhantes ($147,4 \pm 1,98$ e $146,4 \pm 1,20$ respectivamente).

Em t17, quando da rejeição do óleo do ensaio 1, o valor de IT era inferior a t7.

Este facto é devido à reposição de óleo novo em t10, o que provocou um abaixamento significativo (de 147,4 para 125,6) mas que nas fases seguintes t13 e t17, embora se verificasse adição de óleo novo o IT recomeçou a aumentar.

No ensaio 2, em t89, o IT apresentava um valor semelhante (103,3) ao apresentado em t7 (106,8). Neste ensaio, devido às reposições de volume com óleo novo os valores de IT apresentavam aumentos e decréscimos atingindo o máximo em t59 (IT = $119,7 \pm 0,42$) valor inferior ao apresentado no ensaio 3 em t4,5 e no ensaio 1 em t6.

Relação 232/270nm

Não parece ser um parâmetro que forneça informação de grande importância uma vez que, no ensaio 3, em t7 apresentava o mesmo valor que em t0 e pela discussão dos parâmetros anteriores verificou-se ter havido degradação do óleo.

Nos ensaios 1 e 2 verificou-se um aumento da relação 232/270 respectivamente de 0,53 e 1,3 nesse intervalo de tempo.

Cor

É outro parâmetro com valor informativo acerca da alteração das amostras.

À partida o óleo do ensaio 2 era o que apresentava uma cor menos intensa (amarelo 10, vermelho 1,5) e o óleo do ensaio 1 era o que tinha cor mais intensa, dada pela fracção vermelha (3,3).

Ao fim das 7h de fritura o óleo do ensaio 1 foi o que mais alterou a sua cor (amarelo 26, vermelho 7,4) ficando os óleos 2 e 3 com tonalidades muito semelhantes.

Em t17, devido à reposição, no ensaio 1 verificou-se atenuação da cor enquanto no ensaio 2 esta continuou a aumentar. No entanto o óleo 1 estava mais escuro.

Em t89 o óleo do ensaio 2 apresentava-se já com uma tonalidade bastante escura, que se intensificou a partir de t71, e foi confirmada laboratorialmente com o aparecimento da fracção azul.

Em conclusão :

A fritura de batatas a $145\pm 5^{\circ}\text{C}$ provoca degradação do óleo que constitui o banho de fritura, contudo essa degradação não pode ser considerada alarmante nem mesmo perigosa, uma vez que a rejeição ocorre muito antes dos óleos poderem ser classificados de impróprios para fritar.

A legislação, a nível internacional, prevê a rejeição de óleos de fritura quando estes apresentem valores de compostos polares compreendidos entre 25 e 27%, o que corresponde à presença de 0,7% de ácidos gordos oxidados insolúveis em éter de petróleo, Firestone *et al.*, 1991.

As três amostras estudadas foram rejeitadas muito antes de atingirem esses valores (CP=7,2%), pelo que a população que frequenta o estabelecimento em questão pode ficar descansada quanto à qualidade das batatas fritas que ingere.

Tratando-se de jovens, os produtos fritos são, sem sombra de dúvida, os que melhor respondem às suas necessidades calóricas e aos seus gostos alimentares.

A qualidade inicial do óleo a utilizar tem extrema importância conforme foi demonstrado neste trabalho.

O óleo utilizado no ensaio 1, de menor qualidade inicial pelo menos a nível oxidativo, foi rejeitado muito antes do óleo do ensaio 2.

Este facto tem repercussões economicamente negativas, entre outras.

Outro facto que parece ter ficado provado: a utilização de gorduras sobreaquecidas origina produtos com más características organolépticas.

Os óleos em estudo foram rejeitados principalmente devido ao facto dos alimentos que fritavam não apresentarem as características organolépticas adequadas, embora legalmente pudessem continuar a fazê-lo.

8.3.2. Fritura de rissóis

Os rissóis são outro tipo de alimento frito presente, com certa frequência, na dieta dos portugueses.

A evolução dos valores dos parâmetros avaliados, acidez, IP, IpA, IT, CP (FOS e teste Very-fry R), estão expressos na tabela 8.3.2.1.

Tempo de fritura (h)	Acidez	IP	IpA	IT	CP% FOS	CP% VF(R)
Ensaio 1						
t0	0,1±0	4±0	6±0	14±0	0	0
t1,5	0,1±0	15±1,1	31±1,4	62±0	4,1	5,0-11,0
Ensaio 2						
t0	0,1±0	10±1,4	5±0	25±2,8	0	0
t1,5	0,2±0,07	26±1,4	54±1,4	106±1,4	5,1	12,0-16,0

Tabela 8.3.2.1. Evolução da acidez, IP, IpA, IT, CP determinados pelo FOS e teste Very-Fry (R), na fritura de rissóis a 165±5°C, durante 1,5h

O comportamento nas amostras estudadas, relativamente aos parâmetros IP, IpA e IT, foi o seguinte:

- A amostra de óleo 2 apresentava um valor inicial de IP=10, valor máximo permitido para este parâmetro na legislação portuguesa para óleos vegetais. Com o aquecimento esse valor sofreu um incremento de 2,6 vezes (IP=26).
- A amostra do óleo do ensaio 1, embora tendo um valor inicial inferior (IP=4), sofreu um incremento de 3,8 vezes (IP=15).
- As amostras 1 e 2 apresentavam valores iniciais de IpA próximos, respectivamente 6 e 5, mas após aquecimento verificou-se que a amostra 2 foi a que sofreu maior alteração pois o incremento neste parâmetro é cerca do dobro do sofrido pela amostra 1, (IpA₁=31 e IpA₂=54).
- O valor de IT, de acordo com Rossell, 1983, deveria ser em t0 inferior a 10, mas ambas as amostras já apresentavam inicialmente este índice com valores superiores; após aquecimento os seus valores eram respectivamente 6 e 11 vezes superiores ao valor acima citado (IT₁=62 e IT₂=106).

Pelo referido pode concluir-se que embora nas 2 amostras o estado oxidativo total ($t_{1,5}$) tenha sofrido um incremento de 4 vezes o seu valor inicial (t_0), a amostra 2 foi a que sofreu maior alteração durante o ensaio de fritura a $165 \pm 5^\circ\text{C}$.

Com a acidez não se verificaram diferenças significativas com a fritura, relativamente ao óleo inicial.

Relativamente aos compostos polares é de salientar a diferença de valores obtidos com os dois métodos ensaiados, o que não surpreende dado que têm fundamentos diversos.

No teste Very-Fry (R) a leitura é feita numa escala de cores pelo que, além de se tornar subjectiva, os valores lidos estão compreendidos entre limites, não sendo fornecido um valor absoluto.

No Food Oil Sensor (FOS) a determinação resulta da variação da constante dieléctrica, variação esta devida ao aparecimento de compostos com polaridade superior à dos triglicéridos.

Verificou-se que a amostra 2, no que diz respeito a este parâmetro, apresentou um teor superior de compostos polares quer pelo FOS quer pelo teste Very-Fry (R) e, como seria de esperar, muito afastado dos máximos legislados internacionalmente.

O comportamento apresentado está de acordo com os valores obtidos com os parâmetros discutidos anteriormente.

Em conclusão :

Os 2 óleos alimentares usados, nas mesmas condições e na fritura de rissóis, tendo características iniciais diversas apresentaram também comportamentos diferentes. Confirma-se assim a grande importância da qualidade inicial de um óleo.

O que melhor se comportou foi o denominado amostra 1. O nível oxidativo que apresentava inicialmente era inferior ao da amostra do ensaio 2.

8.3.3. Fritura de filetes de polvo

Os filetes de polvo eram constituídos por polvo cozido e posteriormente aberto, envolto numa polme de farinha e ovo.

A fritura durante 1,5h a $180\pm 5^\circ\text{C}$ provocou alterações na composição e características do banho de fritura.

Para avaliar essas alterações procedeu-se à determinação da acidez, índices de peróxido, *p*-anisidina e Totox, compostos polares, resistência à oxidação, cor Lovibond e características cromáticas e absorvências no ultravioleta.

Os valores obtidos inscrevem-se nas tabelas 8.3.3.1. e 8.3.3.2.

Tempo de fritura (h)	Acidez	IP	IpA	IT	CP% (FOS)	RO (h)
to	0,2±0	5±0,7	16,7±0,85	25,7±0,57	0	3,4
Ensaio 1 t1,5	0,3±0	3±0	26,3±0,78	32,3±0,78	4,04	3,7
Ensaio 2 t1,5	0,3±0	2±0	35,9±0,85	39,9±0,85	5,72	3,5

Tabela 8.3.3.1. Evolução da acidez, IP, IpA, IT, CP e RO na fritura de filetes de polvo a $180\pm 5^\circ\text{C}$, durante 1,5h

A **acidez** sofreu um aumento de 0,2 para 0,3 quer no ensaio 1 quer no ensaio 2.

O comportamento das amostras estudadas, relativamente aos parâmetros **IP**, **IpA** e **IT**, foi o seguinte :

- O óleo inicial (t0) apresentava um IP de 5. Após tratamento térmico, a $180\pm 5^\circ\text{C}$ durante 1,5h, verificou-se diminuição do seu valor em ambos os ensaios, respectivamente para 3 e 2.

- No IpA verificou-se um incremento do seu valor nos 2 ensaios. O aumento verificado no ensaio 2 foi na ordem de 115% enquanto no ensaio 1 foi de 57%.

- De acordo com os valores apresentados pelo IT, o ensaio 2 originou uma alteração a nível oxidativo superior à provocada no ensaio 1. A alteração ocorrida foi na ordem de 26 e 55%, respectivamente para os ensaios 1 e 2.

Relativamente aos **compostos polares** os 2 ensaios forneceram valores diferentes, confirmando os valores obtidos com o IT.

No ensaio 2 verificou-se maior formação de compostos polares, mas em teores muito inferiores aos máximos legislados.

A **resistência à oxidação** apresentada pelos óleos após fritura era ligeiramente superior à apresentada inicialmente.

Comparando o valor de RO apresentado para os 2 ensaios verificou-se que também no ensaio 2 o seu valor era inferior.

Tempo de fritura (h)	Cor Lovibond			Cor e características cromáticas					Rel. 232/270
	Amar.	Verm.	Azul	x	y	Transp	λ dom.	Pureza	
to	10	1,5		0,3272	0,3444	89,7	571,2	12,1	4,07
Ensaio 1 t1,5	70	23	6	0,4176	0,4295	54,8	577,1	28,4	4,25
Ensaio 2 t1,5	73	18	10	0,3927	0,3393	59,1	595	28,3	3,31

Tabela 8.3.3.2. Evolução da cor Lovibond, das características cromáticas e das absorvências no ultravioleta na fritura de filetes de polvo a $180 \pm 5^\circ\text{C}$, durante 1,5h

A relação de **absorvências no ultravioleta** (232/270nm) sofreu um incremento no ensaio 1 e diminuiu no ensaio 2, comparativamente ao seu valor inicial.

A diferença de valores apresentada por este parâmetro parece discordar dos parâmetros anteriormente discutidos.

A **cor** foi a característica do óleo inicial que mais se alterou ao longo do aquecimento. Parece ter sofrido uma alteração superior no ensaio 2.

Verificaram-se incrementos quer nas unidades Lovibond de amarelo (de 10 para 70 e 73), quer de vermelho (de 1,5 para 23 e 18). Surgiram também unidades azul (6 no ensaio 1 e 10 no ensaio 2).

O escurecimento verificado nos óleos de fritura, parece não ter como única causa o tratamento térmico do óleo a $180 \pm 5^\circ\text{C}$. Com certeza teve grande importância o tipo de alimento frito, neste caso a cobertura de polme de farinha e ovo.

Os óleos resultantes dos 2 ensaios, embora legalmente pudessem continuar a fritar, tiveram de ser rejeitados. Os produtos fritos obtidos, caso se continuassem a usar estes óleos, apresentariam características organolépticas que levariam à sua rejeição à partida.

Em conclusão :

Um óleo alimentar, usado em 2 ensaios de fritura de filetes de polvo, a $180\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 1,5h, teve comportamentos diversos. As alterações que ocorreram, embora com valores diferentes nos vários parâmetros avaliados, apresentavam uma ordem de grandeza semelhante.

Das alterações ocorridas, a mais importante e decisiva para a sua rejeição parece ter sido a da cor dos banhos de fritura. Todos os outros parâmetros estavam distantes dos limites de rejeição, nomeadamente acidez e CP.

CAPÍTULO 9

TEORES DE ÁCIDOS GORDOS *TRANS*

9.1. ÓLEOS VEGETAIS REFINADOS

A execução deste estudo teve por objectivo conhecer os conteúdos em formas *trans* dos óleos vegetais comercializados no nosso país, simultaneamente ficar a saber as condições de trabalho da indústria portuguesa e também elucidar os consumidores acerca da qualidade dos óleos que consomem, relativamente ao teor em isómeros *trans*.

Pela quantidade de amostras disponíveis no mercado, e analisadas, parece possível afirmar que o óleo alimentar (18 amostras) é o mais consumido, seguindo-se o óleo de girassol e o óleo de soja, respectivamente com 11 e 6 marcas.

Embora não tivesse sido feita uma amostragem exaustiva das marcas comercializadas considera-se estar incluída neste estudo a maior parte das marcas comerciais presentes no mercado.

As tabelas 9.1.1. e 9.1.2. apresentam as composições em ácidos gordos e em isómeros *trans* das 18 marcas de óleos alimentares avaliadas.

Na tabela 9.1.3. e 9.1.4. expressam-se, em percentagens relativas, os resultados obtidos na análise das 11 marcas de óleo de girassol.

Na tabela 9.1.5. inscrevem-se os resultados obtidos com os óleos de soja (6 amostras).

As tabelas 9.1.6. e 9.1.7. incluem os resultados obtidos na análise da composição em ácidos gordos dos óleos de amendoim e de milho, respectivamente.

De acordo com a legislação portuguesa os **óleos alimentares** deverão apresentar composições em ácidos gordos dentro dos limites expressos na NP-2037 (1987).

Sendo, por definição, o óleo alimentar uma mistura de dois ou mais óleos vegetais, os limites expressos na referida norma terão de ser obrigatoriamente amplos para poder enquadrar todos os tipos de óleos vegetais passíveis de se encontrarem em mistura.

Ac.gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	OI. AI. 1	OI. AI. 2	OI. AI. 3	OI. AI. 4	OI. AI. 5	OI. AI. 6	OI. AI. 7	OI. AI. 8	OI. AI. 9
C14	0,06±0	0,07±0,006	0,07±0	0,07±0,005	0,08±0	0,07±0,016	0,06±0,005	0,07±0,006	0,06±0
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0,005	0,02±0,005	0,03±0	0,03±0,004	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16	6,09±0,061	6,17±0,102	6,51±0,034	6,86±0,065	6,62±0,048	6,58±0,053	6,17±0,139	6,34±0,096	6,33±0,029
C16:1t	0,02±0,006	0,02±0,005	0,02±0,010	0,02±0,006	0,02±0,005	0,02±0,007	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16:1c	0,08±0	0,09±0,008	0,12±0,005	0,15±0,005	0,10±0,005	0,08±0,004	0,08±0,005	0,13±0,010	0,11±0
C17	0,05±0	0,04±0,005	0,05±0,006	0,05±0,005	0,05±0,005	0,05±0	0,05±0,004	0,04±0	0,04±0
C17:1	0,03±0,006	0,03±0,006	0,03±0,006	0,03±0,006	0,02±0,005	0,03±0	0,03±0,005	0,02±0,005	0,02±0
C18	4,94±0,006	4,41±0,026	4,73±0,040	4,37±0,039	4,85±0,050	4,67±0,016	4,75±0,019	4,57±0,015	4,89±0,008
C18:1t	0,02±0,015	0,03±0,005	0,03±0	0,02±0,023	0,01±0,010	0,02±0,013	0,03±0,005	0,03±0	0,02±0
C18:1c	23,44±0,052	23,54±0,091	28,80±0,171	28,35±0,096	22,68±0,083	25,72±0,284	23,49±0,086	28,65±0,045	28,62±0,053
C18:2t	n.d.								
C18:2ct	0,08±0,017	0,07±0,010	0,09±0,024	0,14±0,024	0,08±0,010	0,11±0,010	0,08±0,006	0,19±0	0,34±0,031
C18:2tc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	hd.	0,14±0,007	0,27±0,026
C18:2cc	63,51±0,035	63,48±0,328	57,75±0,318	58,45±0,171	63,75±0,140	59,45±0,211	63,26±0,174	58,09±0,064	57,58±0,099
C20	0,34±0,006	0,32±0,006	0,35±0,010	0,29±0,010	0,32±0,005	0,35±0,005	0,35±0,010	0,33±0,008	0,35±0,008
C18:3t	n.d.	0,01±0,010	n.d.	n.d.	0,15±0,005	0,14±0,029	0,14±0,024	0,01±0,006	n.d.
C18:3c	0,21±0,012	0,21±0,010	0,19±0	0,20±0,045	0,10±0,019	1,33±0,053	0,08±0,010	0,21±0,016	0,17±0
C20:1	0,01±0,012	n.d.	n.d.	n.d.	0,01±0,005	0,01±0,017	0,02±0,015	n.d.	n.d.
C22	0,87±0	0,80±0,040	0,86±0,032	0,76±0,024	0,79±0,013	0,78±0,020	0,89±0,017	0,80±0,026	0,83±0,006
C22:1	0,01±0,023	0,02±0,017	n.d.	0,01±0,015	0,02±0,005	0,03±0,006	0,01±0,020	n.d.	n.d.
C24	0,23±0,029	0,22±0,011	0,28±0,021	0,23±0,025	0,23±0,017	0,24±0,013	0,28±0,017	0,27±0,015	0,28±0,110
Tot. trans	0,11±0,031	0,12±0,010	0,13±0,036	0,18±0,011	0,26±0,010	0,28±0,038	0,29±0,017	0,33±0,034	0,64±0,046

Tabela 9.1.1. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% de 9 óleos alimentares estudados, numerados de 1 a 9

Ac.gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	OI. AI. 10	OI. AI. 11	OI. AI. 12	OI. AI. 13	OI. AI. 14	OI. AI. 15	OI. AI. 16	OI. AI. 17	OI. AI. 18
C14	0,07±0,004	0,16±0,007	0,07±0,006	0,09±0	0,06±0	0,06±0,005	0,12±0,007	0,06±0	0,06±0,005
C15	0,02±0	0,03±0,007	0,02±0	0,04±0,012	0,02±0	0,02±0,005	0,03±0	0,02±0,007	0,02±0
C16	6,97±0,076	7,00±0,078	7,19±0,114	7,77±0,075	6,04±0,078	5,83±0,172	8,76±0,085	6,49±0,148	6,18±0,068
C16:1t	0,01±0,006	0,03±0	0,02±0	0,01±0	0,01±0	0,01±0,010	0,01±0,014	0,02±0	0,01±0
C16:1c	0,09±0,008	0,11±0,007	0,13±0,005	0,08±0,006	0,08±0	0,07±0,006	0,09±0	0,11±0,007	0,08±0,010
C17	0,06±0,010	0,05±0	0,05±0	0,06±0,006	0,05±0	0,04±0,005	0,06±0,007	0,05±0	0,04±0,005
C17:1	0,03±0,008	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,02±0	0,03±0	0,03±0	0,02±0
C18	4,85±0,056	5,57±0,007	4,23±0,010	4,68±0,042	4,69±0,021	4,61±0,010	4,60±0,014	4,84±0,014	4,55±0,054
C18:1t	0,02±0,016	0,05±0	0,03±0,005	0,03±0	0,02±0,006	0,03±0,005	0,05±0	0,03±0	n.d.
C18:1c	22,70±0,097	23,39±0,099	28,67±0,038	22,44±0,068	24,44±0,045	24,36±0,081	26,66±0,014	28,12±0,007	26,75±0,040
C18:2t	0,01±0,009	n.d.	n.d.	0,02±0	n.d.	n.d.	0,01±0,014	0,01±0,014	n.d.
C18:2ct	0,13±0,047	0,36±0	0,28±0,006	0,14±0,104	0,50±0,007	0,57±0,043	0,51±0	0,72±0,007	0,21±0
C18:2tc	0,21±0,025	0,30±0,007	0,21±0,025	0,33±0,062	0,45±0,007	0,45±0,051	0,44±0,042	0,59±0,064	0,16±0
C18:2cc	62,23±0,128	61,17±0,071	56,25±0,068	60,25±0,135	61,82±0,142	62,23±0,075	55,40±0,014	56,42±0,057	60,44±0,159
C20	0,33±0,008	0,36±0,007	0,34±0,005	0,33±0,006	0,32±0,006	0,31±0,013	0,35±0	0,36±0,007	0,31±0,006
C18:3t	0,28±0,074	n.d.	0,26±0,005	0,45±0,015	n.d.	n.d.	0,39±0,007	0,12±0	n.d.
C18:3c	0,96±0,047	0,21±0,007	1,27±0	2,12±0,012	0,18±0,015	0,18±0,005	1,52±0,014	0,90±0	0,18±0,005
C20:1	0,06±0,005	0,06±0	n.d.	0,07±0,006	n.d.	n.d.	0,09±0,007	0,07±0	n.d.
C22	0,72±0,018	0,85±0,028	0,73±0,013	0,67±0,025	0,83±0,021	0,81±0,025	0,70±0,007	0,84±0,042	0,81±0,021
C22:1	0,02±0,015	n.d.	0,04±0	0,03±0,010	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C24	0,22±0,013	0,26±0,021	0,25±0,007	0,20±0,023	0,25±0	0,27±0,026	0,19±0,064	0,22±0,092	0,25±0,042
Tot. trans	0,66±0,161	0,74±0,007	0,80±0,031	0,97±0,029	0,98±0,007	1,06±0,090	1,41±0,007	1,48±0,057	0,36±0,023

Tabela 9.1.2. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% de 9 óleos alimentares estudados, numerados de 10 a 18

Todos os óleos alimentares apresentavam uma composição em ácidos gordos que obedecia aos limites expressos na referida norma, excepto a amostra Ol. Al. 13. Neste óleo os teores de ácido linolénico ultrapassavam os 2% ($2,12 \pm 0,012\%$) preconizados na NP-2037 (1987).

Os ácidos gordos C_{14} , C_{15} , $C_{16:1c}$, C_{17} , $C_{17:1}$, $C_{20:1}$ e $C_{22:1}$ apresentavam-se em quantidades vestigiais e sempre inferiores a 0,1% dos ácidos gordos totais.

O C_{16} variava entre $5,83 \pm 0,172\%$ e $8,76 \pm 0,085\%$ respectivamente nas amostras 15 e 16.

O C_{18} variava entre $4,23 \pm 0,010\%$ e $5,57 \pm 0,007\%$, respectivamente nas amostras 11 e 12.

O $C_{18:1c}$ variava entre $22,44 \pm 0,068\%$ e $28,80 \pm 0,171\%$ respectivamente nas amostras 13 e 3. Este era o único ácido monoinsaturado presente em percentagens significativas.

O ácido linoleico, o mais abundante, apresentava variações entre $55,40 \pm 0,014\%$ e $63,75 \pm 0,140\%$.

O ácido linolénico ($C_{18:3}$) apresentava valores compreendidos entre $0,08 \pm 0,010\%$ e $2,12 \pm 0,012\%$, respectivamente nas amostras 7 e 13.

O C_{20} variava ligeiramente entre $0,29 \pm 0,010\%$ e $0,36 \pm 0,007\%$.

Dos ácidos gordos de cadeia longa presentes, C_{22} e C_{24} , o C_{22} era o mais abundante apresentando percentagens mínima de $0,67 \pm 0,025\%$ e máxima de $0,89 \pm 0,017\%$. O C_{24} variava entre os 0,2-0,3% dos ácidos gordos totais.

O teor total de ácidos gordos saturados, nas 18 amostras, variava entre os 12,1 e os 14,3% e o teor de ácidos gordos insaturados apresentava valores compreendidos entre os 85,2% e os 87,9%.

Quanto à presença de ácidos gordos insaturados apresentando ligações duplas com configuração *trans*, verificou-se que nos 18 óleos alimentares analisados havia variações significativas, desde $0,11 \pm 0,031\%$ a $1,48 \pm 0,057\%$.

Dos isómeros *trans*,

• Os mais abundantes eram os isómeros do ácido linoleico, $C_{18:2ct}$ e $C_{18:2tc}$.

O $C_{18:2tt}$ só surgia em 4 amostras e em quantidades vestigiais (máximo $0,02 \pm 0\%$ na amostra 13).

O isómero $C_{18:2ct}$ estava presente em todas as amostras, variando os seus teores entre $0,07 \pm 0,010\%$ e $0,72 \pm 0,007\%$ na amostra 17.

O isómero $C_{18:2tc}$, sendo menos abundante, era detectável apenas em 11 amostras e em teores que variavam entre $0,14 \pm 0,007\%$ e $0,59 \pm 0,064\%$.

A maior contribuição destes isómeros para o teor total de isómeros *trans* pode ser justificada pela grande sensibilidade do ácido linoleico à isomerização, pela quantidade deste ácido presente no produto, na ordem de 60%, e sobretudo pelas condições de refinação utilizadas.

Como exemplo citam-se as amostras 1 e 14, respectivamente com 63,51% e 61,82% de ácido linoleico e teores dos seus isómeros de 0,08% e 0,95%. A diferença apresentada nos teores de isómeros *trans* é devida possivelmente a diferentes condições de refinação utilizadas.

- O isómero *trans* do C_{16:1} surgia em quantidades vestigiais, variando entre 0,01±0% e 0,03±0%.

- O C_{18:1t} apresentava percentagens da mesma ordem de grandeza (0 a 0,03%) surgindo apenas em 2 amostras com teores de 0,05%.

Atendendo às diferentes percentagens presentes de cada um dos ácidos (na ordem dos 25% para o oleico e 0,1% para o palmitoleico) verifica-se que o ácido oleico se mostra bastante estável às condições utilizadas na refinação.

- Os teores de isómeros do ácido linolénico estão mais fortemente dependentes do teor de ácido presente na forma *cis*.

Geralmente quando o ácido linolénico está presente na ordem dos 0,2% não são detectados isómeros *trans* (caso das amostras 1, 3, 4, 9, 11, 14, 15 e 18) ou estão presentes em quantidades vestigiais 0,01% (caso das amostras 2 e 8).

Como excepção citam-se as amostras 5 e 7 que apresentavam maior percentagem de ácido linolénico em forma *trans* que na forma *cis*.

As restantes amostras apresentavam teores próximos ou superiores a 1% de ácido linolénico e teores de isómeros *trans* compreendidos entre 0,12±0% e 0,45±0,015%.

No entanto não se verificava proporção entre os teores de C_{18:3c} e C_{18:3t}.

Embora o ácido linolénico seja o ácido gordo mais susceptível à isomerização, a sua presença num produto, em percentagens na ordem dos 1-2% não obriga a que esse produto, após refinação, apresente um teor elevado de isómeros *trans*.

Como exemplo citam-se as amostras 6 e 16. Estas apresentavam percentagens de C_{18:3c} de 1,33% e 1,52% e os teores totais de isómeros *trans* eram respectivamente 0,28% e 1,41%. Por outro lado a amostra 15 continha apenas 0,18% de C_{18:3c} e apresentava um teor total de *trans* de 1,06±0,090%.

Parece assim possível inferir que os teores de isómeros *trans* apresentados pelas amostras são fruto das diferentes condições de refinação utilizadas.

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	Ol. Gir. 1	Ol. Gir. 2	Ol. Gir. 3	Ol. Gir. 4	Ol. Gir. 5	Ol. Gir. 6
C14	0,07±0,005	0,06±0	0,07±0,005	0,07±0	0,06±0,005	0,04±0
C15	0,02±0,005	0,02±0	0,03±0,010	0,02±0	0,02±0,005	0,02±0
C16	6,07±0,081	5,86±0,085	6,23±0,044	6,16±0,105	6,34±0,081	4,53±0,032
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,01±0,012	0,02±0,006	0,02±0
C16:1c	0,09±0,005	0,09±0,005	0,12±0	0,08±0,010	0,12±0,005	0,08±0,010
C17	0,05±0	0,05±0,005	0,04±0	0,04±0	0,04±0	0,04±0
C17:1	0,03±0	0,03±0,004	0,02±0,005	0,01±0,012	0,03±0,006	0,03±0
C18	4,71±0,022	4,41±0,059	4,86±0,043	4,32±0,020	4,65±0,018	4,45±0,038
C18:1t	0,03±0,006	n.d.	0,01±0,015	0,13±0,006	0,02±0	n.d.
C18:1c	26,14±0,079	28,19±0,267	29,73±0,298	23,13±0,062	27,86±0,120	56,22±0,384
C18:2tt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,08±0,014	0,08±0,018	0,10±0,038	0,11±0,049	0,16±0,005	0,05±0
C18:2tc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,10±0	n.d.
C18:2cc	61,04±0,022	57,93±0,544	56,90±0,246	64,07±0,100	58,78±0,229	32,57±0,248
C20	0,33±0,005	0,35±0,017	0,35±0,006	0,35±0,006	0,34±0,005	0,37±0,012
C18:3t	n.d.	0,03±0,022	0,03±0,007	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,21±0,015	1,16±0,033	0,20±0,042	0,54±0,026	0,20±0,005	0,21±0,006
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,24±0,021
C22	0,85±0,026	0,78±0,018	0,86±0,006	0,71±0,025	0,84±0,042	1,00±0,021
C22:1	0,02±0,021	n.d.	0,02±0,030	n.d.	n.d.	0,03±0,006
C24	0,25±0,014	0,23±0,051	0,26±0,008	0,19±0,023	0,25±0,017	0,29±0
Tot. trans	0,13±0,006	0,13±0,034	0,14±0,056	0,23±0,014	0,28±0,018	0,17±0,021

Tabela 9.1.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% de 6 óleos de girassol estudados, numerados de 1 a 6

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	OI. Gir. 7	OI. Gir. 8	OI. Gir. 9	OI. Gir. 10	OI. Gir. 11
C14	0,07±0	0,07±0,005	0,05±0,005	0,07±0	0,07±0
C15	0,02±0	0,02±0	0,01±0,005	0,04±0,005	0,02±0
C16	6,37±0,074	6,69±0,094	5,56±0,139	6,63±0,160	7,09±0,066
C16:1t	0,02±0	0,02±0,007	0,01±0	0,03±0,006	0,02±0
C16:1c	0,12±0,005	0,14±0	0,06±0,008	0,15±0,019	0,08±0,006
C17	0,04±0,002	0,04±0,007	0,04±0,005	0,05±0,012	0,05±0
C17:1	0,03±0,005	0,02±0	0,02±0,004	0,03±0,006	0,03±0,005
C18	4,42±0,010	4,33±0,040	4,30±0,020	4,30±0,047	4,70±0,031
C18:1t	0,03±0,006	0,01±0,006	0,03±0,007	0,02±0,023	n.d.
C18:1c	26,85±0,067	29,88±0,096	25,25±0,134	28,31±0,147	21,45±0,320
C18:2tt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,18±0,008	0,25±0,021	0,30±0,005	0,34±0,005	0,48±0,012
C18:2tc	0,12±0,005	0,20±0	0,24±0,011	0,27±0,025	0,43±0,008
C18:2cc	60,25±0,150	56,75±0,148	62,44±0,240	58,05±0,204	62,00±0,121
C20	0,30±0,007	0,32±0,006	0,29±0	0,33±0,015	0,31±0,009
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,41±0,069
C18:3c	0,18±0,007	0,19±0,005	0,18±0,004	0,15±0,051	1,27±0,020
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,04±0,010	n.d.
C22	0,71±0,018	0,75±0,026	0,80±0,011	0,85±0,030	0,71±0,036
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,01±0,020	n.d.
C24	0,22±0,026	0,25±0,035	0,21±0,008	0,26±0,047	0,17±0,023
Tot. trans	0,33±0,013	0,46±0,025	0,55±0,005	0,66±0,031	1,33±0,092

Tabela 9.1.4. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% de 5 óleos de girassol estudados, numerados de 7 a 11

Abordam-se em seguida os resultados obtidos com as 11 amostras de óleo de girassol, de diferentes marcas comerciais.

Este tipo de óleo, de acordo com a legislação portuguesa, deverá apresentar uma composição em ácidos gordos que obedeça à descrita na NP-961 (1979).

Verificou-se que 4 amostras apresentavam uma composição em ácidos gordos diversa da referida na dita norma. As amostras 2, 4 e 11 não obedeciam nos teores de C18:3, e a amostra 6 apresentava uma inversão dos valores de C18:1c e C18:2cc.

A amostra 6 referia no rótulo tratar-se de um óleo de girassol alto oleico, o que efectivamente se comprovou.

A amostra 11, pela composição em ácidos gordos apresentada, parece-nos ter sofrido uma contaminação com óleo de soja pois, além dos teores de $C_{18:3}$ elevados para óleo de girassol, apresentava teores de C_{16} superiores às restantes amostras, assim como teores inferiores de $C_{18:1c}$. Outro facto concordante com esta opinião era tratar-se de um óleo proveniente de uma firma que refina, além de girassol, outras sementes oleaginosas.

Tratando-se de óleos estremes, sem mistura de vários óleos como acontecia na amostra 11, as suas composições eram muito mais homogéneas que no caso dos óleos alimentares.

Os teores de ácidos gordos saturados apresentavam valores compreendidos entre 10,7% e 13,2%, respectivamente nas amostras 6 e 11.

Os teores de ácidos gordos insaturados variavam entre 86,2% e 89,5%.

Os isómeros *trans* estavam presentes em todas as amostras, mas em percentagens diferentes, que variavam entre $0,13 \pm 0,006\%$ na amostra 1 e $0,66 \pm 0,031\%$ na amostra 10.

A amostra 11 apresentava teores de $1,33 \pm 0,092\%$, mas tudo indica não se tratar de um óleo de girassol estreme.

Tal como nos óleos alimentares eram os isómeros *trans* do $C_{18:2}$ os que mais contribuíam para o valor apresentado. Destes, nenhuma amostra apresentava teores detectáveis de $C_{18:2tt}$ e o $C_{18:2ct}$ continuava a ser o mais abundante.

Dos isómeros *trans* do $C_{18:3}$ apenas 2 amostras apresentavam teores de 0,03%, à excepção da amostra 11 que apresentava $0,41 \pm 0,069\%$.

Os teores de $C_{18:1t}$ variavam entre 0 e 0,03%, à excepção da amostra 4 que apresentava teores de $0,13 \pm 0,006\%$. Esta amostra apresentava uma composição invulgar em isómeros *trans*, do $C_{18:1}$ e do $C_{18:2}$; para teores de $0,54 \pm 0,026\%$ de $C_{18:3}$ não apresentava teores detectáveis de isómeros *trans* deste ácido. No rótulo do produto era referido o seu uso preferentemente em tempero. Trata-se possivelmente de um produto que sofreu modificação composicional, pois à excepção da amostra 11, era a que apresenta menor percentagem de ácido oleico e maior percentagem de ácido linoleico. Uma outra hipótese será tratar-se de uma nova variedade de girassol com características diferentes das convencionais.

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	OI. Soja 1	OI. soja 2	OI. Soja 3	OI. Soja 4	OI. Soja 5	OI. Soja 6
C14	0,07±0,006	0,07±0,005	0,06±0,006	0,08±0,009	0,07±0,006	0,06±0
C15	0,01±0	0,02±0,007	0,03±0,012	0,02±0,006	0,01±0,006	n.d.
C16	9,93±0,309	9,69±0,073	9,13±0,161	9,94±0,176	9,71±0,006	9,82±0,132
C16:1t	0,01±0	0,01±0	0,01±0	0,01±0,006	n.d.	0,01±0
C16:1c	0,07±0	0,07±0	0,07±0,006	0,08±0,008	0,07±0	0,08±0,006
C17	0,09±0,006	0,09±0,005	0,08±0,006	0,09±0,014	0,09±0	0,10±0
C17:1	0,04±0	0,04±0,005	0,04±0	0,04±0	0,05±0	0,05±0
C18	3,89±0,049	4,20±0,015	4,21±0,012	3,97±0,057	4,70±0,023	3,80±0,031
C18:1t	0,03±0,005	0,04±0,005	0,03±0	0,04±0,017	0,04±0,006	n.d.
C18:1c	23,20±0,233	23,14±0,046	23,47±0,101	24,59±0,675	23,91±0,119	22,41±0,215
C18:2tt	n.d.	0,03±0,006	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,42±0,015	0,75±0	0,19±0,078	0,21±0,087	0,22±0,006	0,27±0,010
C18:2tc	0,33±0,049	0,69±0,006	n.d.	0,19±0,006	0,17±0,006	0,24±0,006
C18:2cc	53,12±0,554	52,37±0,075	54,25±0,149	52,12±0,128	52,24±0,164	53,62±0,111
C20	0,40±0,014	0,37±0,006	0,37±0,010	0,43±0,052	0,37±0	0,29±0,015
C18:3t	1,38±0,029	2,42±0,040	0,61±0,010	0,70±0,010	0,90±0,020	1,32±0,191
C18:3c	5,49±0,048	5,07±0,029	6,58±0,072	6,13±0,017	6,77±0,015	7,35±0,078
C20:1	0,03±0	0,03±0,007	0,03±0	0,07±0,005	0,06±0	n.d.
C22	0,55±0,031	0,40±0,020	0,47±0,010	0,49±0,030	0,38±0	0,29±0,006
C22:1	0,06±0,007	n.d.	0,04±0	0,01±0,020	n.d.	n.d.
C24	0,16±0,015	0,11±0,014	0,15±0,006	0,17±0,018	0,11±0	0,08±0
Tot. trans	2,15±0,047	3,93±0,040	0,84±0,079	1,13±0,096	1,32±0,031	1,83±0,191

Tabela 9.1.5. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% de 6 óleos de soja estudados, numerados de 1 a 6

Os óleos de soja quando comercializados como tal, estremes, deverão apresentar uma composição em ácidos gordos que obedeça à descrita na NP-1539 (1978).

Das 6 amostras analisadas todas apresentavam composição concordante com a citada norma.

Trata-se de um tipo de óleo distinto dos dois tipos discutidos anteriormente. Distingue-se pelos teores de C_{18:3} (que variavam entre 5,07±0,029% e 7,35±0,078%) e pelos teores de C₁₆ (compreendidos entre 9,13±0,161% e 9,94±0,176%).

Sendo estes os ácidos gordos em que se verificavam maiores diferenças, era também detectável a menor percentagem de C₁₈, C_{18:2cc}, C₂₂ e C₂₄.

É o tipo de óleo mais rico em isómeros *trans*.

Destes, os mais abundantes eram os isómeros do ácido linolénico, cujos valores variavam entre 0,61±0,010% na amostra 3 e 2,42±0,040% na amostra 2.

Conforme já foi referido e mais uma vez se confirma, a presença de isómeros *trans* está relacionada com as condições de refinação.

Embora no óleo de soja os teores de C_{18:3} sejam relativamente elevados, em relação a outros tipos de óleo, verificou-se que os teores de ácido gordo isomerizado não estão dependentes do teor de ácido gordo não isomerizado.

Como exemplo citam-se as amostras 1 e 2 cujos teores de C_{18:3} eram respectivamente 5,49% e 5,07% e apresentavam 1,38% e 2,42% de isómeros *trans*. De modo diferente, as amostras 3 e 5, com teores da ordem dos 6% de C_{18:3} apresentavam isómeros *trans* de C_{18:3} na ordem dos 0,6-0,7%.

A discrepância de valores apresentados no teor total de isómeros *trans*, entre as amostras, verifica-se também com os isómeros do ácido linoleico.

A amostra 3 que apresentava a percentagem inferior de isómeros *trans* do C_{18:3} era também a que apresentava teores inferiores de isómeros do C_{18:2}.

Trata-se da amostra de maior qualidade de entre as 6 estudadas, ou seja, é o óleo que sofreu refinação em melhores condições e com menores efeitos pejorativos.

A amostra 2 é um óleo de soja de péssima qualidade, atendendo ao parâmetro visado, sendo o mais rico em isómeros *trans* e a única amostra em que são detectáveis teores de C_{18:2tt}.

Ac.gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	OI. Am. 1	OI. Am. 2	OI. Am. 3
C14	0,03±0	0,04±0	0,04±0
C15	0,01±0	0,01±0,005	0,01±0
C16	8,94±0,261	9,01±0,086	8,82±0,036
C16:1t	0,03±0,006	0,03±0	0,02±0
C16:1c	0,05±0	0,07±0	0,08±0,005
C17	0,06±0	0,09±0,006	0,06±0
C17:1	0,05±0	0,06±0	0,04±0,005
C18	2,15±0,015	2,97±0,024	4,02±0,024
C18:1t	0,02±0	0,04±0,006	0,04±0,005
C18:1c	41,09±0,184	45,71±0,156	46,57±0,146
C18:2tt	n.d.	0,01±0,006	n.d.
C18:2ct	0,04±0	0,27±0,019	0,36±0,026
C18:2tc	n.d.	0,21±0,019	0,27±0,054
C18:2cc	38,58±0,070	33,39±0,139	33,28±0,048
C20	1,11±0,031	1,21±0,006	1,36±0,015
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,03±0,006	0,04±0,040	n.d.
C20:1	2,09±0,025	1,45±0,038	0,98±0,042
C22	3,36±0,144	2,96±0,017	2,52±0,028
C22:1	0,04±0	0,04±0	n.d.
C24	2,04±0,119	1,70±0,076	1,45±0,189
Tot. trans	0,09±0,007	0,57±0,059	0,66±0,037

Tabela 9.1.6. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% de 3 óleos de amendoim estudados

Foram estudadas apenas três amostras de **óleo de amendoim**.

Este tipo de óleo foi largamente consumido umas décadas atrás, posteriormente perdeu mercado e actualmente tenta recuperar algum do seu prestígio passado, contudo apresenta um forte factor negativo, o seu elevado preço.

As amostras estudadas apresentavam percentagens relativas de ácidos gordos que se enquadram nos limites preconizados na NP-945 (1981) à excepção da amostra OI. Am. 1 que ultrapassava ligeiramente esses limites (C_{18:2} 38,58% e o máximo é 38%; C_{20:1} 2,09% e o máximo é 2%).

As características que melhor definem este tipo de óleo são os teores de C_{20:1}, C₂₂ e C₂₄, ácidos gordos presentes em percentagens muito superiores relativamente aos restantes tipos de óleos estudados.

Apresentam teores vestigiais de ácido linolénico e teores bastante inferiores de C_{18:2} (de 33,28% a 38,58%) comparativamente com os restantes tipos estudados (na ordem dos 60%).

É o tipo de óleo mais rico em ácido oleico (na ordem dos 45%) o que é uma característica muito favorável à luz dos conhecimentos actuais.

Por outro lado é o tipo de óleo com maior teor de ácidos gordos saturados (na ordem dos 18%).

Relativamente ao teor total de isómeros *trans* verificou-se que a amostra 1 era a que tinha menor percentagem (0,10±0,007%). As restantes apresentavam teores muito superiores (0,58% e 0,66%).

Dos isómeros *trans*, os mais abundantes eram os do C_{18:2}; não foram detectados isómeros do C_{18:3}; e o C_{18:1t} estava presente em quantidades vestigiais (0,02-0,04%).

O óleo de amendoim 1 é o produto de maior qualidade quanto ao parâmetro em questão, embora se desvie ligeiramente dos valores preconizados na NP-945 (1981). Trata-se do produto em que a refinação causou menores danos.

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	OI. milho 1	OI. milho 2
C14	0,03±0	0,03±0
C15	0,01±0	0,01±0
C16	9,62±0,141	9,53±0,111
C16:1t	0,03±0	0,03±0,006
C16:1c	0,10±0,004	0,10±0,006
C17	0,06±0,004	0,07±0
C17:1	0,03±0,004	0,03±0
C18	2,30±0,129	1,97±0
C18:1t	0,03±0,005	0,02±0,012
C18:1c	27,58±0,147	28,60±0,131
C18:2tt	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,26±0,024	0,06±0
C18:2tc	0,21±0,019	n.d.
C18:2cc	57,50±0,286	57,58±0,067
C20	0,42±0,008	0,40±0
C18:3t	0,10±0,021	0,05±0,006
C18:3c	0,94±0,036	1,07±0,006
C20:1	n.d.	n.d.
C22	0,16±0,022	0,13±0
C22:1	n.d.	0,03±0,026
C24	0,15±0,010	0,17±0,015
Tot. trans	0,63±0,024	0,16±0,006

Tabela 9.1.7. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% de 2 óleos de milho estudados

Nas duas amostras de **óleo de milho** analisadas, a diferença mais significativa era o teor total de ácidos gordos em configuração *trans* (0,63% e 0,16%), diferença esta devida, quase exclusivamente, aos isómeros *trans* do C_{18:2}.

A isomerização ocorrida com o C_{18:3} foi relativamente pequena, respectivamente 5% e 11% para as amostras 2 e 1.

A amostra 2 é a de melhor qualidade. A refinação teve menos efeitos negativos nesta amostra relativamente à amostra 1.

São produtos cuja composição em ácidos gordos obedece à NP- 946 (1981).

As figuras 9.1.1. e 9.1.2. comparam respectivamente os teores máximo e mínimo de ácidos gordos saturados dos 5 tipos de óleos estudados e o teor em ácido oleico, o ácido monoinsaturado mais abundante.

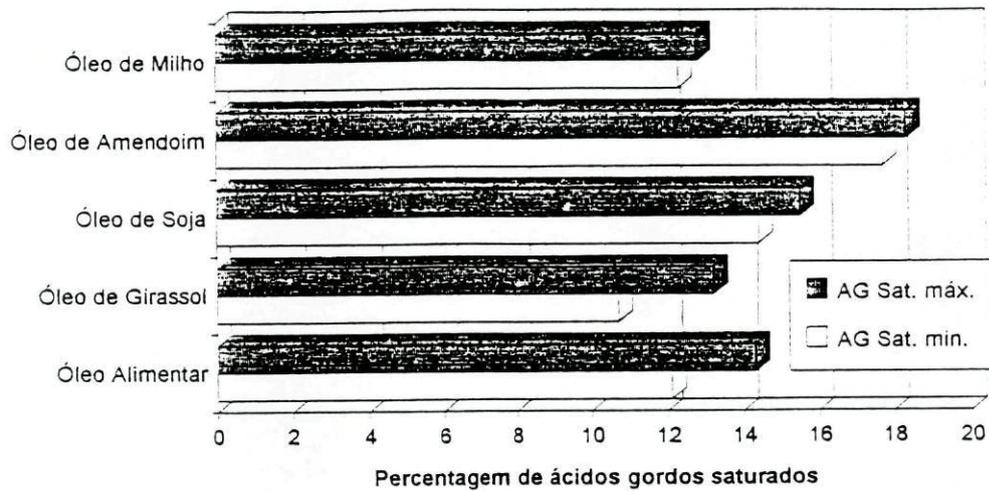


Figura 9.1.1. Teor de ácidos gordos saturados dos 5 tipos de óleos estudados

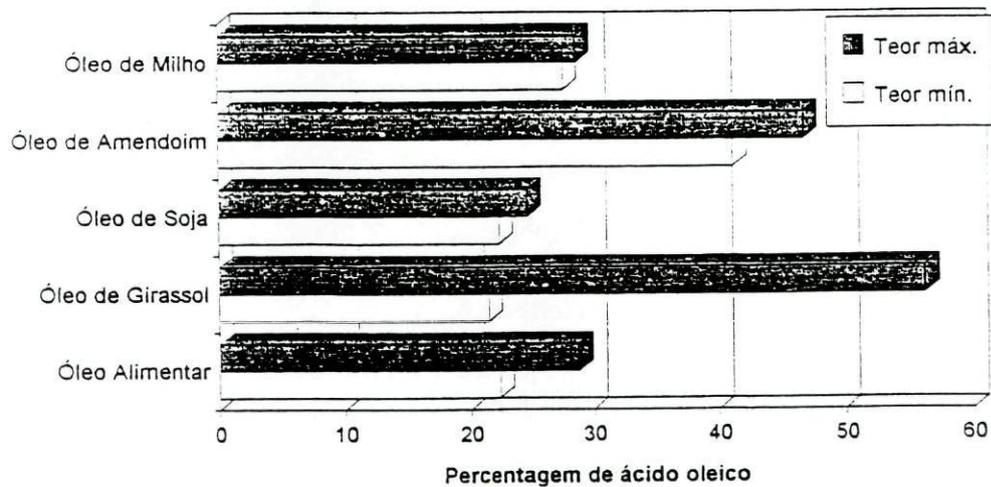


Figura 9.1.2. Teor de ácido oleico dos 5 tipos de óleos estudados

Verifica-se que o óleo de amendoim é o mais rico em ácidos gordos saturados seguido do óleo de soja. O mais pobre é o óleo de girassol.

Apreciando os teores percentuais de ácido oleico verifica-se que o óleo de girassol alto oleico é o óleo que apresenta teores superiores. Logo a seguir posiciona-se o óleo de amendoim. O tipo de óleo com teores inferiores de ácido gordo monoinsaturado é o óleo de soja.

A figura 9.1.3. compara os teores totais de isómeros *trans* das 40 amostras de óleos estudadas.

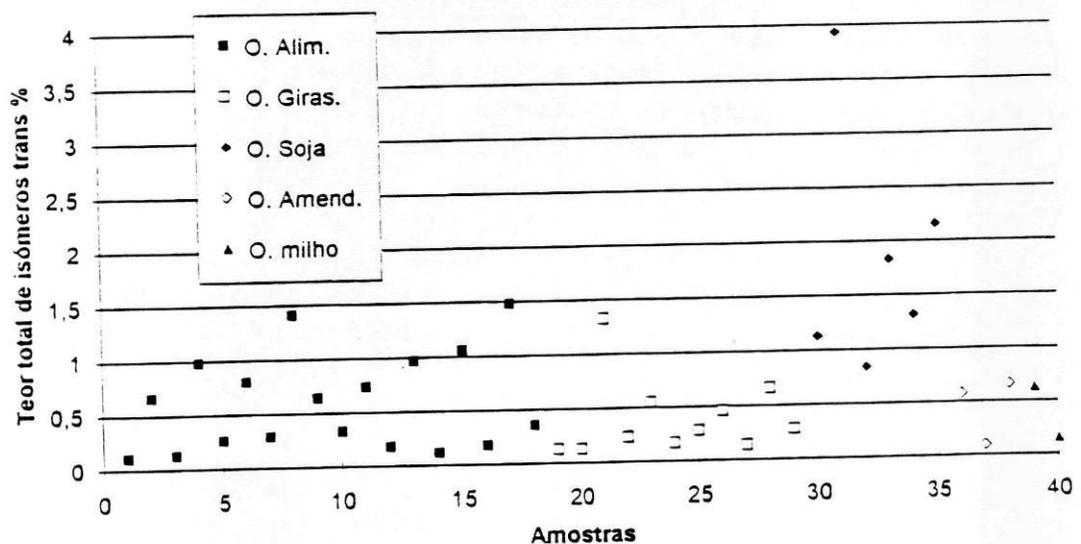


Figura 9.1.3. Teor percentual de ácidos gordos *trans* apresentado pelas 40 amostras estudadas pertencentes a 5 tipos de óleos vegetais

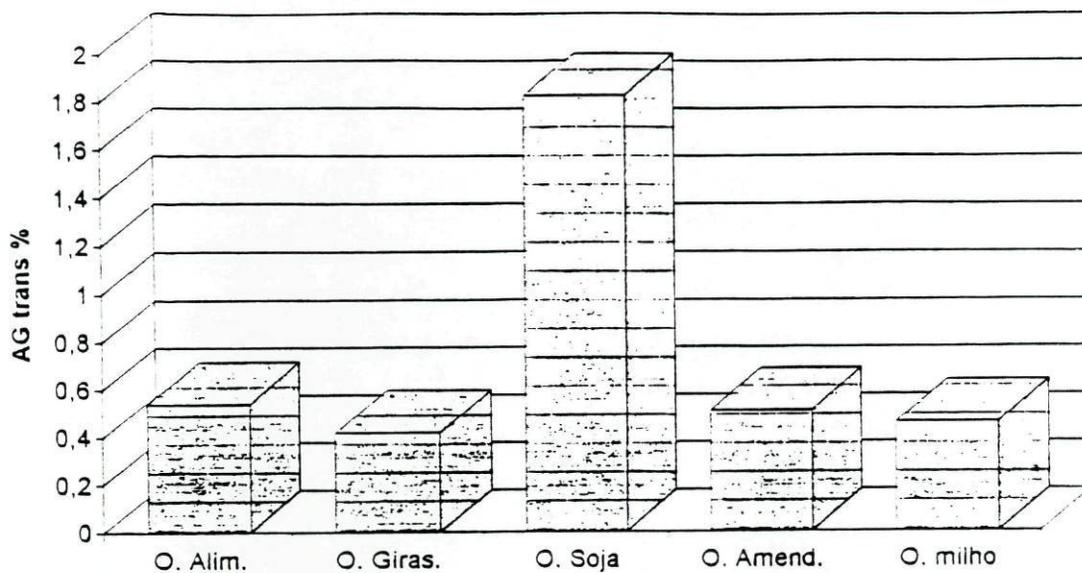


Figura 9.1.4. Valores médios de ácidos gordos *trans* (%) apresentados pelos 5 tipos de óleos estudados

Das 18 amostras de óleo alimentar estudadas,

- 50% apresentavam teores de isómeros *trans* inferiores a 0,5%;
- 33% (6 amostras) apresentavam teores compreendidos entre 0,5 e 1%;
- os restantes 17% (3 amostras) apresentavam teores de ácidos gordos *trans* compreendidos entre 1 e 1,5%.

Das 11 amostras de óleo de girassol avaliadas no estudo que se descreve,

- 73% (8 amostras) apresentavam teores totais de ácidos gordos *trans* inferiores a 0,5%;
- 18% (2 amostras) apresentam valores compreendidos entre 0,5 e 1%.
- Apenas 1 amostra apresentava valor superior a 1%, amostra esta que conforme já foi referido não obedece à NP-961 (1979).

Os teores de isómeros *trans* dos ácidos gordos insaturados apresentados pelos óleos de soja são os que maiores variações apresentam.

Das 6 amostras estudadas,

- apenas 1 apresentava teores compreendidos entre 0,5 e 1%;
- 2 amostras apresentavam teores compreendidos entre 1 e 1,5%;
- as restantes apresentavam valores superiores a 1,5%, tendo uma delas teores próximos de 4%.

Dos óleos de amendoim e de milho estudados, todas as amostras apresentavam teores inferiores a 1%.

Considerando a globalidade das amostras estudadas (40) verifica-se que :

- 48% apresentavam teores inferiores a 0,5%
- 30% apresentavam teores compreendidos entre 0,5 e 1%
- 15% apresentavam teores compreendidos entre 1 e 1,5%
- 7% apresentavam teores superiores a 1,5%

Em conclusão : os óleos vegetais não hidrogenados também contribuem para os valores de ingestão de isómeros *trans*, contrariamente ao referido por Craig-Schmidt, 1992.

Dos óleos vegetais analisados as amostras de óleo de soja são as que apresentam maiores teores.

A grande maioria da indústria portuguesa usa uma correcta técnica de refinação, contudo uma pequena franja necessita melhoramento.

Com excepção de 7% das 40 amostras analisadas, no que respeita aos teores globais de isómeros *trans*, a ingestão destes produtos parece não constituir preocupação em saúde pública.

9.2. MARGARINAS

Este tipo de produto alimentar foi alvo de um estudo químico comparativo entre 15 marcas de origem nacional (14 margarinas e 1 minarina) efectuado anteriormente.

Nesse estudo incluiu-se a determinação da humidade, do índice de peróxido, do índice de acidez e da pesquisa de amido, além da composição em ácidos gordos e esteróis da fracção lipídica, Oliveira *et al.*, 1991.

Verificou-se que a maioria das marcas de margarinas satisfaziam, quanto aos parâmetros analisados, os requisitos legais e as regras de rotulagem.

A minarina incluída no estudo, dado o seu elevado conteúdo de água (56,5%) fornecia menos de metade da energia, quando comparada com as margarinas.

Posteriormente avaliou-se, apenas em 8 marcas, a composição em ácidos gordos e isómeros *trans*. Os valores médios ($\bar{x}\pm sd$) dos 5 lotes de cada marca avaliada estão expressos na tabela 9.2.1.

A amostra com o número 8 era uma minarina.

As amostras 1, 4 e 6 eram margarinas de cozinha (Mc) e as restantes margarinas de mesa (Mm).

Na tabela 9.2.1. está incluído também o teor total de isómeros *trans* apresentado pela totalidade das amostras.

A tabela 9.2.2. inclui os valores médios ($\bar{x}\pm sd$), expressos em percentagem, do somatório de ácidos gordos essenciais, de ácidos gordos saturados, de ácidos gordos insaturados, bem como a relação ácidos gordos saturados/insaturados dos 5 lotes das margarinas estudadas.

Relativamente aos teores de C₈, C₁₀, C₁₂ e C₁₄ as amostras 2 e 5 eram as que apresentavam percentagens mais elevadas. Se, de acordo com o Report EUR 8752 EN do SCF, o C₁₄ é o ácido gordo que apresenta maior carácter aterogénico, a amostra 2 é a pior neste aspecto, seguida da amostra 5.

Os teores de C₁₆ variavam desde 9,85±0,178% na amostra 7 até 35,49±4,191% na amostra 4.

As percentagens de C₁₈ variavam entre 4,23±0,788% na amostra 2 e 14,04±1,1% na amostra 6.

Os teores de C₂₀ variavam entre 0,22±0,027% e 0,36±0,023%.

Os teores de C₂₂ variavam desde 0,09±0,044% a 0,46±0,065%.

O somatório de ácidos gordos saturados, consequentemente, apresentava também uma grande variação (de 22,97±0,202% na amostra 7 a um valor máximo de 47,05±1,808 na amostra 1).

Ac. Gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	1 (Mc)	2 (Mm)	3 (Mm)	4 (Mc)	5 (Mm)	6 (Mc)	7 (Mm)	8
C8	0,22±0,223	1,10±0,818	0,01±0,005	0,03±0,090	1,02±1,732	0,01±0,008	0,22±0,043	0,08±0,041
C10	0,19±0,214	1,02±0,592	0,01±0,004	0,02±0,007	0,89±1,438	0,01±0,004	0,21±0,022	0,07±0,031
C12	1,94±2,332	12,50±2,760	0,13±0,013	0,20±0,032	10,06±15,031	0,10±0,016	2,85±0,168	0,68±0,232
C14	1,46±0,765	4,64±1,093	0,62±0,028	0,85±0,140	2,98±3,254	0,56±0,024	1,06±0,059	0,51±0,136
C15	0,03±0,005	0,02±0,005	0,03±0,004	0,03±0,008	0,03±0	0,03±0,005	0,01±0,005	0,02±0,012
C16	34,58±3,798	19,10±1,701	28,41±0,635	35,49±4,191	24,91±3,393	25,90±0,409	9,85±0,178	17,59±2,393
C16:1t	0,02±0,004	0,02±0,005	0,01±0,011	0,02±0,013	0,01±0,008	0,01±0,008	0,01±0,004	0,01±0,005
C16:1c	0,10±0,015	0,10±0,008	0,11±0,016	0,11±0,017	0,09±0,018	0,05±0,004	0,09±0,012	0,08±0,012
C17	0,09±0,010	0,05±0,016	0,09±0,011	0,09±0,017	0,08±0,029	0,11±0,025	0,04±0,004	0,08±0,006
C18	7,92±1,097	4,23±0,788	5,38±0,430	5,05±0,362	5,59±1,840	14,04±1,012	7,97±0,041	5,81±0,362
C18:1t	8,76±1,518	0,34±0,158	12,75±0,942	7,52±2,780	5,12±2,367	5,78±0,471	0,27±0,019	7,42±1,433
C18:1c	30,93±2,848	25,63±1,945	32,28±0,824	34,68±0,974	25,90±7,537	16,71±1,182	23,91±2,021	24,52±1,266
C19	0,14±0,062	n.d.	0,10±0,038	0,08±0,033	0,05±0,047	0,01±0,022	0,01±0,031	0,10±0,077
C18:2tt	0,41±0,09	0,01±0,014	0,44±0,068	0,21±0,130	0,32±0,166	0,02±0,014	0,01±0,017	0,31±0,092
C18:2ct	0,63±0,269	0,09±0,013	0,38±0,058	0,26±0,810	0,46±0,191	0,23±0,054	0,05±0,004	0,46±0,244
C18:2tc	0,63±0,250	0,07±0,011	0,31±0,036	0,23±0,093	0,45±0,188	0,18±0,050	0,01±0,018	0,42±0,252
C18:2cc	8,58±0,908	29,96±5,640	14,98±0,634	12,23±1,276	17,64±4,371	30,48±0,664	52,08±1,794	33,97±0,782
C20	0,34±0,030	0,22±0,027	0,35±0,022	0,31±0,022	0,26±0,113	0,36±0,023	0,27±0,022	0,31±0,057
C18:3t	0,12±0,068	0,08±0,023	0,32±0,050	0,26±0,072	0,16±0,091	0,79±0,148	0,09±0,022	0,13±0,086
C18:3c	0,42±0,188	0,13±0,016	1,26±0,089	0,79±0,143	1,60±0,460	3,17±0,410	0,10±0,019	3,40±1,685
C22	0,12±0,034	0,20±0,062	0,19±0,019	0,09±0,044	0,13±0,085	0,19±0,028	0,46±0,065	0,24±0,076
Tot. trans	10,57±2,076	0,62±0,160	14,22±0,926	8,50±3,099	6,92±2,865	7,02±0,661	0,45±0,045	8,74±0,955

Tabela 9.2.1. Composição média em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% dos 5 lotes de cada uma das 8 marcas de margarinas estudadas

Amostras	Ac. Gord. Essenciais ($\bar{x}\pm sd$) %	Ac. Gord. Saturados ($\bar{x}\pm sd$) %	Ac. Gord. Insaturados ($\bar{x}\pm sd$) %	Rel. Ac. Gord. Sat./Insat.
1 (Mc)	9,00±0,998	47,05±1,808	50,60±1,940	0,93
2 (Mm)	30,09±5,646	43,09±5,359	56,43±5,120	0,76
3 (Mm)	16,24±0,718	35,33±0,700	62,84±0,994	0,56
4 (Mc)	13,03±1,417	42,23±4,213	56,32±3,750	0,75
5 (Mm)	19,24±4,829	45,44±16,531	51,76±15,272	0,88
6 (Mc)	33,65±1,066	41,33±0,796	57,44±0,623	0,72
7 (Mm)	52,18±1,796	22,97±0,202	76,63±0,401	0,3
8	37,36±1,683	25,51±2,303	70,70±2,823	0,36

Tabela 9.2.2. Somatório em ácidos gordos essenciais, saturados e insaturados e relação ácidos gordos saturados *versus* insaturados das 8 marcas (5 lotes) de margarinas estudadas

Estando a ingestão de ácidos gordos saturados associada à elevação do colesterol sérico e da LDL-colesterol e conseqüentemente ao maior risco de doença coronária, as amostras 7 e 8, são as que melhor correspondem a uma alimentação que fornece uma melhor qualidade de vida.

Dos ácidos gordos insaturados,

- o C_{16:1c} apresentava valores compreendidos entre 0,05±0,004% e 0,11±0,017%, sendo o menos abundante;
- o C_{18:1c} era dos mais abundantes, estando presente em percentagens que variavam de 16,71±1,182% a 34,68±0,974%;
- os teores de C_{18:2c} eram os que apresentavam maior discrepância, pois a amostra 1 tinha 8,58±0,908% e a amostra 7 apresentava 52,08±1,794%;
- os teores de C_{18:3c} variavam de 0,10±0,019% até 3,40±1,685.

Considerando o somatório de ácidos gordos insaturados, eram as amostras 7 e 8 as que maiores percentagens apresentavam.

Sendo actualmente aconselhada uma maior ingestão de ácidos gordos insaturados, relativamente aos saturados, a amostra 7 constitui uma fonte de gordura de qualidade, considerando este parâmetro.

O somatório de ácidos gordos essenciais, considerados os ácidos linoleico e linolénico, variava de $9,00 \pm 0,998\%$ na amostra 1 até $52,18 \pm 1,796\%$ na amostra 7.

Estando estes ácidos gordos associados à redução do colesterol sérico e sendo compostos com acção importante no metabolismo lipídico e precursores do ácido araquidónico, ponto de partida de variadíssimas classes de compostos, a amostra 7 é de longe a amostra melhor posicionada relativamente a este parâmetro, seguida da amostra 8.

As amostras 7 e 8 são também as que apresentam menor valor para a relação Sat./Insat.

Numa tentativa de distinguir as Mc das Mm verificou-se que duas das Mc apresentavam os valores mais baixos de ácidos gordos essenciais. Por outro lado as Mc apresentavam valores dos mais elevados relativamente aos ácidos gordos saturados e dos mais baixos relativamente a ácidos gordos insaturados. Pelo referido, não é possível distinguir estes 2 tipos de margarinas pela composição em ácidos gordos.

Esta dificuldade manter-se-à uma vez que há já no mercado produtos com dupla função, cozinha e mesa.

Outro tipo de constituintes indesejáveis, presentes na composição lipídica das margarinas, são os isómeros *trans* dos ácidos gordos insaturados.

Nas Mc os teores totais de isómeros *trans* variavam entre $7,02 \pm 0,661\%$ e $10,57 \pm 2,076\%$.

Nas Mm esses teores variavam entre $0,45 \pm 0,045\%$ e $14,22 \pm 0,926\%$.

Também os isómeros *trans* não permitem distinguir as margarinas de mesa das de cozinha.

Tratando agora os isómeros *trans* individualmente verificou-se que :

- o $C_{16:1t}$ estava presente em quantidades vestigiais (de $0,01 \pm 0,004\%$ a $0,02 \pm 0,013\%$);
- o $C_{18:1t}$ era o isómero mais abundante, apresentando teores que variavam de $0,27 \pm 0,019\%$ na amostra 7 a $12,75 \pm 0,942\%$ na amostra 3;
- estavam presentes todos os isómeros do ácido linoleico,
 - o $C_{18:2tt}$ desde teores vestigiais na amostra 7 ($0,01 \pm 0,017\%$) a $0,44 \pm 0,068\%$ na amostra 3,
 - o $C_{18:2ct}$ e o $C_{18:2tc}$ apresentando como valores mínimos $0,05 \pm 0,004\%$ e $0,01 \pm 0,018\%$ na amostra 7 e com valores máximos de $0,63 \pm 0,269$ e $0,63 \pm 0,250$ na amostra 1, respectivamente;
- os isómeros do $C_{18:3}$ apresentavam valores compreendidos entre $0,08 \pm 0,023\%$ na amostra 2 e $0,79 \pm 0,148\%$ na amostra 6.

Quanto à isomerização do ácido linolénico verifica-se que a amostra 6 era a que apresentava teores mais elevados dos seus isómeros, sendo no entanto das amostras com maior percentagem de C_{18:3}. A amostra 8 tinha teores semelhantes de ácido por isomerizar e revelou teores de isómeros *trans* muito inferiores aos da amostra 6. Tal facto poderá dever-se à técnica de modificação composicional utilizada e/ou ao tipo de matéria-prima usada.

Sendo a hidrogenação uma técnica também designada de endurecimento de óleos e gorduras e geralmente associada à formação de isómeros *trans*, verificou-se não haver correspondência entre o teor destes isómeros e o poder barrante da margarina.

Assim a amostra 6 era a que apresentava maior ponto de fusão e no entanto o seu teor de isómeros *trans* encontrava-se a meio da tabela de valores obtidos.

Verificou-se o inverso com a amostra 8 que, sendo das mais fluidas e consequentemente com melhor poder barrante, apresentava teores de isómeros *trans* superiores.

Parece ser de salientar o teor muito reduzido de isómeros *trans* apresentado pelas amostras 7 e 2, respectivamente 0,45±0,045% e 0,62±0,160%.

Possivelmente as gorduras que entram na sua composição não sofreram hidrogenação mas sim modificação, a partir das matérias-prima originárias, por interesterificação e/ou fraccionamento.

São 2 exemplos que demonstram ser possível produzir produtos de qualidade e com as características adequadas sem utilizar a hidrogenação e a consequente formação de isómeros *trans*.

A limitação do teor de formas *trans* nas margarinas não constitui exigência legal. A omissão dos seus teores no rótulo impede o consumidor de fazer uma escolha criteriosa dos produtos que mais lhe convêm, de entre os disponíveis no mercado.

Dos dados obtidos neste estudo parece ser possível afirmar que os produtos produzidos em Portugal são aceitáveis e mesmo de qualidade superior aos produtos equivalentes produzidos noutros países, Enig *et al.*, 1983, Hernández *et al.*, 1988, San Juan, 1991.

Outro objectivo do trabalho apresentado era, estudando 5 lotes de cada marca, testar a homogeneidade dos produtos produzidos.

Como não é obrigatório referir no rótulo a composição lipídica do produto, quisemos verificar se os industriais fazem a formulação dos produtos de acordo com a oferta de matéria-prima ou pelo contrário mantêm um determinado padrão de qualidade. Para isso fez-se um estudo comparativo dos 5 lotes de cada marca entre si. Verificou-se que, à excepção da amostra 5, todas as amostras apresentavam pequenas variações de lote para lote.

9.3 MANTEIGA DE CACAU E PRODUTOS SIMILARES UTILIZADOS COMO SEUS SUBSTITUTOS NA FABRICAÇÃO DO CHOCOLATE

Estes produtos entram na dieta dos portugueses por serem constituintes do chocolate, ou seja, constituem a fracção lipídica deste tipo de alimentos.

A determinação da composição em ácidos gordos e isómeros *trans*, visou controlar a qualidade das matérias utilizadas e testar a possibilidade de distinção dos diferentes tipos de substâncias entre si.

A tabela 9.3.1. apresenta a composição em ácidos gordos das 7 amostras de manteiga de cacau e a composição média do total de amostras.

A tabela 9.3.2. apresenta a composição em ácidos gordos das 4 amostras de CBE estudadas e a composição média do total de amostras.

A tabela 9.3.3. apresenta a composição em ácidos gordos de 3 amostras de chocolate adicionadas de 5% de CBE, de acordo com a informação do produtor. Para melhor apreciação dos resultados obtidos inclui também a composição média das amostras de manteiga de cacau (MC) e de CBEs estudadas.

As 7 amostras de MC, embora de diferentes origens, apresentavam composições muito semelhantes, como seria de esperar.

As maiores variações ocorreram:

- no ácido palmítico (C₁₆) entre 23,23 e 23,75%;
- no ácido esteárico (C₁₈) entre 36,54 e 38,20%;
- no ácido oleico (C_{18:1}) entre 33,16 e 34,49%;
- no ácido linoleico (C_{18:2}) entre 2,73 e 3,58%;
- e no ácido araquídico (C₂₀) entre 1,08 e 1,27%.

Relativamente à presença de isómeros *trans*, apenas 1 amostra apresentava níveis não detectáveis.

Em todas as amostras estavam ausentes isómeros *trans* do ácido linoleico e do ácido linolénico (C_{18:3}).

Do total de amostras estudadas apenas 4 apresentavam teores detectáveis de ácido eláidico (C_{18:1t}) os quais variavam entre 0,02 e 0,05%.

Apenas numa amostra não foi detectado o isómero *trans* do ácido palmitoleico (C_{16:1t}), apresentando todas as outras teores de 0,01%.

Considerando a percentagem total de isómeros *trans*, esta apresentava um valor máximo de 0,06%, tendo como valor médio das amostras estudadas 0,03%.

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	MC 1	MC 2	MC 3	MC 4	MC 5	MC 6	MC 7	MC
C12	n.d.							
C14	0,07±0,006	0,06±0	0,08±0	0,07±0	0,08±0	0,08±0,006	0,07±0	0,07±0,008
C15	0,02±0,006	0,02±0	0,02±0,005	0,02±0	0,02±0	0,03±0	0,02±0	0,02±0
C16	23,40±0,046	23,23±0,028	23,67±0,239	23,52±0,355	23,75±0,092	23,54±0,135	23,56±0,143	23,52±0,171
C16:1t	0,01±0,006	0,01±0	0,01±0	n.d.	0,01±0	0,01±0	0,01±0	0,01±0
C16:1c	0,20±0,006	0,19±0	0,21±0,015	0,18±0,015	0,20±0,013	0,20±0,006	0,20±0,012	0,20±0,013
C17	0,22±0,006	0,23±0	0,21±0,018	0,20±0,014	0,21±0	0,23±0	0,21±0,006	0,22±0,013
C17:1	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,005	0,03±0,007	n.d.	0,02±0,007	0,02±0
C18	37,32±0,157	38,20±0,141	37,42±0,368	36,89±0,179	36,54±0,077	37,94±0,059	37,15±0,091	37,35±0,575
C18:1t	0,03±0	0,02±0	n.d.	n.d.	0,05±0,013	0,03±0,006	n.d.	0,02±0,020
C18:1c	33,60±0,045	33,48±0,106	33,16±0,063	34,01±0,095	34,49±0,041	33,40±0,038	33,84±0,116	33,71±0,443
C18:2tt	n.d.							
C18:2ct	n.d.							
C18:2tc	n.d.							
C18:2cc	3,35±0,171	2,73±0,007	3,56±0,486	3,58±0,559	3,10±0,022	2,87±0,147	3,14±0,061	3,19±0,326
C20	1,22±0,012	1,27±0	1,08±0,085	1,11±0,069	1,09±0,049	1,23±0,006	1,16±0	1,17±0,090
C18:3t	n.d.							
C18:3c	0,21±0,006	0,22±0,007	0,19±0,023	0,20±0,010	0,22±0,006	0,21±0	0,21±0,007	0,21±0,013
C22	0,22±0	0,21±0,007	0,18±0,028	0,17±0,029	0,20±0,013	0,21±0,015	0,19±0,012	0,20±0,024
C24	0,11±0,017	0,11±0	0,09±0,017	0,10±0,007	0,09±0	0,10±0,006	0,10±0,007	0,10±0,010
Tot. Trans	0,05±0,007	0,03±0	0,01±0	n.d.	0,06±0,012	0,03±0,006	0,01±0	0,03±0,022

Tabela 9.3.1. Composição média em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% das amostras de manteiga de cacau (MC) e composição média do total de amostras

Ac.gord. ($\bar{x} \pm s$)%	CBE 1	CBE 2	CBE 3	CBE 4	CBE
C12	0,08±0,006	0,03±0	0,02±0	0,09±0,005	0,06±0,035
C14	0,47±0,008	0,42±0,010	0,49±0,006	0,44±0,010	0,46±0,031
C15	0,03±0	0,03±0,006	0,07±0	0,02±0,006	0,04±0,022
C16	31,57±0,079	30,25±0,324	36,79±0,121	32,71±0,215	32,83±2,825
C16:1t	0,01±0	n.d.	0,03±0	0,03±0	0,02±0,015
C16:1c	0,04±0,013	0,02±0	0,13±0	0,11±0,006	0,08±0,053
C17	0,10±0,005	0,10±0,005	0,01±0,017	0,01±0	0,06±0,052
C17:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18	25,56±0,292	31,52±0,143	25,76±0,065	27,24±0,119	27,52±2,770
C18:1t	0,16±0,012	0,11±0,039	0,08±0,024	0,28±0,026	0,16±0,088
C18:1c	36,02±0,124	32,23±0,093	32,07±0,065	34,48±0,203	33,70±1,898
C18:2tt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,05±0,007	0,04±0	0,07±0,015	0,06±0,024	0,06±0,013
C18:2tc	0,03±0	n.d.	n.d.	n.d.	0,08±0,015
C18:2cc	4,15±0,021	3,87±0,334	3,02±0,044	3,25±0,076	3,57±0,526
C20	0,97±0,025	1,11±0,040	1,15±0,017	0,98±0,035	1,05±0,091
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,20±0,021	0,11±0,010	0,08±0,006	0,12±0,008	0,13±0,051
C22	0,11±0,006	0,10±0,016	0,11±0,006	0,10±0,015	0,11±0,006
C24	0,06±0	0,07±0,025	0,10±0,015	0,09±0,005	0,08±0,018
Tot. Trans	0,25±0,015	0,15±0,039	0,18±0,032	0,37±0,036	0,24±0,098

Tabela 9.3.2. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* de amostras de "Cocoa Butter Equivalents" (CBE) e a composição média do total de amostras

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	Choc. 1	Choc. 2	Choc. 3	MC	CBE
C12	0,03±0	0,23±0,013	0,04±0	n.d.	0,06±0,035
C14	0,12±0	0,98±0,030	0,16±0,006	0,07±0,008	0,46±0,031
C15	0,02±0,005	0,21±0,008	0,02±0	0,02±0	0,04±0,022
C16	22,88±0,080	23,38±0,251	26,41±0,095	23,52±0,171	32,83±2,825
C16:1t	0,01±0	0,05±0,005	0,01±0,005	0,01±0	0,02±0,015
C16:1c	0,19±0,005	0,38±0,012	0,19±0	0,20±0,013	0,08±0,053
C17	0,19±0,009	0,25±0,004	0,20±0,008	0,22±0,013	0,06±0,052
C17:1	n.d.	0,05±0,009	n.d.	0,02±0	n.d.
C18	38,19±0,040	35,92±0,095	34,66±0,047	37,35±0,575	27,52±2,770
C18:1t	0,06±0,005	0,31±0,017	0,15±0,012	0,02±0,020	0,16±0,088
C18:1c	33,40±0,027	33,09±0,180	33,32±0,040	33,71±0,443	33,70±1,898
C18:2tt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,01±0	0,04±0	0,02±0,007	n.d.	0,06±0,013
C18:2tc	n.d.	0,07±0,006	n.d.	n.d.	0,08±0,015
C18:2cc	3,14±0,005	3,12±0,025	3,23±0,015	3,19±0,326	3,57±0,526
C20	1,22±0,011	1,13±0,012	1,09±0,005	1,17±0,090	1,05±0,091
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,22±0	0,30±0,031	0,22±0	0,21±0,013	0,13±0,051
C22	0,19±0,011	0,19±0,012	0,17±0,015	0,20±0,024	0,11±0,006
C24	0,10±0,008	0,09±0,013	0,11±0,006	0,10±0,010	0,08±0,018
Tot. Trans	0,08±0,008	0,32±0,142	0,17±0,015	0,03±0,022	0,24±0,098

Tabela 9.3.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* de amostras de chocolate adicionadas de 5% de CBE e valores médios das amostras de manteiga de cacau (MC) e de CBE estudadas

As 4 amostras de CBE estudadas, com nomes comerciais diferentes, apresentavam composições em ácidos gordos bastante diversas. Tal facto, dever-se-à provavelmente à diferente origem da matéria-prima de partida ou à diferente técnica de obtenção destes produtos.

Comparando as 4 amostras entre si, verifica-se que:

Os teores de C₁₂, C_{16:1c}, C₁₇ e C_{18:3} eram os que apresentam maior variação.

Quanto ao teor total de isómeros *trans* nas amostras, este variava entre 0,15 e 0,37%.

Todas as amostras apresentavam isómeros *trans* do ácido oleico (variação entre 0,08% e 0,28%) e do ácido linoleico (variação entre 0,04% e 0,08%).

Nenhuma amostra apresentava teores detectáveis de C_{18:3t}.

Apenas 1 amostra não continha C_{16:1t}, variando este isómero nas restantes entre 0,01 e 0,03%.

A diferença de teores apresentada pelos isómeros *trans* do ácido oleico e do ácido linoleico está em consonância com a quantidade de cada um destes ácidos presentes no produto (ácido oleico 32,07-36,02% e ácido linoleico 3,02-4,15%).

Comparando as amostras de MC com as amostras de CBE verifica-se que apresentavam diferenças significativas ao nível do C₁₂, C₁₆, C_{16:1c}, C₁₇, C_{17:1}, C₁₈, C₂₀, C₂₂, e no teor total de isómeros *trans*.

Individualmente os isómeros *trans* não apresentavam diferenças significativas, uma vez que se tratava de 4 amostras de CBE de diferentes origens e consequentemente com teores de isómeros *trans* muito afastados, dificultando a obtenção de valores significativamente diferentes.

Por observação dos valores da composição em ácidos gordos da mistura MC+5% CBE (Choc.) verifica-se:

- A amostra 2 diferia das restantes no que respeita aos teores dos ácidos gordos com peso molecular inferior a C₁₆ e aos teores de C_{16:1c}, para os quais apresentava valores muito superiores.

Os teores de C_{18:3} eram ligeiramente superiores.

O teor total de isómeros *trans* era também superior, relativamente às restantes amostras.

Por tudo isto, parece estar-se perante um produto que contém gordura de leite. Esta última pode apresentar um teor de isómeros *trans* compreendido entre 1,9% e 8,6%, Craig-Schmidt, 1992, pelo que o parâmetro "isómeros *trans*" não permite a detecção de um substituto da MC em amostras de chocolate de leite.

Comparando esta amostra com o valor médio obtido com as amostras de MC verifica-se que apresentava diferenças significativas para os ácidos gordos C₁₂, C₁₄, C₁₅, C_{16:1c}, C₁₈ e C_{18:3}.

Todos os isómeros *trans* eram relativamente abundantes, especialmente o C_{18:1f}.

- Na amostra Choc. 3 os valores apresentados pelos ácidos gordos C₁₄, C₁₆, C₁₈, C₂₀ e C₂₂ são intermédios entre os apresentados pelas MC e pelos CBE, o que permite afirmar que 5% de CBE no chocolate provoca uma alteração detectável na composição em ácidos gordos.

A alteração mais evidente surgiu nas percentagens de C₁₆ e C₁₈ tal como acontece nas matérias-primas.

Relativamente ao teor total de isómeros *trans*, o seu valor aproxima-se mais dos teores médios apresentados pelos CBE que pelos apresentados pelas MC.

- A amostra Choc. 1 é a que mais se aproxima da composição média apresentada pelas MC.

No entanto, as percentagens apresentadas para o C₁₆ e C₁₈ são diversas quer das MC quer dos CBE. No caso da percentagem de C₁₆ o seu valor era inferior ao apresentado pelas MC e no caso do C₁₈ era superior.

Parece estar-se perante um tipo de CBE diverso dos estudados na parte inicial do trabalho.

Tratar-se-à de um produto obtido a partir de uma matéria-prima diferente ou tratado com uma técnica de modificação diversa.

A composição total em isómeros *trans* igualmente se aproxima mais do valor apresentado pelas MC, pelo que apenas pelo seu teor não seria possível confirmar a presença de um substituto da MC na sua composição.

Conclusão: As ilacções a retirar neste trabalho são em parte uma confirmação do obtido em trabalhos anteriores, Oliveira *et al.*, 1988, Oliveira *et al.*, 1990. Sendo relativamente fácil tipificar as diversas matérias-primas e distingui-las entre si, o mesmo não acontece com o chocolate e os sucedâneos de chocolate.

De acordo com a Directiva 73/241/CEE, e as suas alterações posteriores, não é permitido o uso de qualquer outra gordura no chocolate para além da manteiga de cacau e da gordura de leite. Quando esta observância não seja respeitada o produto deverá ter a designação de venda de "sucedâneo de chocolate".

No trabalho apresentado verifica-se que nas 3 amostras de chocolate adicionadas de 5% de CBE, que com rigor se deveriam designar por sucedâneos de chocolate, as composições em ácidos gordos se afastam do valor médio das MC.

Se se tratasse de produtos de composição desconhecida poderia afirmar-se estar perante sucedâneos ou, para maior segurança, perante produtos suspeitos de conterem uma gordura diversa da MC.

Pelo referido, a determinação da composição em ácidos gordos e em isómeros *trans* pode ser utilizada numa triagem inicial de controlo de qualidade da gordura dos chocolates e como auxiliar do cumprimento da designação a inscrever no rótulo, "chocolate" ou "sucedâneo de chocolate".

Em caso de suspeita terá de encontrar-se uma confirmação com outros parâmetros, como por exemplo, com a composição em esteróis e/ou em triglicéridos.

9.4. ÓLEOS VEGETAIS AQUECIDOS EM ESTUFA

Tendo uma panorâmica geral da composição em ácidos gordos e isómeros *trans* dos óleos vegetais refinados, tentou verificar-se o que ocorria quando do seu aquecimento.

Na sequência do trabalho apresentado procedeu-se ao estudo comparativo do comportamento, de 5 tipos de óleos vegetais, óleo de milho, óleo de girassol, óleo de soja, óleo alimentar e azeite, com o aquecimento contínuo em estufa, a $145 \pm 5^\circ\text{C}$.

Incluíram-se no estudo o óleo alimentar, o óleo de girassol e o óleo de soja por serem dos mais consumidos no mercado português; o óleo de milho por se tratar de um óleo polinsaturado aconselhado para tempero; e por último o azeite por ser considerado o tipo de óleo ideal de acordo com as actuais teorias de alimentação racional.

Neste capítulo apresenta-se e discute-se apenas a evolução da composição em ácidos gordos e isómeros *trans* dos óleos aquecidos em estufa, em processo contínuo.

As tabelas 9.4.1. a 9.4.5. inscrevem a evolução dos valores percentuais da composição em ácidos gordos, obtidos ao longo do aquecimento das 5 amostras de óleo estudadas.

A figura 9.4.1. representa graficamente a evolução dos teores de ácidos gordos *trans* das 5 amostras, ao longo dos diferentes tempos de aquecimento.

Todas as amostras apresentavam composições em ácidos gordos que obedeciam às respectivas normas de "Definição, características e acondicionamento" de óleos e gorduras comestíveis.

De acordo com Dobarganes *et al.*, 1988, durante o tratamento térmico de óleos os ácidos gordos saturados não sofrem alteração. Pelo contrário os ácidos gordos insaturados sofrem oxidação e possivelmente também isomerização *cis/trans*.

As figuras 9.4.2. a 9.4.4. comparam os teores, na fase inicial e após tratamento térmico, dos ácidos gordos insaturados dos 5 tipos de óleos estudados, ácido oleico, linoleico e linolénico respectivamente, expressos em mg/100mg.

A figura 9.4.5. compara o teor total de ácidos gordos *trans*, na fase inicial e após tratamento térmico, dos 5 tipos de óleo estudados.

Amostra 1 Ac. Gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	0	1	3	5	10	24	48	72	96
C14	0,03±0	0,03±0,005	0,03±0	0,03±0,005	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,04±0,006
C15	0,01±0	0,01±0	0,02±0,006	n.d.	0,02±0,005	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,01±0,006
C16	9,62±0,141	9,95±0,084	10,08±0,017	10,05±0,041	10,00±0,166	10,18±0,055	10,20±0,041	10,40±0,184	10,98±0,051
C16:1t	0,03±0	0,03±0,006	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,03±0,006	0,03±0,006	0,03±0	0,04±0,006
C16:1c	0,10±0,004	0,11±0,006	0,10±0,010	0,10±0	0,10±0,005	0,10±0,013	0,10±0,006	0,10±0,007	0,11±0,006
C17	0,06±0,004	0,07±0,015	0,07±0,006	0,07±0,006	0,06±0,006	0,06±0,006	0,06±0	0,06±0	0,07±0
C17:1	0,03±0,004	0,03±0,010	0,03±0,005	0,03±0,006	0,02±0,004	0,02±0	0,03±0,005	0,02±0,006	0,03±0,006
C18	2,30±0,129	2,23±0,017	2,19±0,071	2,24±0,018	2,20±0,032	2,18±0,046	2,21±0,034	2,29±0,035	2,41±0,010
C18:1t	0,03±0,005	0,03±0,006	0,03±0,006	0,04±0,006	0,04±0,005	0,03±0,010	0,04±0,006	0,05±0	0,08±0,012
C18:1c	27,58±0,147	27,58±0,057	27,81±0,097	27,65±0,030	27,81±0,152	27,72±0,071	28,01±0,087	28,34±0,110	28,28±0,040
C18:2tt	n.d.	0,04±0,015							
C18:2ct	0,26±0,024	0,28±0,054	0,23±0,024	0,25±0,013	0,23±0,004	0,20±0,036	0,24±0,022	0,24±0,015	0,30±0,010
C18:2tc	0,21±0,019	0,22±0,025	0,21±0,005	0,22±0,013	0,21±0,005	0,22±0,024	0,21±0,015	0,22±0,006	0,25±0,010
C18:2cc	57,50±0,286	57,08±0,206	57,21±0,163	57,30±0,067	57,55±0,169	57,51±0,206	57,00±0,142	56,34±0,101	54,49±0,031
C20	0,42±0,008	0,41±0,008	0,38±0,017	0,43±0,013	0,39±0,015	0,33±0,081	0,39±0,010	0,40±0,017	0,44±0,010
C18:3 out.	0,10±0,021	0,33±0,017	0,29±0,028	0,32±0	0,26±0,018	0,26±0,026	0,25±0,018	0,24±0,036	0,34±0,020
C18:3ccc	0,94±0,036	0,73±0,018	0,73±0,010	0,74±0,021	0,70±0,019	0,73±0,012	0,67±0,005	0,66±0,021	0,61±0,010
C22	0,16±0,022	0,15±0,031	0,18±0,021	0,15±0,040	0,13±0,030	0,13±0,036	0,15±0,014	0,14±0,036	0,17±0
Pico desc. 1	n.d.	0,65±0,012							
Pico desc. 2	n.d.	0,03±0,058							
Pico desc. 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07±0,007	n.d.	n.d.	0,09±0,015
C24	0,15±0,010	0,14±0,025	0,16±0,042	0,19±0,025	0,12±0,025	0,19±0,041	0,18±0,017	0,20±0,046	0,27±0,040
Total trans	0,63±0,024	0,87±0,121	0,79±0,045	0,85±0,026	0,75±0,014	0,75±0,070	0,79±0,051	0,79±0,028	1,05±0,025

Tabela 9.4.1. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% da amostra 1, óleo de milho, antes (0) e após aquecimento respectivamente durante 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, em contínuo, em estufa, à temperatura de 145±5°C

Amostra 2 Ac. Gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	0	1	3	5	10	24	48	72	96
C14	0,06±0	0,07±0,006	0,07±0	0,08±0,005	0,08±0,005	0,07±0,005	0,07±0,006	0,09±0,004	0,09±0,006
C15	0,03±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,03±0,008	0,02±0,005	0,03±0	0,06±0,006	0,03±0,010
C16	7,09±0,115	6,92±0,049	6,95±0,135	7,07±0,102	7,00±0,075	7,08±0,067	7,11±0,066	7,64±0,062	8,01±0,076
C16:1t	0,02±0,004	0,02±0,006	0,02±0	0,02±0	0,02±0,005	0,01±0,005	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16:1c	0,14±0,005	0,13±0,006	0,13±0,006	0,14±0,005	0,14±0,004	0,14±0,005	0,13±0	0,14±0,017	0,15±0
C17	0,04±0,004	0,04±0,006	0,04±0,005	0,05±0,006	0,04±0,012	0,04±0,005	0,04±0,006	0,04±0,005	0,05±0,006
C17:1	0,02±0,005	0,02±0	0,03±0	0,03±0,006	0,02±0,004	0,02±0	0,02±0,006	0,03±0,008	0,03±0,006
C18	4,80±0,123	4,95±0,017	4,83±0,059	4,84±0,046	4,81±0,061	4,89±0,040	5,00±0,012	5,37±0,025	5,60±0,006
C18:1t	0,03±0	0,03±0	0,03±0	0,03±0,010	0,03±0,011	0,03±0,013	0,04±0,006	0,06±0,008	0,14±0,012
C18:1c	25,63±0,310	26,97±0,061	26,87±0,089	26,36±0,382	26,78±0,242	27,00±0,090	27,28±0,055	28,78±0,166	28,86±0,390
C18:2t	n.d.	0,05±0							
C18:2c	0,22±0,008	0,20±0,006	0,21±0,013	0,23±0,010	0,19±0,033	0,19±0,023	0,21±0,010	0,24±0,063	0,25±0
C18:2cc	0,17±0,017	0,17±0	0,17±0,010	0,19±0,010	0,17±0,013	0,18±0,010	0,19±0,006	0,19±0,013	0,21±0
C18:2cc	59,13±0,350	58,63±0,125	58,53±0,215	58,78±0,117	58,83±0,323	58,59±0,198	58,04±0,075	54,81±0,226	52,97±0,086
C20	0,32±0,014	0,34±0,006	0,33±0,005	0,33±0,013	0,32±0,026	0,30±0,036	0,34±0	0,37±0,026	0,39±0,010
C18:3 out.	0,13±0,031	0,11±0,007	0,09±0	0,12±0,006	0,09±0,010	0,09±0,014	0,10±0,012	0,11±0,021	0,12±0,012
C18:3ccc	0,18±0,010	0,18±0,021	0,18±0,021	0,18±0,008	0,17±0,016	0,17±0,014	0,16±0,010	0,14±0,017	0,13±0,012
C22	0,67±0,047	0,78±0,015	0,69±0,051	0,75±0,026	0,70±0,043	0,70±0,067	0,77±0,017	0,81±0,047	0,86±0,015
Pic. desc. 1	0,70±0,028	n.d.	n.d.	0,75±0,007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,71±0,042
Pic. desc. 2	n.d.	0,05±0,007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,10±0	0,36±0,012
Pic. desc. 3	0,08±0	0,17±0,035	n.d.	0,09±0,007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12±0,010
Pic. desc. 4	0,06±0	n.d.	n.d.	0,07±0,007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12±0,021
C24	0,21±0,029	0,22±0,015	0,21±0,010	0,23±0,047	0,29±0,055	0,22±0,096	0,32±0,049	0,34±0,050	0,63±0,035
Total trans	0,53±0,041	0,51±0,014	0,51±0	0,60±0	0,48±0,040	0,49±0,040	0,56±0,015	0,61±0,092	0,74±0,036

Tabela 9.4.2. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% da amostra 2, óleo de girassol, antes (0) e após aquecimento respectivamente durante 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, em contínuo, em estufa, à temperatura de 145±5°C

Amostra 3 Ac. Gord ($\bar{x} \pm sd$)%	0	1	3	5	10	24	48	72	96
C14	0,07±0,006	0,07±0,005	0,07±0,004	0,07±0,004	0,07±0,004	0,07±0,006	0,07±0	0,07±0	0,07±0
C15	0,01±0	0,02±0,004	0,01±0	0,02±0	0,02±0	0,01±0	0,02±0,004	0,03±0	0,02±0
C16	9,93±0,309	10,44±0,109	10,42±0,058	10,45±0,057	10,51±0,054	10,58±0,036	10,73±0,026	10,94±0,122	11,29±0,085
C16:1t	0,01±0	0,01±0,006	0,02±0,007	0,01±0	n.d.	0,01±0	0,01±0	n.d.	0,01±0
C16:1c	0,07±0	0,06±0,015	0,07±0,008	0,07±0,009	0,06±0,011	0,08±0,006	0,06±0,014	0,07±0,017	0,08±0
C17	0,09±0,006	0,07±0,018	0,07±0,014	0,08±0,011	0,08±0,013	0,08±0	0,06±0,012	0,08±0	0,10±0
C17:1	0,04±0	0,05±0,008	0,04±0	0,04±0,008	0,04±0,005	0,04±0,006	0,04±0,005	0,04±0	0,05±0,007
C18	3,89±0,049	3,89±0,197	3,98±0,096	3,95±0,011	3,85±0,067	3,88±0,055	3,95±0,061	4,11±0,035	4,32±0,021
C18:1t	0,03±0,005	0,04±0,015	0,04±0	0,03±0,006	0,04±0,017	0,05±0,006	0,03±0,006	0,05±0,006	0,10±0,007
C18:1c	23,20±0,233	23,51±0,127	23,55±0,123	23,61±0,108	23,48±0,080	23,59±0,202	23,90±0,142	24,34±0,101	23,31±0,007
C18:2tt	n.d.	0,04±0,007							
C18:2ct	0,42±0,015	0,37±0,038	0,41±0,012	0,39±0,005	0,36±0,012	0,41±0,015	0,31±0,019	0,40±0,006	0,46±0,007
C18:2tc	0,33±0,049	0,37±0,019	0,38±0,012	0,36±0,005	0,39±0,008	0,37±0,029	0,36±0,012	0,38±0,012	0,40±0,014
C18:2cc	53,12±0,554	53,10±0,464	52,98±0,179	53,28±0,093	53,26±0,191	52,95±0,225	52,85±0,207	52,10±0,071	50,53±0,049
C20	0,40±0,014	0,34±0,047	0,39±0,010	0,39±0,013	0,36±0,010	0,37±0,010	0,33±0,010	0,38±0,021	0,43±0,007
C18:3 out.	1,38±0,029	1,39±0,120	1,52±0,041	1,47±0,021	1,45±0,022	1,50±0,131	1,24±0,006	1,39±0,025	1,44±0,007
C18:3ccc	5,49±0,048	5,13±0,049	5,11±0,036	5,14±0,040	5,21±0,038	5,10±0,035	5,13±0,075	4,75±0,031	4,36±0,014
C20:1	0,03±0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,02±0	0,05±0,013	n.d.	0,05±0
C22	0,55±0,031	0,40±0,077	0,45±0,035	0,45±0,025	0,42±0,024	0,44±0,040	0,38±0,037	0,47±0,015	0,52±0,007
C22:1	0,06±0,007	n.d.	0,05±0,007						
C24	0,16±0,015	0,21±0,049	0,16±0,032	0,13±0,015	0,15±0,019	0,17±0,026	0,20±0,015	0,20±0,044	0,28±0,014
Pico desc.1	n.d.	1,61±0,120							
Pico desc.2	n.d.	0,10±0,007							
Total trans	2,15±0,047	2,26±0,040	2,25±0,015	2,33±0,047	2,22±0,036	2,34±0,168	1,95±0,032	2,23±0,038	2,43±0

Tabela 9.4.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% da amostra 3, óleo de soja, antes (0) e após aquecimento respectivamente durante 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, em contínuo, em estufa, à temperatura de 145±5°C

Amostra 4 Ac. Gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	0	1	3	5	10	24	48	72	96
C14	0,07±0	0,07±0,007	0,06±0	0,07±0,006	0,06±0	0,06±0,005	0,07±0,007	0,07±0,006	0,07±0,004
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0,004	0,02±0	0,01±0,005	0,03±0,005	0,03±0	0,02±0,005	0,03±0,007
C16	7,09±0,066	6,94±0,055	6,94±0,063	6,95±0,049	6,98±0,049	7,01±0,074	7,12±0,042	7,23±0,036	7,62±0,025
C16:1t	0,02±0	0,01±0,006	0,01±0	0,02±0	0,01±0	0,03±0	0,01±0	0,01±0	0,02±0,005
C16:1c	0,08±0,006	0,09±0,010	0,08±0,008	0,09±0,006	0,07±0,014	0,08±0,008	0,06±0,015	0,08±0,005	0,09±0,006
C17	0,05±0	0,06±0,006	0,05±0,004	0,05±0,006	0,05±0,004	0,06±0,008	0,05±0,007	0,05±0,005	0,06±0,007
C17:1	0,03±0,005	0,03±0,006	0,03±0,004	0,03±0	0,02±0,005	0,03±0,005	0,03±0	0,03±0	0,03±0
C18	4,70±0,031	4,73±0,028	4,71±0,024	4,68±0,031	4,66±0,055	4,65±0,050	4,73±0,021	4,88±0,034	5,03±0,022
C18:1t	n.d.	0,03±0,007	0,02±0	0,03±0,006	0,03±0	0,03±0	0,04±0	0,05±0,006	0,08±0,010
C18:1c	21,45±0,320	22,14±0,095	21,99±0,096	21,24±0,087	22,03±0,137	22,16±0,235	22,37±0,071	22,71±0,014	22,36±0,084
C18:2t	n.d.	n.d.	n.d.	0,01±0	n.d.	n.d.	n.d.	0,05±0	0,05±0,006
C18:2ct	0,48±0,012	0,45±0,040	0,44±0,017	0,48±0	0,44±0,014	0,44±0,044	0,39±0,023	0,44±0,005	0,49±0,007
C18:2c	0,43±0,008	0,43±0,023	0,41±0,058	0,42±0,010	0,43±0,016	0,40±0,049	0,42±0,005	0,42±0,015	0,44±0,013
C18:2cc	62,00±0,121	61,82±0,274	61,87±0,300	61,96±0,175	62,19±0,205	62,04±0,281	61,79±0,085	60,87±0,061	59,41±0,062
C20	0,31±0,009	0,32±0,006	0,32±0,012	0,31±0,006	0,28±0,043	0,30±0,015	0,27±0,007	0,32±0,005	0,33±0,005
C18:3 out.	0,41±0,069	0,38±0,040	0,40±0,028	0,47±0,021	0,40±0,046	0,39±0,055	0,22±0,017	0,37±0,014	0,40±0,038
C18:3ccc	1,27±0,020	1,27±0,021	1,28±0,023	1,28±0,012	1,28±0,018	1,27±0,027	1,25±0,017	1,17±0,024	1,09±0,015
C20:1	n.d.	0,02±0	0,03±0,006						
C22	0,71±0,036	0,72±0,015	0,72±0,019	0,75±0,047	0,67±0,024	0,67±0,058	0,64±0,021	0,74±0,031	0,74±0,013
C24	0,17±0,023	0,21±0,010	0,18±0,019	0,23±0,020	0,19±0,022	0,20±0,028	0,24±0,021	0,30±0,025	0,36±0,024
Pico desc.1	0,78±0,041	n.d.	n.d.	0,73±0,046	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,82±0,066
Pico desc.2	n.d.	0,05±0,014							
Pico desc.3	n.d.	0,05±0							
Pico desc.4	n.d.	0,11±0,007	0,14±0,018						
Total trans	1,33±0,092	1,29±0,036	1,25±0,040	1,42±0,010	1,29±0,067	1,26±0,110	1,05±0,035	1,32±0,030	1,47±0,041

Tabela 9.4.4. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% da amostra 4, óleo alimentar, antes (0) e após aquecimento respectivamente durante 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, em contínuo, em estufa, à temperatura de 145±5°C

Amostra 5 Ac. Gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	0	1	3	5	10	24	48	72	96
C14	0,01±0	n.d.	0,01±0						
C15	n.d.	0,01±0							
C16	9,67±0,053	9,78±0,093	9,67±0,021	9,53±0,205	9,82±0,091	9,73±0,059	9,91±0,031	9,96±0,111	10,28±0,079
C16:1t	0,11±0	0,07±0,052	0,08±0	0,10±0,006	0,07±0,012	0,09±0,006	0,09±0,007	0,07±0,008	0,11±0,013
C16:1c	0,43±0,013	0,43±0,017	0,43±0,007	0,44±0,010	0,45±0,012	0,42±0,015	0,46±0,028	0,47±0,017	0,43±0,021
C17	0,16±0,014	0,17±0,017	0,16±0	0,16±0,013	0,17±0,006	0,15±0,015	0,17±0	0,18±0,007	0,16±0,013
C17:1	0,24±0,010	0,22±0,020	0,21±0,007	0,22±0,013	0,23±0,006	0,23±0	0,23±0,014	0,22±0,022	0,24±0,017
C18	3,11±0,008	3,08±0,046	2,97±0,106	3,02±0,143	3,05±0,046	3,02±0,059	3,14±0,044	3,14±0,031	3,24±0,083
C18:1t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,03±0	0,06±0,007	0,18±0,017
C18:1c	76,26±0,092	76,61±0,225	77,14±0,120	76,33±0,302	76,48±0,045	77,13±0,081	76,79±0,191	76,97±0,260	77,10±0,606
C18:2tt	n.d.								
C18:2ct	n.d.								
C18:2tc	n.d.								
C18:2cc	7,90±0,030	7,69±0,067	7,65±0,021	7,67±0,032	7,72±0,055	7,54±0	7,37±0,065	7,05±0,072	6,32±0,105
C20	0,43±0,010	0,37±0,036	0,37±0,021	0,40±0,023	0,40±0,006	0,39±0,020	0,39±0,025	0,38±0,029	0,43±0,031
C18:3 out.	0,24±0,027	0,20±0	0,19±0,007	0,21±0,017	0,18±0,042	0,20±0,006	0,17±0	0,18±0,007	0,24±0,021
C18:3ccc	0,77±0,030	0,73±0,007	0,67±0	0,69±0,010	0,76±0,014	0,63±0,022	0,72±0,028	0,68±0,049	0,47±0,010
C22	0,08±0,019	0,11±0,015	0,09±0	0,10±0,025	0,09±0,010	0,10±0	0,11±0,007	0,10±0,013	0,11±0,012
C24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,05±0	n.d.	n.d.	n.d.	0,08±0,021
Pico desc.1	0,57±0,053	0,48±0,023	0,44±0,014	0,46±0,021	0,56±0,021	0,41±0,058	0,45±0	0,45±0,069	0,39±0,171
Total trans	0,35±0,014	0,27±0,028	0,27±0,007	0,31±0,023	0,25±0,057	0,29±0,010	0,28±0,007	0,31±0,007	0,53±0,026

Tabela 9.4.5. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% da amostra 5, azeite, antes (0) e após aquecimento respectivamente durante 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, em contínuo, em estufa, à temperatura de 145±5°C

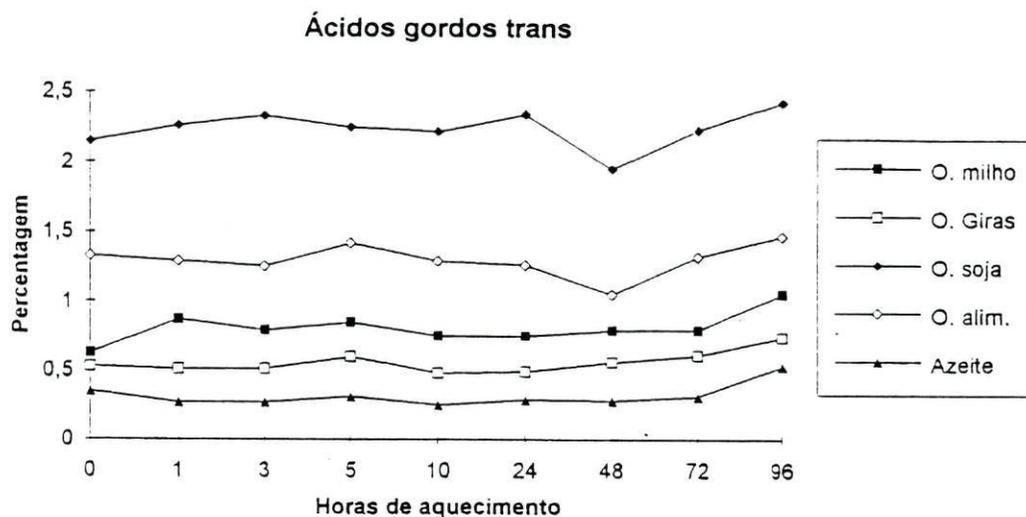


Figura 9.4.1. Evolução dos teores de ácidos gordos *trans* apresentada pelas 5 amostras de óleos estudadas

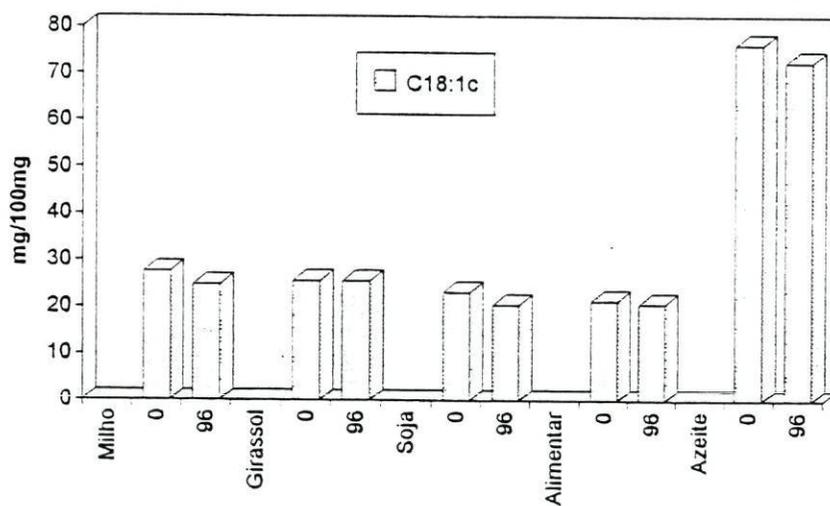


Figura 9.4.2. Teores de ácido oleico, expressos em mg/100mg, das 5 amostras estudadas, antes (0) e após (96) aquecimento

Relativamente ao ácido oleico (C_{18:1c})

Verifica-se que o azeite era o mais rico, com teores superiores a 70%, quer antes quer após tratamento térmico.

Das restantes amostras a mais rica em ácido oleico era o óleo de milho seguindo-se o óleo de girassol e o óleo de soja.

Na amostra de óleo de girassol, o ácido oleico praticamente não se alterou (de 25,65 para 25,55 mg/100mg) após as 96h de aquecimento, ao invés do que aconteceu com as restantes amostras.

O óleo de soja foi a amostra que apresentou uma maior alteração de ácido oleico (12%) seguida do óleo de milho (10%), azeite (5%) e finalmente o óleo alimentar (3%).

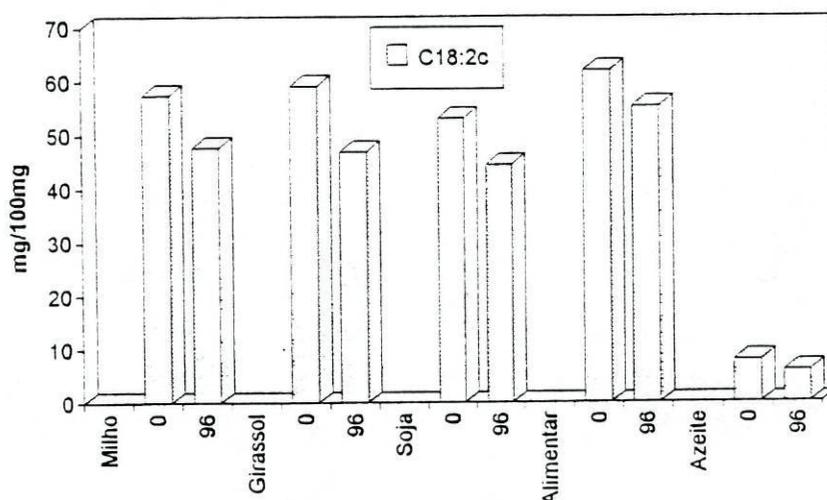


Figura 9.4.3 Teores de ácido linoleico, expressos em mg/100mg, das 5 amostras estudadas antes (0) e após (96) aquecimento

Relativamente ao ácido linoleico (C_{18:2cc})

Verificou-se que a amostra 4, óleo alimentar, era a mais rica neste ácido gordo insaturado, seguida do óleo de girassol, óleo de milho e óleo de soja.

O azeite apresentava teores de ácido linoleico inferiores a 10%.

Quanto à degradação ocorrida, devida ao tratamento térmico, verificou-se ser de 25% no azeite, 21% no óleo de girassol, 17% no óleo de milho, 16% no óleo de soja e por fim 11% no óleo alimentar.

É notória a maior degradação sofrida pelo ácido linoleico comparativamente com o ácido oleico.

Mesmo após as 96h de aquecimento as amostras ainda apresentavam teores superiores a 40% neste ácido, à excepção do azeite.

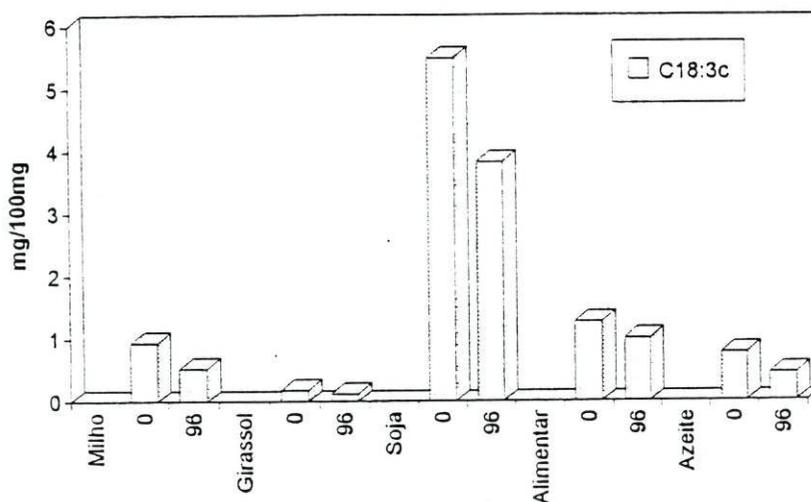


Tabela 9.4.4. Teores de ácido linolénico, expressos em mg/100mg, das 5 amostras estudadas antes (0) e após (96) aquecimento

Relativamente ao ácido linolénico (C_{18:3})

É outro ácido gordo insaturado, caracterizado pela sua grande instabilidade e frequentemente associado aos "fenómenos de reversão" apresentados por certos óleos, quando aquecidos.

A sua presença é significativa no óleo de soja (teores de cerca de 5% na amostra estudada) e no óleo alimentar, amostra 4, com teor próximo de 1%.

De acordo com os dados obtidos no estudo efectuado é, sem dúvida, o mais instável dos ácidos gordos insaturados, pois apresenta as maiores percentagens de alteração, respectivamente 44, 33, 30, 20 e 43% para as amostras 1, 2, 3, 4 e 5.

Tendo em atenção apenas as alterações ocorridas na composição em ácidos gordos insaturados, parece possível afirmar que a amostra 4, sendo uma mistura de óleos vegetais desconhecida, foi a que apresentava maior estabilidade ao aquecimento, nas condições ensaiadas.

Quanto à ocorrência de isomerização dos ácidos gordos insaturados com o tratamento térmico, verificou-se que ocorria um incremento mais ou menos acentuado do teor de isómeros *trans* (Figura 9.4.5.).

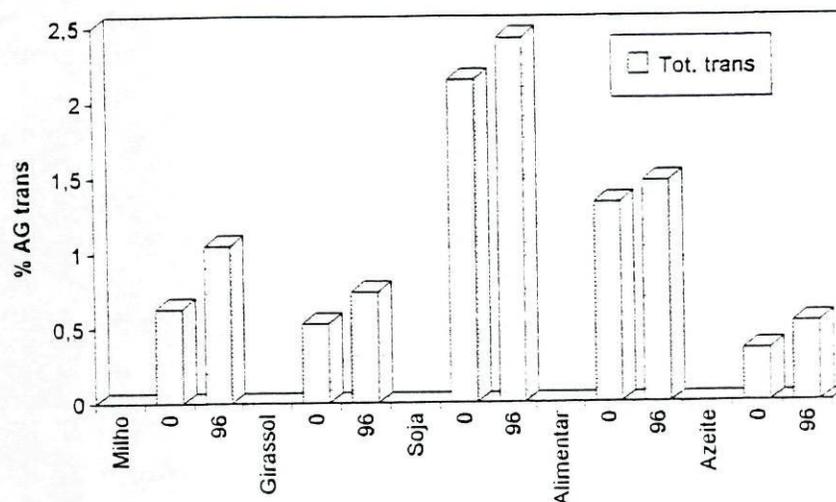


Tabela 9.4.5. Teor total de ácidos gordos *trans* das 5 amostras estudadas antes (0) e após (96) aquecimento

Considerando como isomerização a relação entre o incremento em isómeros *trans* e o seu valor inicial na amostra podemos dizer que ocorreu isomerização em todas as amostras, na ordem de 67%, 40%, 13%, 11% e 51% respectivamente para as amostras 1, 2, 3, 4 e 5.

Relativamente às amostras 3 e 4, uma justificação para as percentagens apresentadas pode ser o facto de possuírem à partida uma percentagem superior destes compostos, tornando-se a variação menos significativa, em termos de percentagem.

Considerando apenas as variações ocorridas, estas foram de 0,42%, 0,21%, 0,28%, 0,14% e 0,18% respectivamente para as amostras 1, 2, 3, 4 e 5.

A amostra que apresentava a percentagem mais elevada de isómeros *trans* era o óleo de soja, com teores superiores a 2%. Seguiu-se o óleo alimentar com teores próximos de 1,5% e todas as outras amostras apresentam teores inferiores a 1%, quer antes quer após tratamento térmico.

Considerando os isómeros *trans* individualmente, verifica-se que :

- O **C_{16:1t}** estava presente em quantidades ínfimas em todos os óleos vegetais provenientes de sementes oleaginosas (amostras 1, 2, 3 e 4). Ao longo do tratamento térmico os seus teores variaram ligeiramente e sem sentido.

O azeite apresentava os teores mais elevados (0,11%). Nesta amostra verificaram-se variações mas ao fim das 96h de aquecimento o seu valor não se alterou relativamente ao valor apresentado inicialmente.

- O **ácido eláidico (C_{18:1t})** inicialmente estava ausente, nas amostras 4 e 5, ou estava presente em quantidades reduzidas (0,03%) nas restantes amostras.

Ao longo do processo os seus teores foram aumentando, nas primeiras etapas sem sentido, mas a partir das 24-48h com uma evolução crescente.

- Os isómeros do ácido linoleico (**C_{18:12ct}**, **C_{18:12tc}**, **C_{18:2tt}**) eram os mais abundantes e os que tinham maior significado no valor total de isómeros *trans*, nas amostras 1, 2 e 4.

Estavam ausentes no azeite, uma vez que o ácido linoleico tem uma participação inferior a 8% na composição em ácidos gordos deste óleo.

Nas primeiras etapas do processo variavam sem sentido, apresentando teores crescentes nas fases finais do ensaio.

- Os **isómeros do ácido linolénico** eram os isómeros *trans* mais abundantes no óleo de soja, uma vez que é o óleo mais rico neste ácido.

Estes isómeros estavam presentes em todas as amostras.

As figuras 9.4.6. a 9.4.10. representam graficamente a evolução dos isómeros *trans* nas amostras estudadas, ao longo do processo de aquecimento.

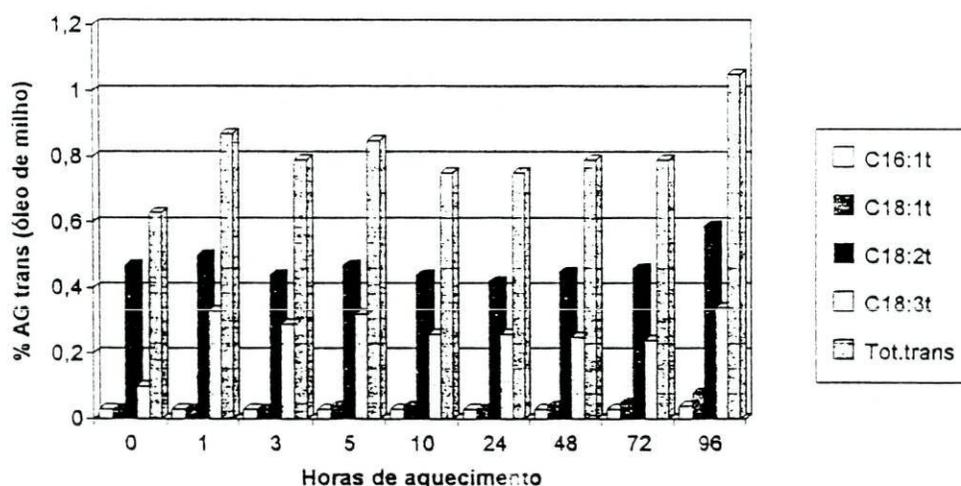


Figura 9.4.6. Evolução, ao longo do processo de aquecimento, dos isómeros *trans* apresentada pelo óleo de milho

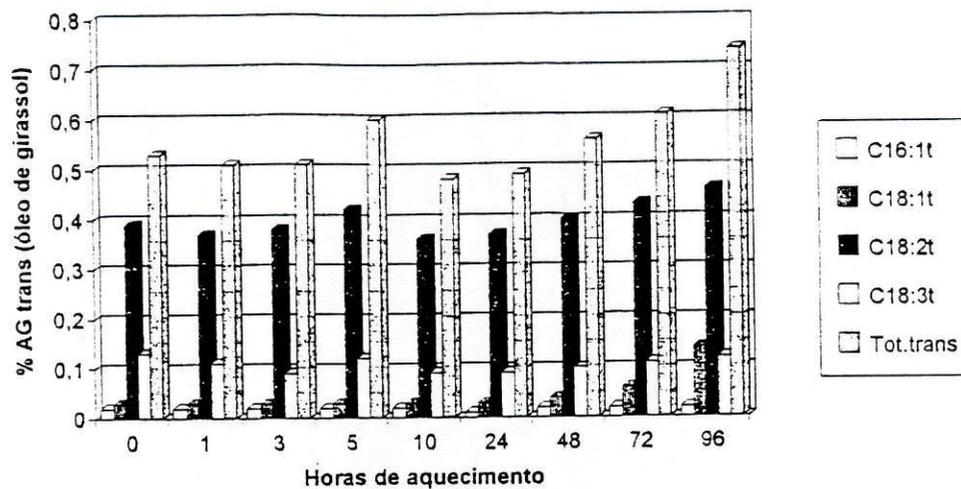


Figura 9.4.7. Evolução, ao longo do processo de aquecimento, dos isômeros *trans* apresentada pelo óleo de girassol

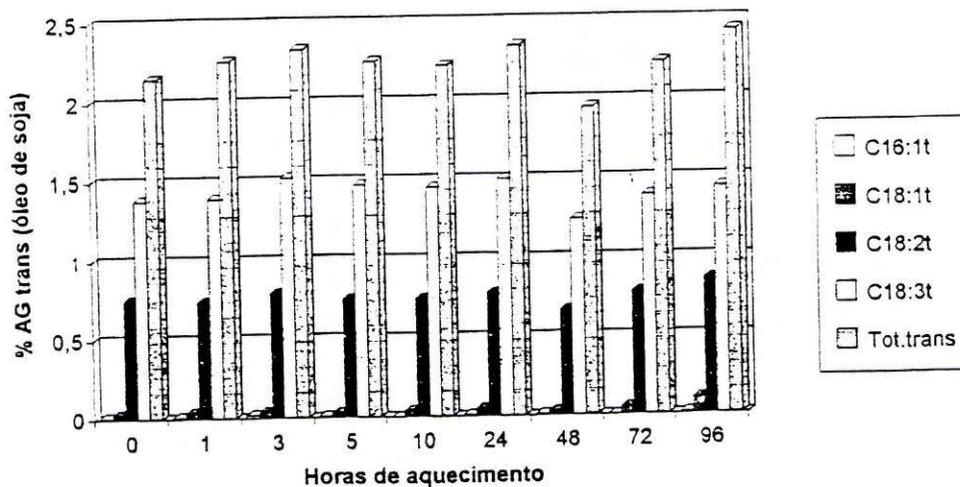


Figura 9.4.8. Evolução, ao longo do processo de aquecimento, dos isômeros *trans* apresentada pelo óleo de soja

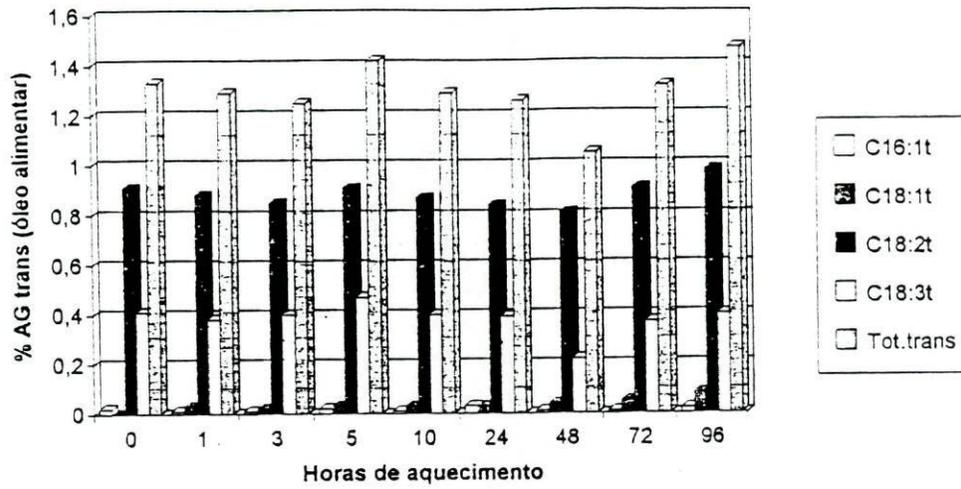


Figura 9.4.9. Evolução, ao longo do processo de aquecimento, dos isómeros *trans* apresentada pelo óleo alimentar

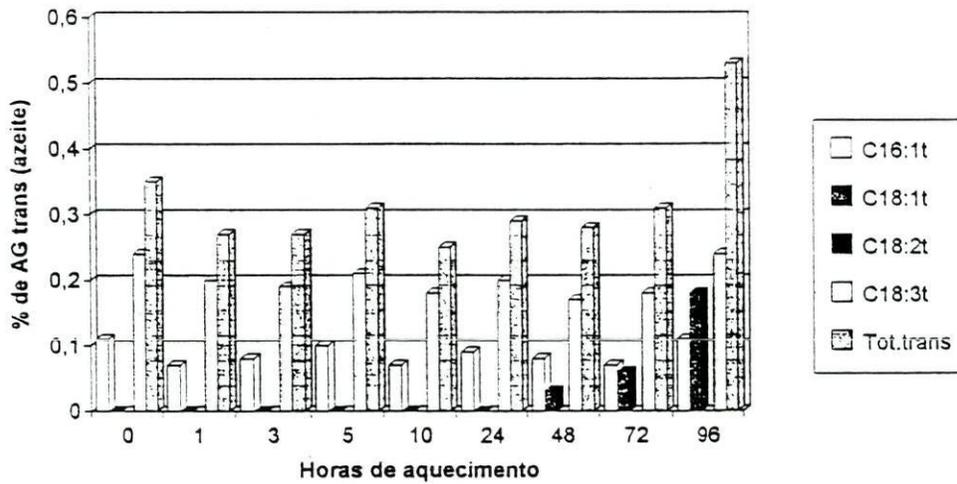


Figura 9.4.10. Evolução, ao longo do processo de aquecimento, dos isómeros *trans* apresentada pelo azeite

A comparação das 5 amostras relativamente ao **teor total de isómeros *trans***, permite verificar que todas apresentavam teores significativamente diferentes entre si.

Verificou-se, em todas as amostras, ocorrer uma evolução significativa do teor total de isómeros *trans* na última etapa de aquecimento, embora nas amostras 1 e 3 essa evolução fosse detectável ao fim de 1h de aquecimento e nas amostras 2 e 4 só o fosse ao fim de 5h.

É de referir que nas etapas intermédias as variações ocorridas não eram significativas relativamente ao produto inicial.

Em conclusão : Das amostras estudadas, a amostra 5, azeite virgem extra, apresenta um comportamento diverso das restantes.

Era a amostra que apresentava menores teores de ácidos gordos *trans*, facto possivelmente explicado por se tratar de um azeite que não sofreu refinação.

O óleo alimentar, amostra 4, foi o que apresentou maior estabilidade no que se refere a ácidos gordos insaturados. A mistura de óleos de origens diferentes teve um efeito estabilizador do conjunto.

Foi confirmada a maior estabilidade do ácido oleico comparativamente com os ácidos linoleico e linolénico.

Ocorreu isomerização *cis/trans* ao longo do tratamento térmico de óleos a $145 \pm 5^\circ\text{C}$. Esta adquiria maior significado a partir das 24-48h de aquecimento.

9.5. ÓLEOS VEGETAIS UTILIZADOS COMO BANHO DE FRITURA

Verificada a composição em ácidos gordos de vários tipos de óleos vegetais, por aquecimento contínuo a temperaturas semelhantes às utilizadas na fritura de alimentos, mas na sua ausência, procedeu-se ao estudo da alteração do perfil de ácidos gordos em situação real de fritura.

Para tal utilizaram-se amostras de óleos alimentares e seguiu-se a evolução do perfil de ácidos gordos ao longo da fritura de batatas, rissóis e filetes de polvo.

9.5.1. Fritura de batatas

O comportamento de diferentes óleos alimentares, no que concerne ao seu diagrama de ácidos gordos, ao longo da fritura é o que se pretende discutir perante os dados obtidos nos 3 ensaios descritos.

A composição em ácidos gordos e isómeros *trans* foi determinada, ao longo do processo de fritura, quer nos banhos de fritura (ensaios 1, 2 e 3) quer no produto frito (ensaios 1 e 2).

Os valores obtidos estão expressos nas tabelas 9.5.1.1. e 9.5.1.2. para o ensaio 1, 9.5.1.3. e 9.5.1.4. para o ensaio 2 e 9.5.1.5. para o ensaio 3.

Ensaio 1 - Banho de fritura

Ac. gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	t ₀	t ₃	t ₆	t ₇	t ₁₀	t ₁₃	t ₁₇
C14	0,12±0,007	0,14±0,012	0,14±0,014	0,15±0,014	0,14±0,028	0,13±0,020	0,14±0,010
C15	0,03±0	0,04±0,017	0,04±0,007	0,04±0	0,02±0,021	0,04±0,006	0,03±0,006
C16	8,76±0,085	9,41±0,292	9,60±0,431	9,46±0,337	9,29±0,410	9,14±0,452	9,20±0,340
C16:1t	0,01±0,014	n.d.	0,02±0	0,02±0,005	0,01±0,014	0,02±0,006	0,02±0,006
C16:1c	0,09±0	0,10±0,004	0,11±0,007	0,12±0,015	0,12±0,007	0,14±0,012	0,14±0,006
C17	0,06±0,007	0,06±0	0,06±0	0,07±0,006	0,07±0,007	0,06±0	0,06±0
C17:1	0,03±0	0,03±0,005	0,03±0	0,02±0,015	0,04±0	0,03±0	0,02±0,021
C18	4,60±0,014	4,95±0,127	4,61±0,042	4,70±0,051	4,76±0,071	4,78±0,089	4,64±0,075
C18:1t	0,05±0	0,07±0,013	0,07±0,007	0,07±0,017	0,09±0,007	0,09±0,006	0,09±0,006
C18:1c	26,66±0,014	28,33±0,486	26,72±0,007	26,81±0,186	27,51±0,049	27,83±0,107	27,18±0,145
C18:2tt	0,01±0,014	n.d.	0,03±0,021	0,02±0,017	0,01±0,014	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,51±0	0,46±0,008	0,59±0,247	0,18±0,242	0,40±0,007	0,35±0,021	0,33±0
C18:2tc	0,44±0,042	0,40±0,008	0,43±0,177	0,49±0,052	0,35±0,007	0,27±0,026	0,28±0,012
C18:2cc	55,40±0,014	52,47±0,358	54,64±0,078	54,07±0,598	54,47±0,014	54,81±0,355	55,83±0,040
C20	0,35±0	0,37±0,024	0,32±0,014	0,33±0,010	0,34±0,021	0,33±0,015	0,30±0,021
C18:3t	0,39±0,007	0,38±0,008	0,33±0	0,35±0,032	0,32±0,057	0,28±0,012	0,26±0,006
C18:3c	1,52±0,014	1,06±0,018	1,33±0,007	1,26±0,084	1,10±0,099	0,76±0,010	0,58±0,006
C20:1	0,09±0,007	0,06±0,037	0,08±0	0,08±0,005	0,07±0,007	0,06±0	0,04±0,035
C22	0,70±0,007	0,75±0,082	0,63±0,028	0,66±0,033	0,69±0,014	0,67±0,025	0,63±0,042
C24	0,19±0,064	0,27±0,039	0,21±0,014	0,27±0,078	0,17±0,113	0,17±0,042	0,21±0,018
Tot. trans	1,41±0,007	1,31±0,015	1,19±0,042	1,00±0,081	1,16±0,025	1,00±0,015	0,98±0,012

Tabela 9.5.1.1. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% apresentada pelo banho de fritura ao longo do ensaio 1

Ensaio 1 - Gordura extraída das batatas

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	t3	t6	t7	t10	t13	t17
C14	0,14±0,007	0,12±0,006	0,12±0	0,12±0	0,09±0,006	0,09±0
C15	0,04±0,007	0,03±0,006	0,02±0	0,01±0	0,03±0,010	0,03±0
C16	8,83±0,184	8,74±0,128	8,73±0,015	8,63±0,035	7,89±0,075	7,69±0,049
C16:1t	0,03±0	0,02±0,017	0,05±0	0,06±0	0,01±0,015	0,03±0,007
C16:1c	0,10±0,007	0,11±0,026	0,09±0,015	0,12±0	0,14±0,031	0,11±0
C17	0,07±0,007	0,06±0	0,06±0	0,05±0	0,06±0	0,06±0,007
C17:1	0,03±0	0,03±0	0,03±0,006	0,03±0,007	0,03±0	0,02±0
C18	4,70±0,021	4,71±0,010	4,72±0,006	4,66±0,007	4,75±0,021	4,71±0,007
C18:1t	0,08±0,007	0,07±0,006	0,11±0,006	0,09±0,014	0,08±0,006	0,07±0,014
C18:1c	26,69±0,035	26,81±0,047	26,99±0,036	27,15±0	27,85±0,101	27,09±0,481
C18:2tt	0,01±0,014	0,02±0,017	0,03±0,023	0,05±0,007	0,02±0,017	0,01±0
C18:2ct	0,46±0	0,48±0,029	0,51±0,026	0,41±0,021	0,35±0,010	0,34±0
C18:2tc	0,41±0,007	0,32±0,087	0,38±0,072	0,34±0,035	0,28±0,017	0,28±0,007
C18:2cc	55,09±0,057	55,02±0,040	54,44±0,044	55,08±0,035	54,60±0,516	56,27±0,071
C20	0,36±0,014	0,36±0,006	0,37±0,006	0,32±0,007	0,38±0,006	0,36±0
C18:3t	0,34±0,007	0,34±0,010	0,36±0,070	0,28±0	0,20±0,031	0,13±0
C18:3c	1,50±0,007	1,53±0,017	1,49±0,025	1,29±0	1,03±0,031	0,85±0
C20:1	0,08±0,014	0,08±0	0,08±0,006	0,08±0,007	0,06±0,006	0,06±0
C22	0,75±0,007	0,73±0,017	0,75±0,015	0,65±0,021	0,83±0,026	0,83±0,007
C24	0,26±0	0,29±0,087	0,24±0,006	0,23±0,021	0,28±0,006	0,29±0
Tot. trans	1,30±0,042	1,22±0,042	1,42±0,035	1,20±0,042	0,94±0,007	0,95±0,014

Figura 9.5.1.2. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% apresentada pela gordura extraída das batatas fritas, ao longo do ensaio 1

Ensaio 2 - Banho de fritura

Ac. gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	t0	t3	t6	t7	t10	t13	t17
C14	0,07±0,005	0,07±0	0,07±0,006	0,07±0,007	0,07±0,004	0,07±0,006	0,07±0,005
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,005	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0
C16	6,50±0,059	6,60±0,119	6,54±0,093	6,58±0,135	6,53±0,081	6,81±0,065	6,71±0,075
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0
C16:1c	0,12±0,005	0,13±0,007	0,12±0	0,12±0,005	0,12±0,005	0,12±0,006	0,12±0
C17	0,04±0	0,04±0	0,04±0	0,04±0,005	0,04±0	0,04±0,006	0,04±0
C17:1	0,03±0	0,02±0	0,02±0	0,03±0	0,03±0,007	0,02±0,006	0,02±0
C18	4,68±0,030	4,67±0,015	4,83±0,006	4,83±0,028	4,80±0,110	4,85±0,015	4,85±0,030
C18:1t	0,03±0,006	0,03±0,006	0,05±0	0,05±0	0,05±0,008	0,06±0,006	0,05±0,006
C18:1c	29,06±0,102	29,07±0,111	29,16±0,030	29,04±0,144	29,17±0,336	29,26±0,059	29,33±0,111
C18:2tt	n.d.						
C18:2ct	0,07±0,006	0,06±0	0,07±0,010	0,10±0,031	0,09±0,029	0,08±0,010	0,07±0,006
C18:2tc	n.d.						
C18:2cc	57,38±0,163	57,41±0,140	57,38±0,085	57,00±0,280	57,01±0,099	56,82±0,036	56,90±0,103
C20	0,34±0,010	0,35±0	0,35±0	0,35±0,007	0,35±0,009	0,35±0,010	0,34±0,005
C18:3t	n.d.						
C18:3c	0,20±0,015	0,21±0,010	0,19±0	0,21±0,018	0,19±0,015	0,22±0,006	0,23±0,019
C20:1	n.d.						
C22	0,84±0,015	0,84±0,015	0,87±0,014	0,86±0,021	0,87±0,017	0,84±0,015	0,82±0,028
C22:1	0,04±0	0,03±0	0,04±0	0,04±0,006	0,03±0,007	0,03±0	0,04±0
C24	0,29±0,031	0,29±0,015	0,27±0,015	0,28±0,021	0,27±0,036	0,31±0,062	0,27±0,006
Tot. trans	0,11±0,010	0,12±0,007	0,14±0,010	0,17±0,031	0,16±0,033	0,15±0,015	0,15±0,012

Tabela 9.5.1.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% apresentada pelo banho de fritura ao longo do ensaio 2

Ensaio 2 - Banho de fritura (cont.)

Ac.gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	t19	t22	t25	t28	t31	t35	t44
C14	0,07±0,006	0,06±0,006	0,07±0	0,07±0,006	0,07±0,006	0,07±0,006	0,07±0
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,03±0,006	0,02±0
C16	6,70±0,106	6,72±0,045	6,86±0,095	6,84±0,112	6,88±0,054	6,82±0,020	6,93±0,055
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0,006	0,02±0	0,02±0,004
C16:1c	0,12±0	0,12±0,006	0,12±0	0,12±0	0,12±0,007	0,12±0	0,13±0,013
C17	0,04±0,005	0,04±0	0,04±0	0,04±0	0,04±0,004	0,05±0,006	0,06±0,006
C17:1	0,02±0,005	0,02±0	0,03±0,006	0,03±0	0,03±0,014	0,03±0,006	0,03±0
C18	4,74±0,053	4,86±0,031	4,84±0	4,86±0,025	4,81±0,028	4,90±0,021	4,89±0,022
C18:1t	0,04±0,008	0,05±0	0,05±0,005	0,05±0,006	0,04±0,011	0,06±0,010	0,04±0
C18:1c	28,77±0,052	29,18±0,110	29,07±0,017	29,07±0,062	28,88±0,147	29,18±0,120	27,86±0,182
C18:2t	n.d.						
C18:2ct	0,08±0,013	0,07±0,006	0,07±0,013	0,08±0,006	0,08±0,006	0,09±0,017	0,14±0,059
C18:2c	n.d.						
C18:2cc	57,31±0,163	56,76±0,278	56,82±0,081	56,86±0,177	57,20±0,129	56,58±0,150	57,78±0,124
C20	0,34±0,004	0,35±0	0,33±0	0,35±0	0,34±0,004	0,35±0	0,34±0,007
C18:3t	n.d.						
C18:3c	0,42±0,008	0,34±0,006	0,38±0,012	0,38±0,012	0,42±0,019	0,43±0	0,49±0,038
C20:1	n.d.						
C22	0,80±0,016	0,83±0,007	0,79±0,035	0,79±0,020	0,78±0,018	0,82±0,034	0,81±0,019
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,04±0,012
C24	0,25±0,007	0,23±0,012	0,20±0,012	0,26±0,040	0,24±0,057	0,26±0,035	0,25±0,035
Tot. trans	0,14±0,019	0,14±0,006	0,15±0,012	0,15±0,021	0,14±0,006	0,17±0,015	0,20±0,058

Tabela 9.5.1.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% apresentada pelo banho de fritura ao longo do ensaio 2

Ensaio 2 - Banho de fritura (cont.)

Ac. gord. ($\bar{x} \pm sd$)/%	t50	t56	t59	t65	t71	t77	t83	t89
C14	0,06±0	0,07±0,004	0,07±0	0,07±0	0,07±0,006	0,07±0	0,07±0	0,07±0
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16	6,78±0,014	6,88±0,042	6,91±0,048	6,90±0,075	6,81±0,110	7,00±0,076	7,04±0,093	7,03±0,037
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16:1c	0,12±0	0,12±0,004	0,12±0	0,13±0,005	0,12±0	0,13±0	0,13±0	0,13±0
C17	0,05±0,007	0,05±0	0,05±0,005	0,05±0,006	0,04±0,006	0,05±0,006	0,05±0	0,05±0,006
C17:1	0,03±0	0,03±0,005	0,03±0,005	0,03±0,006	0,02±0,006	0,02±0,005	0,03±0	0,03±0,006
C18	4,88±0,014	4,86±0,021	4,89±0,017	4,78±0,015	4,81±0,035	4,80±0,030	4,91±0,037	4,89±0,008
C18:1t	0,04±0	0,04±0,004	0,05±0,008	0,04±0	0,05±0	0,05±0,006	0,05±0	0,05±0
C18:1c	28,08±0,007	28,14±0,119	28,32±0,097	28,06±0,065	28,41±0,015	28,22±0,084	28,53±0,088	28,51±0,076
C18:2tt	n.d.							
C18:2ct	0,11±0,014	0,13±0,053	0,16±0,057	0,19±0,006	0,18±0,006	0,15±0,055	0,12±0,042	0,12±0,055
C18:2tc	n.d.							
C18:2cc	57,77±0,035	57,37±0,182	57,18±0,031	57,49±0,091	57,18±0,045	57,25±0,077	56,97±0,118	56,96±0,024
C20	0,35±0	0,34±0,005	0,35±0,005	0,34±0,005	0,35±0	0,34±0,005	0,35±0,013	0,35±0
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,01±0,012	0,01±0,010	0,01±0,012
C18:3c	0,49±0	0,47±0	0,49±0,024	0,53±0,006	0,52±0,006	0,54±0,022	0,53±0,034	0,55±0,024
C20:1	n.d.							
C22	0,80±0,014	0,80±0,021	0,80±0,026	0,79±0,024	0,84±0,042	0,78±0,025	0,78±0,037	0,79±0,032
C22:1	0,04±0	0,04±0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C24	0,26±0	0,21±0,050	0,29±0,014	0,27±0,006	0,23±0,059	0,28±0,021	0,25±0,013	0,24±0,030
Tot. trans	0,17±0,014	0,19±0,055	0,23±0,057	0,25±0,006	0,26±0,007	0,22±0,052	0,19±0,051	0,19±0,048

Tabela 9.5.1.3. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)/% apresentada pelo banho de fritura ao longo do ensaio 2.

Ensaio 2 - Gordura extraída das batatas

Ac.gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	122	125	128	131	135	144	150
C14	0,07±0	0,07±0	0,07±0	0,07±0,005	0,07±0	0,08±0,005	0,07±0,005
C15	0,02±0	0,02±0	0,01±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0,004	0,02±0
C16	6,57±0,205	6,76±0,070	6,72±0,041	6,85±0,148	6,89±0,079	6,96±0,208	6,87±0,057
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,06±0,005	0,02±0	0,04±0,005	0,02±0	0,09±0,005
C16:1c	0,11±0,010	0,12±0	0,13±0,005	0,12±0,008	0,13±0,005	0,12±0,008	0,14±0
C17	0,04±0,005	0,05±0,005	0,04±0	0,05±0,006	0,05±0,006	0,05±0,005	0,04±0
C17:1	0,02±0,005	0,02±0	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0,005	0,02±0,005	0,03±0,006
C18	4,80±0,054	4,86±0,006	4,82±0,017	4,81±0,067	4,84±0,015	4,91±0,008	4,79±0,010
C18:1t	0,05±0	0,05±0	0,04±0,008	0,05±0,005	0,05±0,008	0,06±0,005	0,05±0,005
C18:1c	28,79±0,282	28,89±0,008	28,83±0,061	28,76±0,319	28,75±0,106	28,06±0,172	27,85±0,019
C18:2t	n.d.						
C18:2ct	0,08±0,006	0,07±0,010	0,06±0,005	0,09±0,010	0,10±0,034	0,15±0,051	0,11±0,025
C18:2tc	n.d.						
C18:2cc	56,92±0,457	56,85±0,262	57,12±0,105	57,40±0,239	56,83±0,161	57,57±0,267	57,82±0,061
C20	0,35±0,013	0,35±0,010	0,35±0	0,34±0,010	0,35±0	0,34±0,006	0,35±0,018
C18:3t	n.d.						
C18:3c	0,43±0,010	0,46±0,010	0,42±0,019	0,47±0,006	0,48±0,010	0,55±0,019	0,54±0,022
C20:1	n.d.						
C22	0,82±0,070	0,81±0,006	0,83±0,012	0,82±0	0,78±0,020	0,78±0,037	0,76±0,025
C24	0,27±0,030	0,29±0,006	0,29±0,091	0,26±0,030	0,29±0,026	0,28±0,038	0,24±0,039
Tot. trans	0,14±0,006	0,14±0,010	0,16±0,014	0,17±0,010	0,19±0,038	0,22±0,053	0,27±0,032

Tabela 9.5.1.4. Composição em ácidos gordos e isômeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% apresentada pela gordura extraída das batatas ao longo do ensaio 2

Ensaio 2 - Gordura extraída das batatas (cont.)

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	t56	t59	t65	t71	t77	t83	t89
C14	0,08±0,005	0,07±0	0,07±0	0,07±0	0,07±0,006	0,08±0	0,07±0,006
C15	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,02±0
C16	6,99±0,066	6,84±0,061	6,97±0,058	6,98±0,045	7,02±0,055	7,05±0,046	7,09±0,058
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,02±0	0,04±0	0,06±0,006	0,05±0	0,05±0
C16:1c	0,13±0	0,12±0	0,13±0	0,14±0	0,14±0	0,14±0	0,14±0
C17	0,05±0,004	0,05±0,006	0,05±0,005	0,05±0	0,05±0	0,05±0	0,05±0
C17:1	0,03±0,005	0,02±0	0,02±0,005	0,02±0,006	0,03±0,006	0,02±0,005	0,02±0,006
C18	4,81±0,048	4,86±0,015	4,86±0,012	4,80±0,032	4,89±0,012	4,90±0	4,87±0,012
C18:1t	0,05±0,005	0,05±0	0,05±0,010	0,05±0,006	0,06±0	0,06±0,005	0,06±0,006
C18:1c	27,88±0,094	28,17±0,150	28,33±0,074	28,16±0,057	28,49±0,065	28,46±0,045	28,43±0,010
C18:2tt	n.d.						
C18:2ct	0,18±0,017	0,12±0,058	0,15±0,053	0,18±0,006	0,16±0,061	0,14±0,049	0,08±0,006
C18:2tc	n.d.						
C18:2cc	57,30±0,193	57,44±0,040	56,81±0,260	57,19±0,026	56,75±0,139	56,88±0,139	56,91±0,035
C20	0,34±0,013	0,35±0,006	0,36±0,005	0,34±0,012	0,36±0,006	0,36±0,006	0,35±0,006
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	0,02±0	0,02±0,006	n.d.	n.d.
C18:3c	0,56±0,028	0,52±0	0,58±0,022	0,60±0,035	0,57±0	0,58±0,006	0,60±0
C20:1	n.d.						
C22	0,78±0,030	0,79±0,015	0,78±0,033	0,76±0,029	0,80±0,006	0,80±0,024	0,79±0,015
C24	0,26±0,062	0,25±0,023	0,27±0,026	0,25±0,021	0,21±0,035	0,26±0,006	0,25±0,012
Tot. trans	0,25±0,019	0,19±0,058	0,20±0,057	0,27±0,010	0,28±0,059	0,25±0,046	0,19±0,010

Tabela 9.5.1.4. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% apresentada pela gordura extraída das batatas ao longo do ensaio 2

Ensaio 3 - Banho de fritura

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	t0	t1,5	t4,5	t7
C14	0,07±0,007	0,07±0,007	0,07±0	0,07±0
C15	0,02±0,007	0,03±0,004	0,02±0	0,02±0
C16	6,89±0,239	6,81±0,158	6,88±0,040	6,86±0,050
C16:1t	0,02±0,004	0,02±0,004	0,02±0	0,02±0
C16:1c	0,13±0,015	0,13±0,014	0,13±0,015	0,13±0
C17	0,05±0,010	0,04±0,005	0,04±0,009	0,05±0
C17:1	0,02±0	0,03±0,005	0,03±0,005	0,03±0,006
C18	4,73±0,105	4,72±0,048	4,79±0,019	4,80±0,008
C18:1t	0,03±0,015	0,03±0	0,03±0,005	0,05±0,005
C18:1c	27,79±0,227	27,91±0,257	28,24±0,129	28,27±0,059
C18:2tt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2ct	0,08±0,011	0,08±0,013	0,15±0,028	0,19±0,013
C18:2tc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2cc	57,87±0,319	57,69±0,519	57,30±0,217	57,21±0,043
C20	0,34±0,012	0,34±0,029	0,34±0,006	0,36±0,006
C18:3t	n.d.	n.d.	0,01±0,018	0,03±0,015
C18:3c	0,56±0,025	0,54±0,022	0,54±0,019	0,56±0,030
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22	0,77±0,020	0,79±0,045	0,77±0,014	0,80±0,013
C24	0,28±0,018	0,26±0,021	0,25±0,023	0,28±0,010
Tot. trans	0,11±0,036	0,12±0,017	0,19±0,030	0,28±0,014

Tabela 9.5.1.5. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% apresentada pelo banho de fritura ao longo do ensaio 3

Um dos objectivos era estudar o comportamento de 3 óleos que à partida possuíam parâmetros analíticos de qualidade diversos, para se poder inferir da importância da qualidade do óleo de partida.

Mantiveram-se constantes os restantes parâmetros susceptíveis de influenciar a qualidade do óleo ou do produto frito.

Os 3 óleos apresentavam em t0 composições em ácidos gordos e isómeros *trans* diversas, conforme se pode verificar nas tabelas 9.5.1.1., 9.5.1.3. e 9.5.1.5.

As principais diferenças reportavam-se :

- aos teores de C₁₆, superiores em 1;
- aos teores de C_{18:3c} (1,52±0,014% no ensaio 1, 0,20±0,015% no ensaio 2 e 0,56±0,025% no ensaio 3);
- aos teores totais de isómeros *trans* que no ensaio 1 atingiam 1,41±0,007% enquanto os restantes óleos apresentavam apenas 0,11%.

À partida parece ser previsível uma maior degradação do óleo utilizado no ensaio 1.

O seu teor mais elevado em ácido linolénico poderia ser um dos indicativos, no entanto, a presença de isómeros *trans* do ácido linoleico (C_{18:2tt,ct} e *tc*) em quantidades significativas mostra que se trata de um óleo que sofreu refinação em condições drásticas, acarretando uma perda adicional de compostos antioxidantes naturais.

Após fritura durante 7h a composição em ácidos gordos não sofreu alterações significativas, à excepção do teor total e individual de isómeros *trans*.

Ao fim de 17h de fritura, altura de rejeição do óleo do ensaio 1, verificou-se uma alteração significativa dos teores de C_{18:3c} (de 1,52% para 0,58%). Esta alteração provavelmente ocorreu devido à diferente composição do óleo usado na reposição, uma vez que se observou uma diminuição progressiva dos teores de C_{18:3c} e dos isómeros *trans* do C_{18:2}. Verificou-se também um decréscimo dos teores totais de isómeros *trans*.

No ensaio 2, praticamente não há alteração da composição em ácidos gordos ao fim de 17h. Verificou-se um ligeiro incremento do teor total de ácidos gordos *trans* (de 0,11% para 0,15%). Em t89, comparativamente com t0, verificou-se um enriquecimento em C_{18:3c} (de 0,20 para 0,55%) também possivelmente devido à variação de teores nos óleos usados para reposição.

É conveniente referir que, embora se usasse ao longo do ensaio a mesma marca comercial de óleo alimentar, foram utilizados possivelmente lotes diferentes, tendo em atenção as variações composicionais que ocorreram.

A composição em ácidos gordos da gordura extraída das batatas fritas no óleo do ensaio 2 reflectia a composição do banho de fritura.

A composição era semelhante, à excepção dos teores de C_{18:3c} que eram superiores na gordura extraída das batatas (0,34% no banho de fritura e 0,43% na gordura em t22; em t89 0,55% no banho de fritura e 0,60% na gordura).

No ensaio 1, regra geral, o teor de C₁₆ era inferior na gordura extraída das batatas.

Tal como no ensaio 2 o teor de C_{18:3c} era superior na gordura das batatas, assim como os teores de C₂₂ e C₂₄. Os restantes ácidos gordos apresentavam composições muito semelhantes.

A evolução do teor total (%) de ácidos gordos *trans* nos 3 ensaios, quer nos banhos de fritura quer no produto frito, apresenta-se na tabela 9.5.1.6. e na figura 9.5.1.1.

Conforme se pode verificar, os teores de isómeros *trans*, encontrados na gordura extraída das batatas, evoluíram de modo semelhante aos teores presentes no banho de fritura.

Individualmente verificou-se que os isómeros *trans* mais abundantes eram os do ácido linoleico (C_{18:2tt}, *ct*, *tc*) e foram os que maior alteração sofreram. O C_{16:1t} foi o isómero com um comportamento mais estável.

O teor de gordura apresentado pelas batatas fritas, de acordo com a tabela 9.5.1.6., apresentava variações entre 5,2% e 12,0%. O valor médio encontrado foi de 8,3%.

Tempo de fritura (h)	% A.G. trans		% Gordura Prod. frito
	Óleo	Prod. frito	
Ensaio 1			
t0	1,41±0,007		
t3	1,31±0,015	1,30±0,042	
t6	1,19±0,042	1,22±0,042	
t7	1,00±0,081	1,42±0,035	
t10	1,16±0,025	1,20±0,042	
t13	1,00±0,015	0,94±0,007	
t17	0,98±0,012	0,95±0,014	
Ensaio 2			
t0	0,11±0,010		
t3	0,12±0,007		
t6	0,14±0,010		
t7	0,17±0,031		
t10	0,16±0,033		
t13	0,15±0,015		
t17	0,15±0,012		
t19	0,14±0,019		
t22	0,14±0,006	0,14±0,006	7,9±0,64
t25	0,15±0,012	0,14±0,010	6,5±0,21
t28	0,15±0,021	0,16±0,014	10,1±0
t31	0,14±0,006	0,17±0,010	6,2±0,42
t35	0,17±0,015	0,19±0,038	12,0±0,28
t44	0,20±0,058	0,22±0,053	5,2±0,21
t50	0,17±0,014	0,27±0,032	7,7±0,57
t56	0,19±0,055	0,25±0,019	8,8±0,14
t59	0,23±0,057	0,19±0,058	7,2±0
t65	0,25±0,006	0,20±0,057	8,1±0,07
t71	0,26±0,007	0,27±0,010	9,5±0,21
t77	0,22±0,052	0,28±0,059	7,1±0,99
t83	0,19±0,051	0,25±0,046	10,5±0,21
t89	0,19±0,048	0,19±0,010	9,6±0,57
Ensaio 3			
t0	0,11±0,036		
t1,5	0,12±0,017		
t4,5	0,19±0,030		
t7	0,28±0,014		

Tabela 9.5.1.6. Evolução do teor total de ácidos gordos *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% nos banhos de fritura (ensaios 1, 2 e 3) e no produto frito (ensaios 1 e 2). Teor de gordura (%) do produto frito

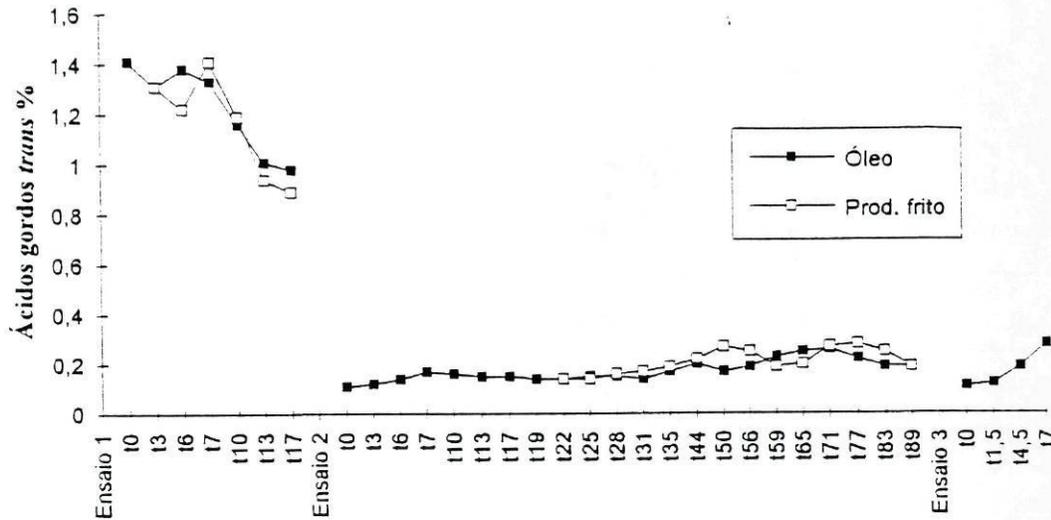


Figura 9.5.1.1. Evolução do teor total (%) de ácidos gordos *trans*, ao longo dos ensaios 1, 2 e 3 de fritura de batatas

Em conclusão :

A fritura de batatas a $145 \pm 5^{\circ}\text{C}$ provoca degradação do óleo que constitui o banho de fritura, contudo essa degradação não pode ser considerada alarmante nem mesmo perigosa, uma vez que a rejeição ocorre muito antes dos óleos poderem ser classificados de impróprios para fritar.

A qualidade inicial do óleo a utilizar tem extrema importância conforme foi demonstrado neste trabalho.

A amostra 1, de menor qualidade inicial, pelo menos a nível de ácidos gordos *trans*, foi rejeitada muito antes da amostra 2.

Este facto tem repercussões economicamente negativas, entre outras.

9.5.2. Fritura de rissóis

Os rissóis do estudo que se descreve eram de carne e apresentavam um teor em gordura superior ao das batatas. É previsível um efeito diferente do provocado pelas batatas no banho de fritura.

Nas tabelas 9.5.2.1. e 9.5.2.2. estão expressas, respectivamente para os dois ensaios efectuados, as composições em ácidos gordos do banho de fritura, do produto frito e do produto antes de fritar (crú).

Os óleos de partida usados nos 2 ensaios apresentavam composições iniciais diversas. As principais diferenças verificavam-se :

- nos teores de C₁₆ (9,35% no ensaio 1 e 6,86% no ensaio 2);
- nos teores de C_{18:1} (26,30% no ensaio 1 e 28,35% no ensaio 2);
- nos teores de C_{18:2c} (55,61% no ensaio 1 e 58,45% no ensaio 2);
- nos teores de C_{18:3c} (1,60% no ensaio 1 e 0,20% no ensaio 2)
- e nos teores de C₂₂ (0,63% no ensaio 1 e 0,76% no ensaio 2).

Após tratamento térmico, fritura a 165±5°C durante 1,5h, verificou-se que na amostra 1 ocorreu perda de C_{18:2c} (de 55,61 para 53,36 mg/100mg) e de C_{18:3c} (de 1,60 para 1,49 mg/100mg), não ocorrendo alteração nos restantes ácidos gordos.

Na amostra 2 verificou-se diminuição dos teores de C_{18:2c} (de 58,45 para 54,87mg/100mg) e de C_{18:1c} (de 28,35 para 27,60mg/100mg).

Comparativamente, a perda de C_{18:2c} verificada nos 2 ensaios foi de 2,3 na amostra 1 e 3,6 na amostra 2.

Na amostra 1 verificou-se perda de C_{18:3c}, o que não aconteceu na amostra 2. A diferença de comportamentos pode ser explicada pela diferença de teores deste ácido nos dois banhos de fritura.

Pelo contrário, na amostra 2 verificou-se uma ligeira perda de C_{18:1c} (0,8%) o que não ocorreu na amostra 1.

A composição em ácidos gordos dos rissóis crus era muito diferente da apresentada pelo banho de fritura.

Contudo, a composição em ácidos gordos da gordura extraída do produto frito revelava uma forte influência do óleo que constituía o banho de fritura.

Ensaio 1 - Fritura de rissóis

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	to	t1,5	Rissóis a	Rissóis b	Riss. crús
C14	0,13±0,009	0,13±0	0,23±0	0,23±0,007	0,60±0,037
C15	0,01±0,005	0,02±0	0,03±0,007	0,02±0,007	0,05±0,010
C16	9,35±0,039	9,52±0,065	11,49±0,085	11,52±0,127	19,93±0,448
C16:1t	0,01±0,004	0,01±0,004	0,02±0,014	0,02±0,007	0,02±0,033
C16:1c	0,10±0,014	0,09±0,017	0,15±0,007	0,14±0,007	0,33±0,030
C17	0,07±0,020	0,07±0,018	0,09±0	0,10±0,007	0,07±0,010
C17:1	0,03±0,009	0,03±0,004	0,04±0,014	0,03±0	0,03±0,006
C18	4,55±0,155	4,75±0,056	4,82±0,014	4,85±0,078	5,78±0,045
C18:1t	0,01±0,011	0,04±0,058	0,25±0,057	0,21±0,007	1,35±0,096
C18:1c	26,30±0,124	27,02±0,115	26,86±0,085	26,93±0,106	30,22±0,109
C18:2t	0,63±0,089	0,65±0,298	0,76±0,085	0,63±0,035	0,25±0,008
C18:2c	55,61±0,269	54,45±0,174	52,40±0,198	52,45±0,198	39,10±0,251
C20	0,27±0,022	0,29±0,050	0,34±0,028	0,30±0,014	0,37±0,010
C18:3t	0,31±0,059	0,33±0,065	0,33±0,148	0,19±0,049	n.d.
C18:3c	1,60±0,037	1,52±0,048	1,26±0,113	1,41±0,078	0,58±0,015
C20:1	0,08±0,010	0,07±0,033	0,07±0	0,07±0	0,16±0,035
C22	0,63±0,018	0,69±0,039	0,58±0,021	0,60±0,007	0,55±0,050
C24	0,22±0,089	0,23±0,063	0,19±0,049	0,22±0	0,19±0,039

Tabela 9.5.2.1. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% do banho de fritura, do produto frito (a) e (b) e do produto antes de fritar, ao longo do ensaio 1 de fritura de rissóis

De acordo com as tabelas 9.5.2.1. e 9.5.2.2. a gordura dos rissóis crús diferia da do óleo do banho de fritura especialmente nos teores de C₁₄, C₁₆, C_{16:1c}, C₁₈, C_{18:1c}, C_{18:2c}, C_{18:3c} e C_{20:1}.

Na composição em ácidos gordos da gordura extraída dos rissóis fritos verificou-se que:

- os teores de C₁₄ eram superiores aos do banho de fritura mas inferiores aos apresentados pelo produto crú.
- Passou-se o mesmo com o C₁₆, C_{16:1c}, C₁₈ e C_{18:1c}.
- Passou-se o contrário com o C_{18:2c}, ou seja, o produto frito apresentava um teor superior ao do produto crú mas inferior ao do banho de fritura.

• Quanto aos teores de C_{18:3c} o produto frito, no ensaio 1, apresentava teores superiores e o produto frito no ensaio 2 apresentava teores inferiores.

Ensaio 2 - Fritura de rissóis

Ac.gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	to	t1,5	Rissóis a	Rissóis b	Riss. crús
C14	0,07±0,005	0,08±0,005	0,23±0,006	0,24±0,010	0,60±0,037
C15	0,02±0,005	0,02±0	0,02±0,006	0,02±0,005	0,05±0,010
C16	6,86±0,065	7,16±0,064	9,57±0,057	9,44±0,059	19,93±0,448
C16:1t	0,02±0,006	0,01±0,005	0,01±0,006	0,02±0,006	0,02±0,033
C16:1c	0,15±0,005	0,16±0,032	0,16±0,006	0,17±0,005	0,33±0,030
C17	0,05±0,005	0,05±0,041	0,06±0,006	0,06±0	0,07±0,010
C17:1	0,03±0,006	0,03±0,010	0,02±0,006	0,03±0,005	0,03±0,006
C18	4,37±0,039	4,57±0,032	4,61±0,031	4,68±0,021	5,78±0,045
C18:1t	0,02±0,023	0,06±0,032	0,23±0,053	0,25±0,054	1,35±0,096
C18:1c	28,35±0,096	28,81±0,087	28,09±0,057	28,17±0,048	30,22±0,109
C18:2t	0,14±0,024	0,13±0,013	0,14±0,021	0,17±0,015	0,25±0,008
C18:2c	58,45±0,171	57,28±0,194	55,01±0,127	54,97±0,037	39,10±0,251
C20	0,29±0,010	0,29±0,017	0,29±0,010	0,31±0,008	0,37±0,010
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,20±0,045	0,20±0,025	0,35±0,006	0,36±0,013	0,58±0,015
C20:1	n.d.	n.d.	0,02±0,006	0,02±0,013	0,16±0,035
C22	0,76±0,024	0,85±0,126	0,72±0,012	0,72±0,008	0,55±0,050
C24	0,23±0,025	0,32±0,110	0,25±0,032	0,26±0,022	0,19±0,039

Tabela 9.5.2.2. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% do banho de fritura, do produto frito e do produto antes de fritar, ao longo do ensaio 2 de fritura de rissóis

As alterações composicionais verificadas no produto frito, relativamente ao produto crú, parecem ser explicadas pelo enriquecimento do produto em gordura proveniente do banho de fritura.

Antes de fritar, os rissóis apresentavam um teor de gordura de 3% o qual passou para 8% após fritura.

Os 5% de gordura adquiridos com a fritura provocaram modificações diferentes nos 2 ensaios, dependentes da composição apresentada pelo banho de fritura.

Como exemplo do referido citam-se os teores de C_{18:3c} apresentados pelos produtos fritos nos 2 banhos de fritura. No ensaio 1, cujo banho continha 1,60% de

C_{18:3c}, obtiveram-se produtos fritos com teores compreendidos entre 1,26 e 1,41% deste ácido gordo. O ensaio 2, que continha apenas 0,20% de C_{18:3c} na composição do óleo, forneceu produtos fritos com 0,35-0,36% de C_{18:3c}.

É também o caso dos teores de C₁₆. Estes eram superiores nos produtos fritos no ensaio 1 uma vez que o banho de fritura correspondente continha teores superiores de C₁₆, relativamente ao banho do ensaio 2.

Os teores de C₁₈ eram também ligeiramente superiores nos rissóis fritos no ensaio 2 devido à maior riqueza do banho de fritura neste ácido gordo.

Com o C_{18:2c} passou-se uma situação semelhante. Dada a maior riqueza neste ácido gordo por parte do óleo usado no ensaio 2, os rissóis fritos neste óleo apresentavam teores superiores de C_{18:2c}.

A composição em ácidos gordos *trans* foi determinada nos banhos de fritura e na gordura do produto frito e do produto crú.

Os seus valores totais estão expressos na tabela 9.5.2.3. A evolução dos isómeros individualmente, ao longo dos ensaios, está expressa nas tabelas 9.5.2.1. e 9.5.2.2.

Os teores totais de ácidos gordos *trans*, expressos em percentagem relativa, eram muito diferentes nos óleos dos 2 banhos de fritura. No ensaio 1 eram de 0,96±0,151% enquanto no ensaio 2 são de apenas 0,18±0,014%.

Pelo teor total de isómeros *trans* apresentado pelo banho de fritura do ensaio 1 seria de prever o seu pior comportamento com o tratamento térmico, acrescido do teor mais elevado de C_{18:3c}. Contudo os parâmetros analíticos determinados apontam para a maior alteração da amostra 2 (caso dos CP e do IT).

Com o tratamento térmico verificou-se isomerização *cis/trans* de 8% no ensaio 1 e de 11% no ensaio 2.

Individualmente verificou-se que os isómeros *trans* mais abundantes eram os do C_{18:2}. Relativamente a estes isómeros a amostra 1 tinha um teor 4,5 vezes superior ao da amostra 2.

Com o aquecimento verificou-se que o C_{18:1t} era o isómero mais afectado já que as suas percentagens sofreram incrementos de 4 e 3 vezes respectivamente nas amostras 1 e 2.

O produto crú apresentava teores totais de isómeros *trans* de 1,62%. Após fritura, os seus teores percentuais sofreram diluição, provocada pelo enriquecimento em 5% de gordura proveniente dos banhos de fritura, que conforme se viu apresentavam teores de ácidos gordos *trans* inferiores.

Os teores de ácidos gordos *trans*, apresentados pelos produtos fritos, estão dependentes dos teores do banho de fritura, o que está de acordo com Cuesta *et al.*, 1991. Assim, os rissóis fritos no ensaio 2, com óleo contendo menor teor de isómeros *trans*, apresentavam teores de cerca de metade dos apresentados pelos rissóis fritos no ensaio 1.

A.G. <i>trans</i> ($\bar{x} \pm sd$)%	Ensaio 1	Ensaio 2
Óleo		
to	0,96 \pm 0,151	0,18 \pm 0,014
t1,5	1,04 \pm 0,067	0,20 \pm 0,017
Rissóis		
a	1,36 \pm 0,304	0,38 \pm 0,010
b	1,03 \pm 0,014	0,44 \pm 0,078
Riss. crús	1,62 \pm 0,101	1,62 \pm 0,101

Tabela 9.5.2.3. Evolução dos teores de ácidos gordos *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% nos banhos de fritura, na gordura extraída de rissóis fritos e na gordura extraída de rissóis por fritar

Individualmente, o isómero *trans* que predominavam na gordura extraída dos rissóis crús e fritos era o C_{18:1t}.

Este facto está de acordo com Lluch *et al.*, 1993a e b, que referem a predominância destes isómeros na carne de porco e na carne de vaca.

Em conclusão : O óleo utilizado no ensaio 1, apesar do teor mais elevado em C_{18:3c} e em ácidos gordos *trans*, comparativamente com o óleo do ensaio 2, foi o que sofreu menor degradação. Tal facto permite inferir que a mistura de óleos vegetais pode ter um efeito benéfico contra a degradação.

A composição lipídica e concomitantemente o teor de isómeros *trans* do produto frito são fortemente influenciados pelo tipo de óleo utilizado na fritura. Esta operação, devido ao enriquecimento do produto em gordura, diminui o teor percentual de isómeros *trans* daquele.

9.5.3. Fritura de filetes de polvo

Os filetes de polvo ao serem introduzidos no banho de fritura absorvem uma determinada quantidade de gordura e simultaneamente cedem alguns lípidos para o óleo que constitui o meio de fritura.

Imediatamente antes de serem colocados a fritar apresentavam um teor de gordura de 1,9%. Após fritura os teores de gordura atingiram 14%.

Verificou-se então um enriquecimento em gordura de cerca de 12%.

O facto de a fritura ocorrer durante 1,5h a $180\pm 5^\circ\text{C}$ ocasionou com certeza alterações na composição e características do banho de fritura.

Nas tabelas 9.5.3.1. e 9.5.3.2. inscrevem-se as composições em ácidos gordos dos banhos de fritura, do produto frito e do produto antes de fritar, respectivamente para o ensaio 1 e ensaio 2.

Após tratamento térmico verificou-se que a composição em ácidos gordos dos banhos de fritura sofreram :

- ligeiros aumentos na percentagem de C_{15} , C_{16} , $\text{C}_{16:1c}$, C_{17} , C_{18} e $\text{C}_{18:2c}$;
- ligeira diminuição dos teores de C_{22} e C_{24} ;
- diminuição de $\text{C}_{18:1c}$ na ordem de 1,1%;
- aumento dos teores de $\text{C}_{18:3c}$, aumento este muito superior no ensaio 1.

Estas alterações parecem ser essencialmente consequência do tipo de alimento frito.

A composição em ácidos gordos apresentada pelo produto frito é resultante da diluição provocada pelo enriquecimento, em cerca de 12%, em gordura.

São exemplo do referido a maior percentagem em C_{16} e C_{18} , apresentada pelo produto frito, relativamente ao banho de fritura mas inferiores em relação ao produto por fritar.

Outra consequência verificada foi o empobrecimento percentual em $\text{C}_{20:4}$ e $\text{C}_{22:2}$. Estes ácidos gordos, no produto por fritar, estavam presentes em teores da ordem de 2,1% e 5,7% respectivamente. No produto frito apresentavam percentagens entre 0,2 e 0,3%.

Ensaio 1 - Fritura de filetes de polvo

Ác. gord. ($\bar{x} \pm sd$)%	t0	t1,5	Filetes fritos	Filetes por fritar
C14	0,07±0,005	0,07±0	0,10±0	0,68±0,046
C15	0,02±0	0,03±0,006	0,04±0	0,90±0,116
C16	6,50±0,059	6,97±0,026	8,25±0,422	21,95±0,490
C16:1t	0,02±0	0,03±0,006	0,05±0,005	0,22±0,042
C16:1c	0,12±0,005	0,14±0,013	0,24±0,021	2,50±0,350
C17	0,04±0	0,06±0,012	0,07±0,010	7,57±0,315
C17:1	0,03±0	0,02±0,006	0,03±0,005	0,22±0,037
C18	4,68±0,030	4,88±0,062	5,14±0,045	8,13±0,662
C18:1t	0,03±0,006	0,04±0,005	0,05±0,013	0,12±0,014
C18:1c	29,06±0,102	27,96±0,133	27,97±0,109	26,36±1,442
C18:2t	0,07±0,006	0,10±0,015	0,16±0,026	n.d.
C18:2c	57,38±0,163	57,52±0,147	54,97±0,374	14,06±1,050
C20	0,34±0,010	0,34±0,006	0,33±0,017	0,10±0
C18:3t	n.d.	n.d.	0,03±0,014	n.d.
C18:3c	0,20±0,015	0,55±0,006	0,68±0,033	0,64±0,067
C20:1	0,02±0	0,03±0	0,03±0	1,12±0,078
C20:4	n.d.	n.d.	0,23±0,003	2,10±0,235
C22	0,84±0,015	0,77±0	0,72±0,017	n.d.
C22:2	n.d.	n.d.	0,35±0,025	5,69±0,403
C24	0,29±0,031	0,26±0,021	0,25±0,008	n.d.

Tabela 9.5.3.1. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% do banho de fritura, do produto frito e do produto antes de fritar, ao longo do ensaio 1 de fritura de filetes de polvo

Ensaio 2 - Fritura de filetes de polvo

Ác. gord. ($\bar{x}\pm sd$)%	t0	t1,5	Filetes fritos	Filetes por fritar
C14	0,07±0,005	0,07±0	0,08±0,006	0,68±0,046
C15	0,02±0	0,03±0,007	0,04±0	0,90±0,116
C16	6,50±0,059	6,64±0	7,46±0,145	21,95±0,490
C16:1t	0,02±0	0,02±0	0,05±0	0,22±0,042
C16:1c	0,12±0,005	0,14±0,007	0,22±0,015	2,50±0,350
C17	0,04±0	0,05±0	0,07±0,007	7,57±0,315
C17:1	0,03±0	0,03±0,007	0,03±0,007	0,22±0,037
C18	4,68±0,030	4,84±0,014	5,19±0,136	8,13±0,662
C18:1t	0,03±0,006	0,03±0	0,04±0,013	0,12±0,014
C18:1c	29,06±0,102	27,98±0,057	28,31±0,160	26,36±1,442
C18:2t	0,07±0,006	0,10±0,006	0,07±0,018	n.d.
C18:2c	57,38±0,163	58,42±0,007	55,37±0,202	14,06±1,050
C20	0,34±0,010	0,34±0,007	0,32±0,009	0,10±0
C18:3t	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3c	0,20±0,015	0,22±0	0,35±0	0,64±0,067
C20:1	0,02±0	0,03±0,007	n.d.	1,12±0,078
C20:4	n.d.	n.d.	0,23±0,021	2,10±0,235
C22	0,84±0,015	0,83±0,007	0,80±0,026	n.d.
C22:2	n.d.	n.d.	0,28±0,017	5,69±0,403
C24	0,29±0,031	0,26±0,021	0,26±0,021	n.d.

Tabela 9.5.3.2. Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x}\pm sd$)% do banho de fritura, do produto frito e do produto antes de fritar, ao longo do ensaio 2 de fritura de filetes de polvo

O teor percentual de ácidos gordos *trans* determinado nos banhos de fritura, produto frito e antes de fritar, nos 2 ensaios, está expresso na tabela 9.5.3.3.

A.G. <i>trans</i> ($\bar{x} \pm sd$)%	Ensaio 1	Ensaio 2
t0	0,11 \pm 0,010	0,11 \pm 0,010
t1,5	0,16 \pm 0,021	0,16 \pm 0,007
Filetes fritos	0,30 \pm 0,024	0,16 \pm 0,027
Filetes por fritar	0,30 \pm 0,021	0,30 \pm 0,021

Tabela 9.5.3.3. Evolução dos teores de ácidos gordos *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% nos banhos de fritura e na gordura extraída de filetes de polvo fritos e por fritar

Os filetes de polvo por fritar apresentavam um teor de isómeros *trans* de 0,30%.

No ensaio 1 o produto frito apresentava um teor semelhante.

Os filetes fritos no ensaio 2 apresentavam teores de ácidos gordos *trans* de cerca de metade.

Uma possível explicação para esta discrepância de valores pode estar na amostragem efectuada. Pode ter acontecido que no ensaio 2 a toma fosse mais rica em polme e gordura e conseqüentemente mais pobre em polvo.

Em concordância com esta explicação está o facto de o óleo de fritura conter um teor equivalente em ácidos gordos *trans*.

Relativamente a este parâmetro, o óleo de fritura teve um comportamento semelhante quer no ensaio 1 quer no ensaio 2.

Em conclusão : O óleo usado na fritura de filetes de polvo a 180 \pm 5°C, apresentou comportamentos ligeiramente diferentes nos 2 ensaios.

Com a fritura verificou-se um enriquecimento do produto em cerca de 12% de gordura.

CAPÍTULO 10

AVALIAÇÃO DA DISPOSIÇÃO E DA TOXICIDADE, EM RATOS WISTAR, DE TRIÉSTERES DE ÁCIDOS GORDOS *TRANS*

A análise de vários produtos alimentares permitiu ter uma ideia aproximada dos teores de ácidos gordos *trans* ingeridos pelos Portugueses;

A necessidade de mais estudos acerca da segurança dos ácidos gordos *trans* ingeridos e dos seus efeitos a vários níveis;

A existência de várias publicações referindo efeitos mais ou menos acentuados, provocados por elevadas concentrações de ácidos gordos *trans*, frequentemente situações drásticas ou pelo menos distantes das vividas em Portugal;

Levaram à execução de um estudo sub-agudo em ratos Wistar em regime de dieta enriquecida com trielaídina e trilinolelaídina, trigliceridos presentes em percentagens superiores mas próximas das ingeridas pelos Portugueses.

Foram usados trigliceridos para melhor simular uma dieta normal, uma vez que os lípidos ingeridos são fundamentalmente constituídos por trigliceridos e ainda porque os ácidos gordos livres correspondentes, tal como se verificou em 8.1. são menos estáveis.

Usaram-se a trielaídina e a trilinolelaídina porque são trigliceridos constituídos pelos isómeros *trans* em C₁₈ melhor representados nos lípidos normalmente ingeridos.

Conforme se verificou o C_{18:1^t} é, regra geral, o isómero *trans* mais abundante nos lípidos alimentares.

A trilinolelaídina é constituída por 3 moléculas de C_{18:2^{tt}}. Este ácido gordo não é normalmente encontrado nos alimentos ou, se presente, encontra-se em muito pequena percentagem. Os isómeros C_{18:2^{ct}} e C_{18:2^{tc}} são os mais abundantes mas dada a impossibilidade da sua obtenção comercial optou-se pelo isómero com as duas duplas ligações em configuração *trans*.

O estudo efectuado descreve-se a seguir.

10.1. ANIMAIS

6 ratos macho Wistar, após desmame, com um peso médio inicial de 88g (85-90g), procedentes do Biotério do Instituto Gulbenkian de Ciência, Oeiras, foram os animais cujo comportamento se avaliou.

Foram sujeitos a um período de 5 dias de adaptação às novas condições.

Durante o ensaio, que durou 28 dias, os ratos estiveram alojados em gaiolas metabólicas individuais, mantidas num compartimento à temperatura de $19 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ com um fotoperíodo de 12 horas e teor de humidade de 50-70%.

10.2. DIETAS

Todos os animais tiveram água e dieta *ad libitum*.

Ingeriam uma dieta base, IPC-R10 (dieta de cria), cujos níveis nutricionais eram, de acordo com o produtor : Humidade 9%; Proteína 19,5% (Lisina 0,92% e metionina + cistina 0,60%); Gordura bruta 3,5%; Fibra bruta 4,5%; Cinzas 5,0%; Cálcio 0,85%; Fósforo 0,70%; Cloretos 0,50%; M.E.L.N. 54,5%; Energia metabolizável 3000kcal/kg.

À dieta base, após trituração, foram adicionados 5g de azeite / kg de ração. Esta mistura constituiu a alimentação de 3 animais (ratos controlo).

Os outros 3 ratos foram alimentados com a dieta base à qual se adicionaram 2,5g/kg respectivamente de trielaídina e trilinolelaídina, num total de 5g.

Esta mistura constituiu a alimentação dos outros 3 animais envolvidos na experiência (grupo ensaio).

As dietas eram mantidas à temperatura de $0-4^{\circ}\text{C}$ e preparadas semanalmente.

10.3. PARÂMETROS AVALIADOS

Foram determinados, diariamente, em cada animal : o peso, a água ingerida, a ração ingerida, a urina excretada e as fezes excretadas.

Ao fim de 28 dias de ensaio, os animais foram sacrificados por exsanguinação após anestesia com éter etílico.

De imediato foram determinados os pesos do fígado, rim, cérebro, coração, pulmões e baço.

Outros parâmetros avaliados :

Composição em ácidos gordos e isómeros *trans* dos lípidos totais

- da ração ingerida
- das fezes eliminadas (determinada semanalmente) assim como o teor total de gordura
 - do intestino delgado
 - do sangue total
 - do fígado
 - do rim
 - do cérebro
 - do coração
 - do pulmão
 - e do baço.

Taurina

- na urina (determinada em dias alternados)
- no fígado
- e no baço.

Vitamina E

- no soro
- e no fígado.

No plasma determinaram-se :

- a cisteína
- a glutathiona reduzida (GSH)
- a glutathiona oxidada (GSSG)
- e a glutathiona total.

No soro determinaram-se : glucose, ureia, creatina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, proteína, GOT, GPT, γ -GT, LDH, fosfatase alcalina, HDL, renina e aldosterona.

10.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Ração

A ração apresentava-se granulada.

Inicialmente foi triturada e em seguida adicionada dos isómeros *trans* de ácidos gordos insaturados ou azeite, conforme o caso.

Após a sua preparação, era retirada uma amostra representativa do total da ração preparada e extraída a sua gordura.

Era preparada semanalmente e conservada em frigorífico.

Fezes

As fezes excretadas diariamente, após pesagem, eram reunidas em frasco plástico e conservadas a -70°C .

Passado o período de 1 semana eram homogeneizadas e extraída a sua gordura.

Urina

A urina excretada diariamente era pesada, diluída a 25ml, centrifugada a 4000 r.p.m. durante 10 minutos e dividida em várias alíquotas.

Era conservada a -70°C .

Órgãos e tecidos

Após o sacrifício dos animais, foram retirados os órgãos visados no estudo que se descreve, pesados, divididos de acordo com o número de ensaios a efectuar e conservados a -70°C .

Antes da extracção da gordura sofriam trituração em placa de vidro e posteriormente eram transferidos para os tubos em que se efectuava a extracção.

10.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

10.5.1. Avaliação da disposição de uma dieta enriquecida em trielaídina e trilinoelaídina

De acordo com o produtor, a dieta base continha 3,5% de gordura. Após suplementação deveria conter no máximo 4,0%.

Este suplemento de apenas 0,5% de lípidos, quer fornecidos por azeite quer pela mistura de C_{18:1t} e C_{18:2tt} teve por finalidade a manutenção dos teores de gordura da ração próximos dos ideais, no sentido de evitar alterações provocadas não pelos ácidos gordos em si mas pelo excesso de gordura ingerida.

A suplementação da dieta com os isómeros *trans* e o azeite provocou diferenças composicionais significativas entre as rações fornecidas aos 2 grupos de ratos em estudo, diferenças essas assinaladas na tabela 10.5.1. e que se reportam aos ácidos C₁₆, C_{16:1c}, C₁₈, C_{18:1t}, C_{18:1c}, C_{18:2tt}, C_{18:2ct}, C_{18:2tc}, C_{18:2cc}, C_{18:3t}, C_{18:3c}, C₂₂ e isómeros *trans* totais.

Da análise da composição em ácidos gordos da ração fornecida aos animais verificou-se que :

- o grupo ensaio ingeria 18,9% de ácidos gordos *trans* e o grupo controlo ingeria 1,2%;
- o teor de ácidos gordos saturados era de 16,5% no grupo ensaio e de 18,7% no grupo controlo;
- o teor de ácidos gordos monoinsaturados era de 23,6% no grupo ensaio e de 33,0% no grupo controlo, diferença devida ao facto do azeite ser uma gordura vegetal rica neste tipo de ácidos gordos;
- o teor de ácidos gordos polinsaturados era de 40,9% no grupo ensaio e de 45,8% no grupo controlo.

Ácidos gordos	Ração fornecida aos animais	
	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm \text{sd}$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm \text{sd}$)%
C14	0,31±0,021	0,32±0,017
C15	0,11±0,012	0,11±0
C16	12,52±0,269**	14,23±0,191**
C16:1t	0,22±0,010	0,23±0
C16:1c	0,63±0,012**	0,76±0,017**
C17	0,13±0,015	0,19±0,035
C17:1	0,11±0,012	0,15±0,006
C18	2,97±0,062*	3,35±0,051*
C18:1t	10,04±0,122**	0,33±0,006**
C18:1c	22,86±0,248**	32,10±0,006**
C18:2tt	7,96±0,064**	0,01±0,010**
C18:2ct	0,07±0**	0,13±0**
C18:2tc	0,24±0,030*	0,08±0,010*
C18:2cc	38,43±0,293*	42,90±0,084*
C18:3t	0,32±0,021*	0,44±0,032*
C18:3c	2,47±0,010*	2,90±0,025*
C22	0,14±0,010*	0,18±0,006*
C24	0,31±0,030	0,36±0,010
Tot. trans	18,87±0,149**	1,18±0,075**

* Resultados significativamente diferentes a 95%

** Resultados significativamente diferentes a 99%

Tabela 10.5.1. Composição em ácidos gordos das rações fornecidas aos animais de experiência

A tabela 10.5.2. e as figuras 10.5.1., 10.5.2. e 10.5.3. apresentam a evolução média diária do peso, da ração e da água ingeridas, dos 2 grupos de ratos em estudo.

Dias de ensaio	Peso		Ração ingerida		Água ingerida	
	Grupo ensaio $\bar{x} \pm s.d$	Grupo controle $\bar{x} \pm s.d$	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm s.d$) g/100g ração	Grupo controle ($\bar{x} \pm s.d$) g/100g ração	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm s.d$) g/100g ração	Grupo controle ($\bar{x} \pm s.d$) g/100g ração
1	115±2,3	106±19,5	17,2±0,80	17,7±3,59	30,1±4,50	31,4±7,07
2	121±3,5	118±9,5	17,8±0,79	18,6±1,60	26,3±2,66	27,3±5,43
3	132±3,8	130±11,1	17,3±0,50	17,2±0,99	24,8±3,85	25,4±1,58
4	139±5,0	138±10,6	17,7±0,98	16,9±1,47	28,6±2,94	22,7±5,48
5	149±3,9	148±10,1	17,0±0,70	16,5±0,69	27,7±4,87	25,2±1,13
6	161±5,5	159±10,1	15,8±0,47	15,4±1,48	25,7±4,69*	22,0±2,18*
7	168±4,2	167±10,6	15,3±0,47	14,8±1,23	21,1±2,49	21,3±0,93
8	176±3,5	175±9,0	15,4±0,81	14,7±0,27	21,7±1,99	20,2±0,50
9	186±6,1	186±9,6	14,9±1,37*	13,6±1,00*	21,4±2,85	19,5±0,61
10	194±7,2	192±7,4	13,9±0,54	13,3±0,96	19,8±1,79	19,5±0,79
11	202±6,5	196±7,1	13,1±0,53	12,7±0,44	18,7±1,69	16,3±1,26
12	215±1,8	210±1,5	12,4±0,56	12,5±0,63	18,7±1,33	17,7±1,18
13	221±7,8	218±8,5	13,6±0,78*	12,1±0,27*	20,0±3,25	16,9±0,78
14	223±9,4	216±6,7	11,5±0,12	11,9±0,26	16,9±2,50	13,7±2,64
15	234±8,4	232±8,3	11,8±0,08	11,5±0,28	17,6±2,00	16,5±1,21
16	242±8,5	238±9,1	11,4±0,42*	10,7±0,34*	16,4±1,11	14,1±1,59
17	248±10,0	242±8,1	11,1±0,27	11,3±0,67	17,4±1,90	16,0±2,03
18	260±11,9	256±5,5	10,6±0,73	10,1±0,98	16,2±1,45*	13,6±0,30*
19	269±14,3	262±8,4	10,2±0,15	10,7±0,54	13,6±1,26	13,2±1,93
20	272±11,8	268±9,6	10,1±0,43	9,5±0,18	15,3±1,60	12,8±1,42
21	281±14,7	272±10,6	9,9±0,69*	9,1±0,76*	14,2±1,98	12,3±0,43
22	290±13,8	284±14,4	9,6±0,06	9,2±0,23	13,3±1,52	11,9±1,79
23	297±14,4	290±15,7	9,3±0,38	9,3±0,15	13,8±2,28	12,1±1,84
24	303±17,1	300±15,3	10,0±0,03*	9,4±0,20*	14,9±2,25	12,8±1,77
25	301±15,0	296±16,8	8,5±0,24	8,7±0,77	12,6±0,82	10,3±1,59
26	315±15,6	310±17,9	8,9±0,18	8,5±0,50	13,2±1,84	11,7±0,91
27	317±17,4	309±22,5	8,8±0,25	9,0±0,24	13,4±0,86	11,6±1,04
28	324±17,9	321±21,9	8,5±0,35	8,3±0,22	12,3±1,53	10,6±2,05

* Resultados significativamente diferentes a 95%

Tabela 10.5.2. Evolução média diária do peso, da ração e da água ingeridas apresentada pelos 2 grupos de ratos estudados

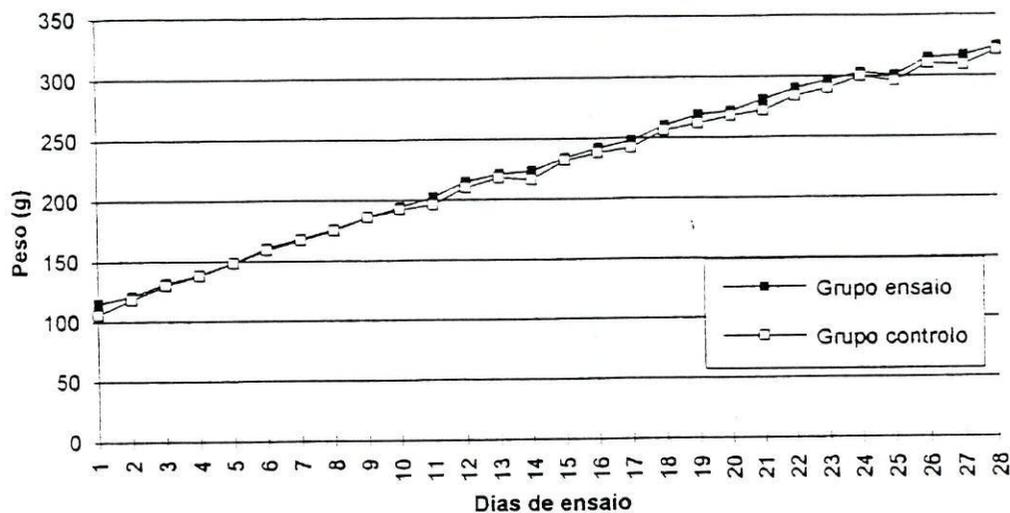


Figura 10.5.1. Representação gráfica da evolução ponderal dos 2 grupos de ratos estudados

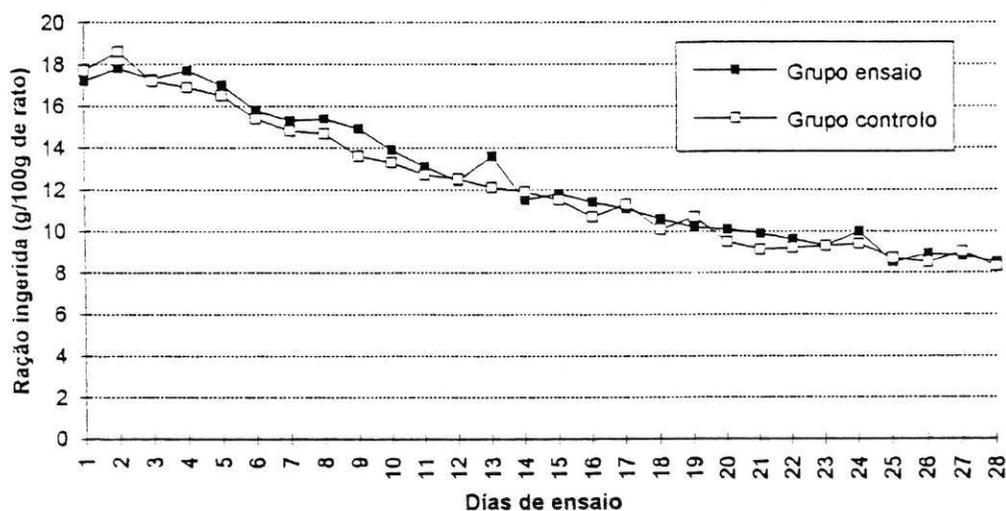


Figura 10.5.2. Representação gráfica da razão ingerida diariamente pelos 2 grupos de ratos estudados

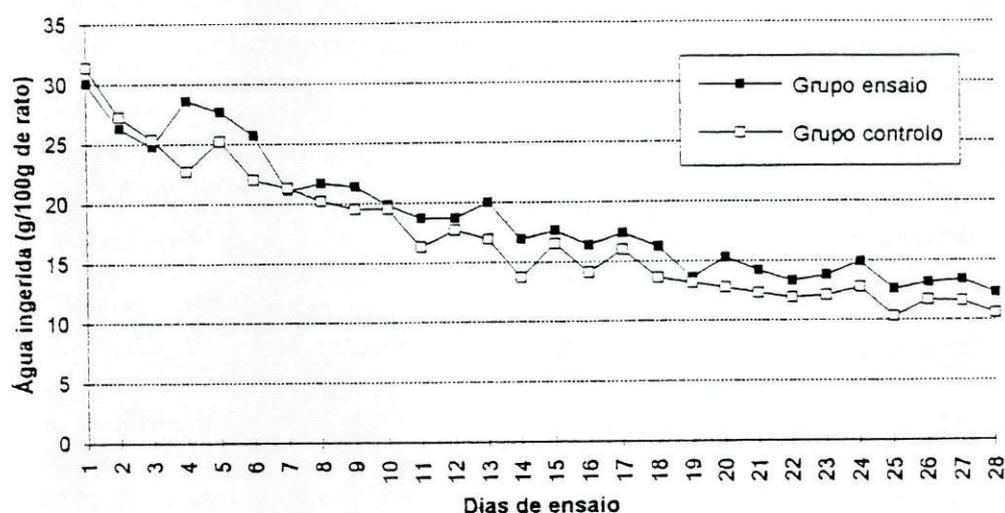


Figura 10.5.3. Representação gráfica da água ingerida diariamente pelos 2 grupos de ratos estudados

Não se verificaram diferenças significativas na evolução ponderal dos 2 grupos.

Relativamente às ração e água ingeridas verificam-se diferenças pontuais em alguns dias.

O grupo ensaio apresenta valores médios de peso, ração e água ingeridas superiores aos apresentados pelo grupo controlo.

Os resultados obtidos permitem verificar que a ingestão de ração e água, por 100g de animal, foi diminuindo ao longo dos 28 dias de ensaio.

Inicialmente os animais do grupo controlo ingeriam, em termos médios diários, mais ração e água, situação que rapidamente se inverteu.

A ingestão de maior quantidade de ração é possivelmente a principal causa da maior evolução ponderal, embora sem diferenças significativas, dos animais do grupo ensaio.

Contrariamente aos dados obtidos neste ensaio, Kurata *et al.*, 1980, vide cap. 4, referem a diminuição do crescimento de ratos devido à ingestão de ácidos gordos *trans*. Contudo é de referir que estes ingeriam dietas com 5% e 20% de gordura, deficientes em ácidos gordos essenciais e com um teor de isómeros *trans* (C_{18:1t} e C_{18:2tt}) de 74,6%.

Também Bruckner *et al.*, 1982, verificaram uma diminuição acentuada do ganho de peso corporal, sem contudo afectar o peso dos órgãos, em ratos que ingeriram durante 11 semanas uma dieta que continha C_{18:2tt} numa proporção de 2,5% da gordura total ingerida.

Em conformidade com os resultados obtidos cita-se o trabalho de Ostlund-Lindqvist *et al.*, 1985. Estes autores verificaram, em ratos que ingeriram durante 8 semanas dietas respectivamente isentas, com 18,3% e 36,6% de ácidos gordos *trans*, que o peso corporal não diferia significativamente entre os grupos.

A tabela 10.5.3. e as figuras 10.5.4. e 10.5.5. apresentam os teores médios, expressos em g por 100g de rato, de urina e fezes eliminados diariamente.

Regra geral, as quantidades eliminadas pelo grupo ensaio são superiores às eliminadas pelo grupo controlo, no entanto sem diferenças significativas.

A maior eliminação verificada tem possivelmente a ver com a maior ingestão referida.

Dias de Ensaio	Fezes		Urina	
	Grupo Ensaio	Grupo Controlo	Grupo Ensaio	Grupo Controlo
	(x̄±sd) g/100g rato		(x̄±sd) g/100g rato	
1	7,2±0,63	6,3±1,00	12,1±3,87	11,2±1,99
2	7,7±0,94	8,3±0,30	13,0±3,22	12,4±1,63
3	8,0±0,51*	6,6±0,98*	12,0±5,27	11,5±1,63
4	7,4±0,90	7,1±0,72	13,1±3,99	11,0±1,79
5	6,7±1,13	6,3±0,91	11,8±4,42	10,6±1,89
6	7,3±0,38	6,6±0,75	11,0±3,36	10,8±1,29
7	6,7±0,93	6,3±0,49	10,4±3,36	10,3±1,56
8	6,2±0,49	5,5±0,79	10,5±2,90	10,8±1,65
9	6,4±0,64	5,9±0,19	10,7±2,51	9,8±1,25
10	6,4±0,88	5,8±0,61	10,5±2,90	9,6±1,46
11	4,7±0,58	3,9±0,22	8,4±1,96	6,8±1,79
12	6,6±1,24	6,5±0,84	10,1±1,27	8,4±1,80
13	6,9±1,31	6,4±1,47	10,3±2,24	8,7±1,58
14	5,2±0,80	4,1±0,46	8,0±2,49	6,2±1,10
15	5,3±1,07	5,9±1,17	8,4±2,30	7,0±2,57
16	5,6±0,23	5,1±0,47	8,9±2,20	7,5±2,00
17	4,2±0,38	3,7±0,44	8,2±2,29	6,3±1,54
18	5,1±0,30*	4,2±0,47*	6,9±1,96	5,7±1,73
19	4,9±1,00	4,4±0,26	7,2±2,09	5,9±2,26
20	4,6±0,58	4,5±0,19	7,3±2,58	5,8±2,13
21	5,3±0,28*	4,0±0,55*	7,2±2,13	6,0±1,47
22	4,4±0,65	4,2±0,58	7,3±2,11	5,3±1,74
23	4,2±0,54	3,8±0,66	7,7±2,68	5,6±1,71
24	5,2±0,59	4,9±0,32	9,2±2,17	6,9±1,93
25	3,0±0,38	3,0±0,60	6,3±1,74	4,2±1,29
26	4,2±0,70	3,9±0,41	6,9±2,03	5,6±1,87
27	3,8±0,34	3,3±0,19	6,9±2,02	5,0±1,59
28	3,7±0,32	3,6±0,59	6,5±1,65	4,8±1,32

* Resultados significativamente diferentes a 95%

Tabela 10.5.3. Evolução média diária das fezes e da urina eliminadas, apresentada pelos 2 grupos de ratos estudados

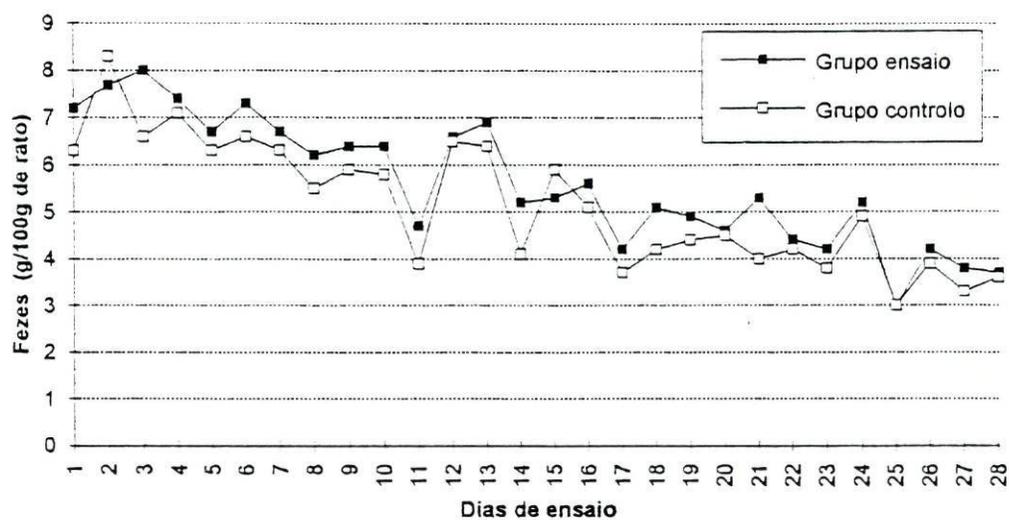


Figura 10.5.4. Representação gráfica das fezes eliminadas diariamente pelos 2 grupos de ratos

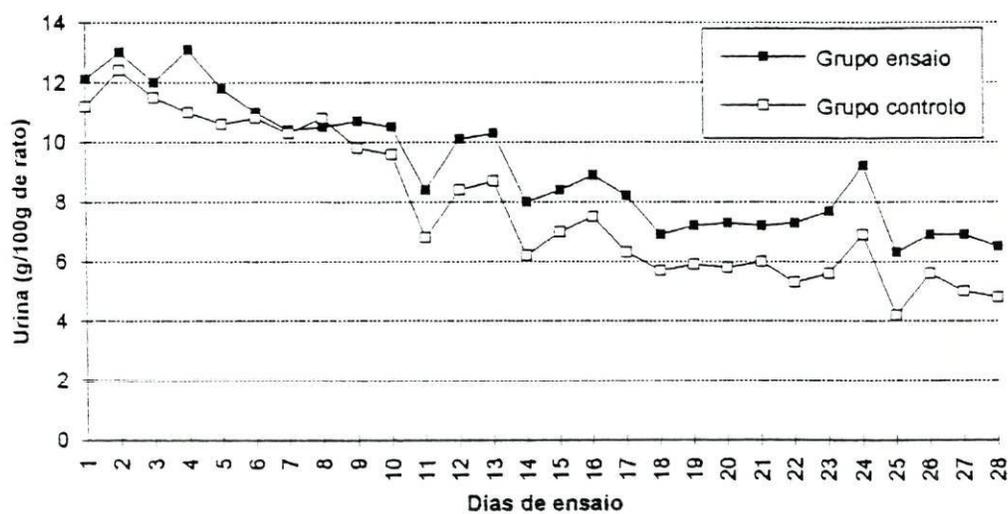


Figura 10.5.5. Representação gráfica da urina eliminada diariamente pelos 2 grupos de ratos

Semanalmente procedeu-se ao doseamento da gordura extraída das fezes. Os valores encontrados inscrevem-se na tabela 10.5.4.

% de gordura	1ª Semana $\bar{x} \pm sd$	2ª Semana $\bar{x} \pm sd$	3ª Semana $\bar{x} \pm sd$	4ª Semana $\bar{x} \pm sd$
Grupo Controlo	1,9±0,67	1,4±0,51	1,2±0,20	1,4±0,20
Grupo Ensaio	1,8±0,17	1,6±0,51	1,3±0,13	1,3±0,25

Tabela 10.5.4. Teor de gordura das fezes eliminadas pelos 2 grupos de ratos nas 4 semanas em que decorreu o ensaio

Não se encontraram diferenças significativas entre os teores de gordura fecal dos 2 grupos.

Verifica-se, no entanto, que as fezes da 1ª semana são mais ricas em gordura que as eliminadas nas semanas seguintes.

É um facto que nesta 1ª semana os animais ingeriram maior quantidade de ração, mas verifica-se uma certa estabilidade nos teores de gordura das semanas seguintes, o que não acontece com os teores de ração ingeridos, que continuam a diminuir.

Uma possível explicação para este facto pode estar numa certa imaturidade inicial dos processos de absorção e metabolização dos ratos, que se dilui ao longo do ensaio. Pode também ocorrer uma certa adaptação aos novos teores de gordura, ocorrendo uma eliminação superior na 1ª semana, mas que estabiliza a partir daí.

A tabela 10.5.5. apresenta a composição média semanal em ácidos gordos das fezes eliminadas pelos 2 grupos de ratos em estudo.

A tabela 10.5.6. inscreve o teor total de ácidos gordos *trans* apresentado pelas fezes e determinado semanalmente.

Ac.gord.	Fezes 1ªSemana		Fezes 2ªSemana		Fezes 3ªSemana		Fezes 4ªSemana	
	Grupo ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%
C12	0,19±0,029	0,19±0,029	0,17±0,042	0,15±0,010	0,33±0,066*	0,19±0,038*	0,21±0,032	0,21±0,052
C14	1,94±0,038	1,87±0,095	2,21±0,190	1,84±0,131	2,22±0,242	2,09±0,483	2,36±0,367	2,35±0,177
C15	3,42±0,661	3,48±0,398	4,23±0,422	3,81±0,256	3,94±0,657	3,39±0,562	4,12±0,871	4,30±1,083
C16	21,37±0,124*	22,34±0,532*	20,01±0,398	20,78±1,090	21,58±1,709	22,12±1,446	21,62±2,072	22,43±0,876
C16:1t	0,26±0,030	0,31±0,084	0,30±0,114	0,31±0,031	0,44±0,087	0,60±0,220	0,29±0,185	0,36±0,238
C16:1c	0,47±0,032	0,48±0,021	0,47±0,115	0,54±0,095	0,46±0,145	0,51±0,082	0,47±0,067	0,53±0,055
C17	1,96±0,372	1,72±0,436	1,89±0,408	2,12±0,276	1,84±0,615	1,60±0,800	2,03±0,713	1,57±0,315
C17:1	0,33±0,036	0,19±0,025	0,30±0,243	0,45±0,351	0,79±0,685	0,36±0,086	0,25±0,053	0,28±0,107
C18	6,35±0,400	6,56±0,457	5,93±0,978	6,66±1,103	10,90±5,648	8,73±1,340	6,02±2,017	5,87±0,745
C18:1t	5,48±1,394*	3,51±0,990*	5,74±1,356	4,17±1,425	4,13±2,467	2,79±0,153	3,77±0,364	3,23±1,520
C18:1c	15,72±0,920	17,00±0,664	14,99±1,054*	17,87±1,444*	17,54±3,597	18,98±2,538	16,03±2,129	17,09±1,666
C18:2tt	1,28±0,714*	0,07±0,127*	1,11±0,210*	n.d.*	0,79±0,269*	0,12±0,208*	1,06±0,015*	0,13±0,197*
C18:2ct	0,28±0,154	0,18±0,164	0,24±0,040	0,27±0,036	0,40±0,135	0,56±0,044	0,30±0,139	0,37±0,115
C18:2tc	0,24±0,210	0,27±0,293	0,21±0,358	0,45±0,391	0,54±0,082	0,52±0,470	0,37±0,165	0,39±0,340
C18:2cc	26,09±3,479	25,79±3,933	24,06±5,337	23,49±4,355	17,05±2,505	18,36±3,509	22,71±3,273	23,18±1,164
C20	0,89±0,125	1,14±0,108	0,91±0,135	0,95±0,184	1,03±0,064	1,04±0,278	0,86±0,176	0,78±0,221
C18:3t	0,31±0,015	0,31±0,069	0,21±0,087	0,29±0,053	0,21±0,078	0,22±0,025	0,23±0,032	0,25±0,090
C18:3c	2,19±0,341	2,18±0,410	2,23±0,297	2,04±0,287	1,51±0,238	1,53±0,295	2,15±0,550	2,04±0,268
C20:1	n.d.	0,05±0,047	n.d.	0,06±0,057	0,13±0,117	—	0,10±0,179	0,01±0,017
C22	0,41±0,206	0,62±0,105	0,48±0,106	0,46±0,193	0,64±0,289	0,49±0,427	0,32±0,140	0,49±0,148
C22:1	0,27±0,246	0,46±0,035	0,39±0,137	0,43±0,078	0,38±0,131	0,15±0,266	0,27±0,239	0,48±0,140
C24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,50±0,646	n.d.	n.d.	0,15±0,266

* Resultados significativamente diferentes

Tabela 10. 5.5. Composição média em ácidos gordos e isómeros *trans* ($\bar{x} \pm sd$)% dos lípidos totais extraídos das fezes eliminadas pelos 2 grupos de ratos, durante as 4 semanas de ensaio

Teor total de isómeros <i>trans</i>	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%
Fezes 1ª Semana	7,80 \pm 1,826*	4,57 \pm 1,169*
Fezes 2ª Semana	7,74 \pm 1,440*	5,10 \pm 1,389*
Fezes 3ª Semana	6,85 \pm 2,333*	4,39 \pm 0,330*
Fezes 4ª Semana	6,03 \pm 0,571*	4,66 \pm 1,319*

* Diferenças significativas a 95%

Tabela 10.5.6. Teor total de isómeros *trans* apresentado pelas fezes eliminadas durante as 4 semanas de ensaio

De acordo com os valores nelas inscritos verifica-se que apenas o C_{18:2^{tt}} e o teor total de isómeros *trans* diferem significativamente entre os 2 grupos, ao longo das 4 semanas de ensaio.

Na 1ª semana diferem também significativamente os teores de C₁₆ e C_{18:1^t}, na 2ª semana os teores de C_{18:1^c} e na 3ª semana os teores de C₁₂.

Embora os valores de C_{18:1^t} apenas difiram significativamente entre os 2 grupos na 1ª semana, verifica-se que o grupo controlo elimina este isómero de modo regular com um valor médio de 3,4%.

O grupo ensaio apresenta quantidades eliminadas de C_{18:1^t} superiores nas 1ª e 2ª semanas, reduzindo os seus valores ao longo das outras 2 semanas.

Comparativamente, verifica-se que a diferença de teores eliminados de C_{18:1^t}, entre os 2 grupos, são de 2% na 1ª semana sendo 1,6%, 1,3% e 0,5% para as semanas seguintes respectivamente.

Estes factos poderão confirmar o referido atrás de que ocorrerá uma adaptação dos animais à dieta ingerida, e neste caso com o conseqüente aumento de absorção de C_{18:1^t}.

Os teores de C_{18:2^{tt}} eliminados pelo grupo controlo variam desde valores não detectáveis até 0,1%.

No grupo ensaio os teores eliminados são da ordem de 1%.

Pela composição em ácidos gordos da dieta ingerida verifica-se que os ratos do grupo ensaio ingeriam 10,0% de C_{18:1t} e 8,0% de C_{18:2tt}.

Pela composição em ácidos gordos das fezes verifica-se que eliminavam 3-6% de C_{18:1t} e cerca de 1% de C_{18:2tt}.

Então o diferencial foi absorvido, facto que confirma o referido por diversos autores. Entre eles citam-se Sgoutas *et al.*, 1970, que verificaram a absorção de C_{18:1t} através da sua deposição em tecidos humanos, deposição esta dependente dos teores ingeridos; e Bernard *et al.*, 1987, que verificaram a absorção de C_{18:1t} pela sua presença na linfa de ratos adultos.

A absorção de C_{18:1t} foi, teoricamente, de 4-7% e a de C_{18:2tt} foi de 7%, verificando então que ocorre absorção, em níveis semelhantes, destes 2 isómeros *trans*.

Relativamente ao teor total de isómeros *trans* eliminados nas fezes, tabela 10.5.6., verifica-se, tal como já anteriormente referido, que no grupo ensaio o seu valor diminui ao longo das semanas (7,8% na 1^a semana para 6% na 4^a semana).

No grupo controlo os seus teores são mais estáveis, variando entre 4,4% na 3^a semana e 5,1% na 2^a semana.

Pelo referido, parece que a absorção dos isómeros *trans* aumenta com o tempo, uma vez que, mantendo-se a diferença entre os teores ingeridos pelos 2 grupos (na ordem dos 17,7%) se verificou uma diminuição nos teores eliminados pelos mesmos (a diferença é de 3,2%, 2,6%, 2,5% e 1,4% respectivamente nas 1^a, 2^a, 3^a e 4^a semanas).

Após o sacrifício dos animais procedeu-se de imediato à pesagem de vários órgãos, fígado, rim, cérebro, coração, pulmão e baço.

A relação entre o peso do órgão e o peso corporal forneceu valores que não diferem entre os 2 grupos.

Peso Órgãos (% peso corporal)	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%
Fígado	4,29±0,096	4,20±0,197
Baço	0,21±0,012	0,21±0,010
Rim	0,72±0,092	0,74±0,056
Pulmões	0,41±0,015	0,43±0,025
Cérebro	0,52±0,046	0,52±0,047
Coração	0,30±0	0,30±0,010

Tabela 10.5.7. Peso dos órgãos, apresentado pelos 2 grupos de ratos, expresso em percentagem de peso corporal

Parece possível afirmar que a suplementação da dieta com 18,9% de isómeros *trans* de ácidos gordos insaturados não interfere com o peso dos órgãos avaliados no estudo.

Estes resultados estão de acordo com Buckner *et al.*, 1982. Embora estes autores tenham encontrado alterações significativas de peso corporal dos animais em estudo, não encontraram alterações no peso dos órgãos, após ingestão durante 11 semanas de teores elevados de C_{18:2}*tt*.

Praticamente em simultâneo com o sacrifício dos animais procedeu-se à separação do soro.

Foram determinados parâmetros bioquímicos séricos com a finalidade de detectar possíveis alterações metabólicas, entre elas alterações nas funções hepática, renal e cardíaca.

Os parâmetros avaliados foram : glucose, ureia, creatina, ácido úrico, colesterol, trigliceridos, proteínas, GOT, GPT, γ -GT, LDH, fosfatase alcalina, HDL, renina e aldosterona. Os valores obtidos inscrevem-se na tabela 10.5.8.

Soro	Grupo ensaio $\bar{x} \pm sd$	Grupo controlo $\bar{x} \pm sd$
Glucose (mg/dl)	220 \pm 10,3	208 \pm 27,2
Ureia (mg/dl)	41,5 \pm 5,37	40,3 \pm 5,48
Creatinina (mg/dl)	0,47 \pm 0,115	0,50 \pm 0
Ácido úrico (mg/dl)	0,40 \pm 0,119	0,36 \pm 0,042
Colesterol (mg/dl)	54,7 \pm 5,28	50,7 \pm 3,45
Trigliceridos (mg/dl)	130 \pm 20,4	140 \pm 16,6
Proteínas (g/dl)	6,26 \pm 0,273	6,23 \pm 0,136
GOT (U/l)	70 \pm 1	60,7 \pm 3,79
GPT(U/l)	37,0 \pm 3,61	34,3 \pm 2,89
γ -GT (U/l)	0,67 \pm 0,577	1 \pm 0
LDH (U/l)	429,0 \pm 39,95	405,0 \pm 116,50
Fosfatase alc. (U/l)	213,3 \pm 13,43	215,0 \pm 54,01
HDL (mg/dl)	36,33 \pm 2,309	31,67 \pm 3,215
Renina (pg/ml)	0,9 \pm 0,81	0,6 \pm 0,67
Aldosterona (pg/ml)	323,4 \pm 88,28	239,1 \pm 81,53

Tabela 10.5.8. Valores médios dos parâmetros avaliados no soro dos 2 grupos de ratos em estudo

Nos parâmetros avaliados, não se encontraram diferenças significativas entre os 2 grupos de animais em estudo.

No entanto, algumas determinações apresentam valores médios diferentes, quer superiores quer inferiores, nos 2 grupos.

Dos parâmetros que informam acerca da função renal verifica-se, embora sem diferenças significativas e com grandes diferenças de animal para animal, dadas pelos valores de desvio padrão (sd) apresentados, que :

- ureia e ácido úrico apresentavam valores ligeiramente superiores no grupo ensaio;
- renina e aldosterona apresentavam no grupo ensaio valores médios bastante superiores aos do grupo controlo;
- apenas a creatina tinha um valor inferior no grupo ensaio.

A glucose era outro parâmetro que apresentava um valor médio superior no grupo ensaio.

Dos parâmetros que podem informar acerca da função hepática verifica-se que :

- os valores médios de colesterol surgem aumentados no grupo ensaio. Este facto está de acordo com o descrito, vide cap. 4, de que os ácidos gordos *trans* interferem nos valores de lipoproteínas séricas, provocando um aumento de colesterol.
- o valor médio de HDL-colesterol é superior no grupo ensaio. Este facto está em discordância com os conhecimentos actuais que referem, como acção dos ácidos gordos *trans* ingeridos, um aumento dos valores séricos de LDL-colesterol e uma diminuição dos valores séricos de HDL-colesterol.

A impossibilidade de determinar os valores de LDL-colesterol e a inexistência de investigação, em ratos, deste tipo de alterações, pode querer significar que este tipo de animal não constitui um modelo interessante pelo que o aumento de HDL pode não ter o significado que normalmente lhe é atribuído.

- os trigliceridos apresentavam valores inferiores no grupo ensaio. À luz dos conhecimentos actuais os níveis séricos de trigliceridos não estão correlacionados com a ingestão de ácidos gordos *trans*.
- as transaminases GOT e GPT surgem aumentadas no grupo ensaio o que pode significar um efeito subtil da ingestão de ácidos gordos *trans* na função hepática.
- a fosfatase alcalina apresenta valores médios ligeiramente inferiores.

As determinações da γ -GT e da LDH, normalmente executadas com a finalidade de avaliar a função cardíaca, apresentam variações diversas no grupo ensaio, respectivamente valores médios inferiores e superiores comparativamente com o grupo controlo. Destas variações parece possível inferir que ocorra alteração do funcionamento cardíaco, o que está sobejamente descrito, vide cap. 4.

As ligeiras alterações verificadas nos teores de enzimas determinadas poderão ser devidas à incorporação de ácidos gordos *trans* nas membranas, afectando a sua fluidez e permeabilidade, mas de acordo com os dados obtidos de modo muito subtil.

Nos órgãos, retirados dos animais que constituíram o ensaio que se descreve, foi determinada a composição em ácidos gordos e isómeros *trans* dos lípidos totais, extraídos com a mistura clorofórmio : metanol (2:1 v/v).

Com esta determinação pretendeu-se avaliar os níveis de absorção de ácidos gordos *trans*, C_{18:1t} e C_{18:2tt}, perante determinado teor de ingestão e ainda a diferente resposta de órgão para órgão.

As composições obtidas apresentam-se nas tabelas 10.5.9. e 10.5.10. nas quais se comparam as composições médias entre os 2 grupos de ratos.

Em seguida procede-se à discussão dos resultados obtidos com cada um dos órgãos estudados.

A tabela 10.5.11. inscreve os valores médios totais de isómeros *trans* determinados nos diferentes órgãos estudados e na ração ingerida.

Ac.gord.	Intestino delgado		Coração		Fígado		Pulmão	
	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo controle (\bar{x} ±sd)%
C12	0,16±0,015	0,16±0,035	0,15±0,064	0,33±0,349	0,01±0,006	0,02±0,006	0,22±0,035	0,20±0,029
C14	1,55±0,046	1,42±0,132	0,43±0,242	0,59±0,242	0,41±0,040	0,48±0,060	1,67±0,265	1,82±0,179
C15	0,34±0,040	0,34±0,025	1,64±1,308	2,47±1,930	0,38±0,010	0,28±0,026	1,91±1,703	3,04±2,555
C16	24,05±0,388	24,13±1,674	14,75±2,042	15,27±0,358	19,07±0,364	19,63±0,961	28,46±3,382	30,32±2,466
C16:1t	0,13±0,015	0,14±0,031	0,06±0,029	0,05±0,021	0,15±0,021	0,15±0,036	0,25±0,040	0,24±0,185
C16:1c	6,01±0,738	5,27±1,222	0,74±0,414	0,94±0,533	1,42±0,079	1,46±0,223	3,86±0,803	4,49±0,061
C17	0,21±0,313	0,15±0,188	0,94±0,556	1,25±0,663	0,59±0,023	0,64±0,162	0,94±0,656	1,57±1,142
C17:1	0,15±0,012	0,15±0,020	0,57±0,445	0,75±0,861	0,12±0,035	0,09±0,017	0,37±0,283	0,52±0,236
C18	5,26±0,572*	7,16±0,551*	21,04±5,077	25,69±2,191	18,22±1,523	18,72±0,996	9,15±1,277	10,09±1,306
C18:1t	2,68±0,235*	0,16±0,021*	3,09±0,814*	0,15±0,055*	2,56±0,364*	0,25±0,085*	1,48±0,025*	0,12±0,044*
C18:1c	30,34±0,190	30,45±1,033	17,84±7,155	13,12±1,681	14,96±2,694	15,05±0,591	23,00±4,040	22,27±1,741
C18:2tt	2,10±0,275*	0,06±0,021*	1,15±0,399*	0,07±0,083*	1,62±0,101*	n.d.*	1,02±0,049*	0,16±0,138*
C18:2ct	0,01±0,023	0,02±0,029	0,01±0,017	n.d.	0,02±0,015	0,06±0,078	n.d.	n.d.
C18:2tc	n.d.	0,04±0,069	0,01±0,012	n.d.	0,02±0,029	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2cc	23,13±1,422	23,45±2,430	25,03±1,925	22,04±2,423	16,89±1,173	16,28±1,367	16,73±5,074	13,82±2,066
C20	0,03±0,046	0,07±0,006	0,11±0,115	0,06±0,055	0,06±0,012	0,08±0,025	0,04±0,064	0,08±0,074
C18:3t	0,08±0,080	0,15±0,031	0,06±0,056	0,09±0,129	n.d.	0,02±0,040	0,07±0,115	0,09±0,095
C18:3c	1,21±0,295	1,07±0,067	0,30±0,162	0,44±0,569	0,31±0,190	0,36±0,085	0,50±0,196	0,59±0,072
C20:1	n.d.	0,02±0,035	n.d.	0,02±0,040	0,09±0,035	0,12±0,049	n.d.	n.d.
C18:4	0,11±0,095	0,25±0,044	0,18±0,070	0,09±0,085	0,41±0,067	0,40±0,101	0,20±0,096	0,21±0,096
C20:3	0,02±0,040	0,26±0,085	0,14±0,046	0,10±0,087	0,52±0,107	0,54±0,096	0,16±0,140	0,25±0,044
C20:4	1,98±0,447*	3,89±0,707*	11,52±2,912	13,16±2,391	19,86±2,029*	22,06±1,558*	6,97±1,818	8,03±1,574
C22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,05±0,040	0,08±0,020	n.d.	n.d.

* Resultados significativamente diferentes

Tabela 10. 5. 9. Composição média em ácidos gordos e isômeros *trans* (\bar{x} ±sd)% dos lípidos totais extraídos do intestino delgado, do coração, do fígado e do pulmão dos 2 grupos de animais

Ac.gord.	Rim		Baço		Sangue total		Cérebro	
	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo Controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo Controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo Controle (\bar{x} ±sd)%	Grupo Ensaio (\bar{x} ±sd)%	Grupo Controle (\bar{x} ±sd)%
C12	0,05±0	0,05±0,021	0,12±0,068	0,15±0,070	0,23±0,163	0,11±0,062	n.d.	n.d.
C14	0,49±0,055	0,52±0,161	0,92±0,529	0,98±0,495	0,51±0,177	0,44±0,248	0,17±0,007	0,20±0,007
C15	3,25±0,600	2,02±0,774	0,78±0,822	3,61±1,580	0,61±0,007	0,67±0,667	1,36±1,520	2,53±0,205
C16	18,46±0,050	19,28±0,669	22,04±3,538	23,14±5,263	21,70±3,514	17,32±7,133	21,60±4,886	20,35±1,952
C16:1f	0,10±0,025	0,15±0,067	0,06±0,015	0,14±0,108	0,38±0,233	0,37±0,040	0,07±0,015	0,06±0,020
C16:1c	1,18±0,309	1,37±0,833	2,66±1,808	2,39±2,379	1,16±0,228	1,06±0,993	0,34±0,045	0,31±0,081
C17	1,90±0,330	1,35±0,434	0,66±0,457	2,26±0,988	0,55±0,318	0,85±0,814	1,84±2,168	3,14±2,022
C17:1	0,78±0,061	0,79±0,436	0,13±0,192	0,71±0,329	0,12±0,007*	0,06±0,049*	1,10±1,622	1,97±1,529
C18	18,00±1,174	17,84±2,214	9,11±2,140	11,07±3,959	12,68±0,806	9,53±3,752	21,24±3,886	21,53±3,075
C18:1f	1,17±0,072*	0,32±0,404*	1,34±0,537*	0,09±0,095*	2,03±0,488*	0,40±0,245*	0,13±0,091	0,04±0,045
C18:1c	12,96±0,939	13,89±1,972	27,71±3,466	23,60±4,422	21,21±4,490	26,20±5,154	29,79±2,801	32,06±1,885
C18:2f	0,55±0,032	0,20±0,346	1,06±0,705*	0,03±0,052*	0,72±0,346*	0,02±0,029*	n.d.	n.d.
C18:2ct	n.d.	n.d.	0,01±0,023	0,04±0,064	0,05±0,064	0,16±0,100	0,02±0,032	n.d.
C18:2tc	n.d.	n.d.	n.d.	0,03±0,058	0,07±0,092	0,18±0,128	0,13±0,231	n.d.
C18:2cc	13,12±0,551	13,65±1,780	25,79±5,943	19,97±8,558	22,40±1,358	31,38±16,504	8,14±8,096	3,46±2,331
C20	0,09±0,006	0,08±0,021	0,03±0,046	0,03±0,052	0,05±0,064*	0,24±0,090*	0,27±0,142	0,28±0,178
C18:3f	0,02±0,040	0,05±0,017	0,10±0,010	0,03±0,058	0,16±0*	0,05±0,046*	n.d.	n.d.
C18:3c	0,18±0,015	0,28±0,185	0,79±0,457	0,49±0,304	0,74±0,474	0,93±1,118	1,03±0,386	1,11±0,150
C20:1	0,06±0,055	0,07±0,061	0,03±0,046	0,17±0,147	n.d.	n.d.	1,32±0,384	1,49±1,020
C18:4	0,25±0,010	0,21±0,068	0,14±0,135	0,23±0,252	0,21±0,226	0,06±0,098	0,07±0,075	0,17±0,078
C20:3	0,49±0,122	0,69±0,187	0,07±0,067	0,27±0,159	0,14±0,191	0,24±0,274	0,29±0,093	0,27±0,150
C20:4	25,17±0,255	26,01±3,071	6,15±1,913	9,26±4,378	11,66±3,748	6,98±4,456	9,63±2,111	9,55±2,421
C22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

* Resultados significativamente diferentes

Tabela 10. 5.10. Composição média em ácidos gordos e isômeros *trans* (\bar{x} ±sd)% dos lípidos totais extraídos do rim, do baço, do sangue total e do cérebro dos 2 grupos de animais

Teor total de isómeros <i>trans</i>	Grupo Ensaio ($\bar{x} \pm sd$)%	Grupo Controlo ($\bar{x} \pm sd$)%
Ração ingerida	18.87 \pm 0,149**	1,18 \pm 0,075**
Fígado	4,35 \pm 0,395**	0,44 \pm 0,098**
Rim	1,85 \pm 0,159**	0,68 \pm 0,604**
Pulmão	2,81 \pm 0,204**	0,44 \pm 0,232**
Intestino	4,95 \pm 0,529**	0,44 \pm 0,102**
Coração	4,59 \pm 0,930**	0,30 \pm 0,152**
Sangue total	3,23 \pm 0,420**	0,96 \pm 0,137**
Baço	2,54 \pm 1,055**	0,30 \pm 0,214**
Cérebro	0,21 \pm 0,145	0,07 \pm 0,046

** Diferenças significativas a 99%

Tabela 10.5.11. Teor total de isómeros *trans* determinado na ração ingerida e nos diferentes órgãos estudados

Intestino delgado

De acordo com a tabela 10.5.9, onde se inscrevem as composições em ácidos gordos apresentadas pelos 2 grupos de ratos, verifica-se que diferem significativamente as percentagens de C₁₈, C_{18:1t}, C_{18:2tt}, C_{20:4} e teor total de isómeros *trans*.

A diferença de teores de C₁₈ está possivelmente relacionada com a diferente quantidade ingerida, pois a ração também apresenta diferenças significativas neste ácido gordo entre os 2 grupos.

Contudo, a diferença obtida na composição do intestino delgado é muito superior à diferença percentual ingerida.

Quanto à incorporação de isómeros *trans* verifica-se que foi na ordem de 2,7% e 2,1% respectivamente para o C_{18:1t} e C_{18:2tt}.

Em termos de teor total de isómeros *trans* o valor médio obtido para o grupo ensaio foi de 4,5% superior ao encontrado no grupo controlo, valor que corresponde a 2,5% de C_{18:1t} e 2% de C_{18:2tt}.

A diminuição da percentagem de C_{20:4}, apresentada pelo grupo ensaio, pode ser devida à inibição pelos isómeros *trans* do sistema enzimático de dessaturação, com a consequente redução de valores deste ácido gordo, vide cap. 4.

Relativamente ao teor de ácidos gordos saturados (AG sat) verifica-se que o grupo ensaio apresenta valores inferiores (31,6% contra 33,4% no grupo controlo), diferença que corresponde quase exclusivamente à diferença apresentada pelos teores de C₁₈ entre os 2 grupos.

A diferença de teores de ácidos gordos monoinsaturados (AG monoinsat.) entre os 2 grupos é de 3,1%, valor superior apresentado pelo grupo ensaio e que corresponde ao aumento dos teores de C_{18:1t} e C_{16:1c}, ácidos gordos fornecidos em maior quantidade pela ração ingerida por este grupo de animais.

Quanto ao teor total de ácidos gordos polinsaturados (AG polinsat.) verifica-se que o grupo ensaio apresenta um teor superior em 0,45% relativamente ao grupo controlo. Apesar de ter valores inferiores em C_{18:2cc}, C_{18:4}, C_{20:3} e C_{20:4}, a incorporação de 2,1% de C_{18:2tt} é superior às diferenças dos restantes AG polinsat.

Parece de salientar que, embora o grupo ensaio apresente teores superiores de AG monoinsat. e AG polinsat. é nestes grupos que se inserem os ácidos gordos *trans* incorporados, que como é normalmente aceite se comportam mais como saturados que como insaturados.

Verifica-se que o intestino é o órgão onde ocorre maior incorporação de ácidos gordos *trans*, talvez por ser o local onde ocorre a absorção de substâncias que, posteriormente, são enviadas para a corrente sanguínea.

De acordo com Sgoutas *et al.*, 1970, a composição em ácidos gordos dos trigliceridos da dieta influencia a distribuição e composição das lipoproteínas da linfa intestinal. Já em 1964, Coots verificou ocorrer absorção intestinal de isómeros de ácidos gordos naturais, caso dos ácidos eláidico e oleico.

Em 1987 Bernard *et al.*, verificaram, em ratos Wistar, que o ácido eláidico era absorvido e atingia os vasos linfáticos, embora a sua absorção diferisse marcadamente da do ácido oleico.

Neste trabalho confirma-se a absorção intestinal e a incorporação nos lípidos do intestino, a níveis semelhantes, quer do C_{18:1t} quer do C_{18:2tt} uma vez que as suas percentagens diferem significativamente entre os 2 grupos estudados.

Coração

Pela tabela 10.5.9. verifica-se que a composição média em ácidos gordos, determinada nos lípidos totais deste órgão, apenas difere significativamente entre os 2 grupos, nas percentagens relativas de C_{18:1t}, C_{18:2tt} e conseqüentemente no teor total destes isómeros.

A diferença entre os teores totais de isómeros *trans* apresentados pelos 2 grupos é de 4,3%, ligeiramente inferior à apresentada pelo intestino (4,5%).

Desta percentagem 3,1% são de C_{18:1t} e 1,2% correspondem ao teor de C_{18:2tt}.

É clara a incorporação nos lípidos do coração dos isómeros C_{18:1t} e C_{18:2tt}.

Parece haver uma nítida afinidade pelo C_{18:1t}, dado o valor da relação C_{18:1t}/C_{18:2tt} que é de 2,7.

A relação destes ácidos gordos *trans* na ração ingerida era de 1,2 o que confirma a apreciação feita.

Uma possível explicação para o referido pode encontrar-se no facto de o C_{18:1t} ser um ácido gordo natural em alguns tipos de animais, caso dos ruminantes. Pelo contrário o C_{18:2tt} não tem essa característica e é muito menos abundante na natureza.

Mouecoucou *et al.*, 1990, estudaram a incorporação de C_{18:1t} nos lípidos de cardiomiocitos *in vitro*. Verificaram que : a incorporação deste isómero nos lípidos celulares aumenta regularmente com a sua concentração no meio de cultura; a quantidade total de C_{18:1t} captada pelas células aumenta com o tempo mas não proporcionalmente; a sua catabolização pelas células aumenta com o tempo e também com a sua concentração no meio.

Por analogia parece-nos possível que no caso do C_{18:2tt} a absorção ocorra em níveis semelhantes aos do C_{18:1t} mas a sua catabolização e utilização como fonte energética seja superior.

Esta opinião é confirmada em parte por Sgoutas *et al.*, 1970, que referem que os isómeros *trans* do C_{18:2} são catabolisados a CO₂ em maior extensão que os isómeros *cis*, enquanto que não acontece o mesmo no caso do C_{18:1t} e C_{18:1c}.

Schrijver *et al.*, 1984, referem que os isómeros *trans* do C_{18:2} são oxidados a maior velocidade que o isómero *cis* pela mitocôndria hepática de rato. Inversamente o C_{18:1t} é oxidado, pelas mitocôndrias do coração e fígado, a velocidade inferior comparativamente com os isómeros *cis*.

Em termos de variação dos teores de AG sat. (39% e 45,7%), AG monoinsat. (22,3% e 15%) e AG polinsat. (28,4% e 36%) respectivamente para o grupo ensaio e grupo controlo verifica-se que a composição dos lípidos totais do coração sofre alterações mais evidentes que as verificadas no intestino.

Embora não se possa aferir se estas alterações composicionais se verificam ao nível dos fosfolípidos ou dos lípidos polares e conseqüentemente a sua acção no comportamento deste órgão, parece possível pelo menos referir um efeito subtil dos ácidos gordos *trans* no coração, nas condições ensaiadas. Estes factos estão em consonância com o referido no capítulo 4.

Relativamente a todos os órgãos estudados, o coração é o mais afectado, o que confirma em parte a associação entre lípidos ingeridos (quantidade e qualidade) e efeitos cardiovasculares.

Fígado

A composição média em ácidos gordos dos lípidos totais hepáticos dos 2 grupos difere significativamente nos teores percentuais de $C_{18:1t}$, $C_{18:2tt}$ e $C_{20:4}$.

A diminuição de 2,2% verificada nos valores médios de $C_{20:4}$, à semelhança do que aconteceu no intestino, pode ser devida, de acordo com Kurata *et al.*, 1980, Hwang *et al.*, 1982, e Srivastava *et al.*, 1982, à inibição competitiva da dessaturase pelos isómeros *trans*.

Astorg *et al.*, 1987, observaram também a redução do teor de $C_{20:4}$ nos fosfolípidos de vários órgãos, e especialmente no fígado de ratos alimentados com ácidos gordos *trans*.

A presença de $C_{18:1t}$ e $C_{18:2tt}$ em percentagens significativamente diferentes entre os 2 grupos confirma a absorção e a incorporação destes isómeros nos lípidos totais do fígado.

Esta incorporação parece ter sido da ordem dos 3,9%, respectivamente 2,3% para o $C_{18:1t}$ e 1,6% para o $C_{18:2tt}$.

Relativamente à proporção ingerida ($C_{18:1t}/C_{18:2tt}=1,2$) há uma maior incorporação de $C_{18:1t}$ ou uma mais veloz catabolização do $C_{18:2tt}$, uma vez que a sua relação hepática é de 1,6.

Inversamente ao ocorrido no coração, os lípidos totais hepáticos dos 2 grupos experimentais, ensaio e controlo, apresentam praticamente a mesma composição em AG sat. (38,8% e 39,9%), AG monoinsat. (19,3% e 17,1%) e AG polinsat. (39,7% e 39,7%).

Pulmão

A ingestão durante 28 dias de uma dieta enriquecida em trielaidina e trilinoelaidina provocou, na composição em ácidos gordos dos lípidos totais pulmonares dos 2 grupos de ratos, apenas alterações significativas nos teores de C_{18:1t} e C_{18:2tt} (tabela 10.5.9.).

A incorporação total de ácidos gordos *trans* foi de 2,2% correspondendo 1,4% ao C_{18:1t} e 0,9% ao C_{18:2tt}.

Pela relação apresentada pelos 2 isómeros *trans* (1,6) parece haver uma incorporação em teores semelhantes destes isómeros contrariamente ao que acontece no coração (relação C_{18:1t}/C_{18:2tt} = 2,7).

Yu *et al.*, 1980, referem a diminuição dos teores de C₁₈ e C_{20:4}, quer nos fosfolípidos quer nos triglicéridos de pulmão de rato, devido à ingestão de C_{18:2tt}.

Referem também ter verificado redução de peso deste órgão mas com ingestão de 50% e 100% de C_{18:2tt}, situação muito distante da descrita aqui.

Os teores de AG sat. (42,4% e 47,1%), AG monoinsat. (29% e 27,6%) e AG polinsat. (25,7% e 23,2%) respectivamente para os grupos ensaio e controlo, variam na ordem dos 2% e 5%.

Rim

Pela tabela 10.5.10. verifica-se que no rim e nas condições de ensaio usadas apenas difere significativamente, entre os 2 grupos, a percentagem de C_{18:1t}.

Verifica-se um aumento da percentagem de C_{18:2tt} de 0,35% (de 0,20% para 0,55%) e de 0,85% de C_{18:1t} com um total de incorporação de 1,2%.

Dos órgãos estudados, à excepção do cérebro, é onde menos se faz sentir o efeito da ingestão de ácidos gordos *trans*.

Moore *et al.*, 1980, referem a incorporação em rim de ratos Wistar de 30% e 14,7% de C_{18:1t} e 2,7% e 1,9% de C_{18:2t} quando alimentados durante 3 meses com dietas contendo 15% de gordura constituída por, respectivamente, 52,9% (50,2% C_{18:1t} e 2,7% C_{18:2t}) e 24,6% (17,9% C_{18:1t} e 6,7% C_{18:2t}) destes isómeros.

A relação incorporação/ingestão era de 0,6-0,7 ao fim de 3 meses.

No ensaio que se descreve essa relação é de 0,1 (1,72/18,9) ao fim de um mês (4 semanas).

Esta discrepância de resultados é possivelmente justificada pelo diferente tempo de ingestão e também pela diferente quantidade de ácidos gordos *trans* ingerida.

Quanto à relação $C_{18:1t}/C_{18:2tt}$ verifica-se que no trabalho de Moore *et al.*, tem valores de 11 e 8 respectivamente para os 2 tipos de dieta ingeridas, cujas relações são 19 e 2,7.

No trabalho que se descreve é de 2,4 (0,85/0,35) para uma relação ingerida de 1,2.

Parece possível afirmar que com teores elevados de ácidos gordos *trans*, especialmente $C_{18:1t}$, há uma metabolização mais intensa deste isómero (a relação $C_{18:1t}/C_{18:2tt}$ passou de 19 para 11).

No caso de teores mais próximos dos 2 isómeros (relação $C_{18:1t}/C_{18:2tt} = 2,7$ e caso que se descreve) há uma metabolização mais intensa do $C_{18:2tt}$ o que permite aumentar a relação $C_{18:1t}/C_{18:2tt}$.

Confirma-se nitidamente que a composição dos lípidos totais do rim são fortemente influenciados pelo tipo de dieta ingerida.

Quanto aos teores totais de AG sat., AG monoinsat. e AG polinsat. verifica-se que o grupo controlo apresenta um maior grau de insaturação, contrariamente aos órgãos já descritos, no entanto as diferenças entre os 2 grupos são pequenas (AG sat. 42,2% e 41,4%; AG monoinsat. 16,3% e 16,6%; AG polinsat. 39,8% e 41,1% respectivamente para os grupos ensaio e controlo).

Baço

Na tabela 10.5.10. está inscrita a composição média em ácidos gordos dos lípidos totais deste órgão, apresentada pelos 2 grupos de ratos estudados.

As composições, à semelhança doutros órgãos, apenas diferem significativamente no teor percentual de $C_{18:1t}$ e $C_{18:2tt}$.

A percentagem de $C_{20:4}$, embora diferindo em cerca de 3% entre os 2 grupos, não é significativa.

A incorporação de isómeros *trans* ocorreu na ordem de 2,2%, e a relação entre eles é semelhante à relação em que foram ingeridos (1,2).

Parece possível deduzir que neste órgão, de modo diferente aos já discutidos, os 2 isómeros *trans* são incorporados e metabolizados de modo semelhante.

O grupo controlo apresenta um teor mais elevado em AG sat. (cerca de 8%) e consequentemente teores inferiores em AG monoinsat. e AG polinsat.

No grupo ensaio estes 3 tipos de AG estão presentes em teores muito semelhantes e na ordem dos 32-34%.

Sangue total

A composição em ácidos gordos dos lípidos totais extraídos do sangue dos 2 grupos de ratos é muito diferente embora apenas difira significativamente nas percentagens de C_{17:1}, C_{18:1^t}, C_{18:2^{tt}}, C₂₀ e C_{18:3^t}.

Como os animais tiveram água e ração *ad libitum* até ao momento do sacrifício, a comparação dos teores em AG dos lípidos torna-se difícil.

No que diz respeito ao teor total de isómeros *trans* a diferença percentual média apresentada pelos 2 grupos é de 2,3%, sendo respectivamente 1,6% para o C_{18:1^t} e 0,7% para o C_{18:2^{tt}}.

A relação entre estes 2 isómeros é de 2,8 o que, à semelhança do que ocorre noutros órgãos, permite inferir de uma absorção e incorporação mais evidente de C_{18:1^t} relativamente ao C_{18:2^{tt}}.

Cérebro

É o único órgão, dos estudados, em que parece não se verificar uma deposição adicional de isómeros *trans* quando se aumentam os teores ingeridos.

Tal facto foi também verificado por Pettersen *et al.*, 1988, num estudo efectuado com porcos. Estes autores não detectaram AG *trans* na fosfatidiletanolamina cerebral de porcos, após ingestão de dietas com 28% e 36% destes ácidos gordos, durante cerca de 2 anos.

As crias destes animais, geradas durante o tempo de ingestão das referidas dietas também apresentavam níveis de incorporação de AG *trans* não detectáveis ou inferiores a 0,1%.

Também Kinsella *et al.*, 1981, referem ser o cérebro o órgão onde se verifica uma deposição mínima de C_{18:1^t}.

Quanto ao grau de insaturação dos lípidos totais extraídos do cérebro, verifica-se que o grupo ensaio apresenta maior insaturação que o grupo controlo.

Em resumo : Parece ter sido demonstrada e/ou confirmada :

- a incorporação de C_{18:1t} e de C_{18:2tt} no fígado, intestino delgado, coração, pulmão, rim e baço. Apenas o cérebro parece não incorporar quantidades significativas de isómeros *trans*;

- a deposição destes isómeros parece variar de órgão para órgão, facto também verificado por Kinsella *et al.*, 1981;

Segundo estes autores a diferença nos teores encontrados pode reflectir uma incorporação preferencial dos isómeros em determinada classe de lípidos (lípidos apolares, fosfolípidos, ésteres do colesterol) ou então reflectir as diferentes velocidades de catabolização.

Pettersen *et al.*, 1988, referem que a incorporação dos AG *trans*, nos lípidos dos diferentes órgãos, é altamente específica.

- a maior retenção de C_{18:1t} em todos os órgãos em que se verificou incorporação de isómeros *trans*. Este facto pode ser explicado pela utilização preferencial de C_{18:2tt} como fonte energética.

- os lípidos do grupo ensaio, grupo que ingeriu maior quantidade de isómeros *trans*, apresentam um maior grau de insaturação em todos os órgãos, à excepção do rim.

Este facto foi também referido por Pettersen *et al.*, 1988, num trabalho efectuado com porcas, em que verificaram que os AG *trans* ingeridos (28% e 36%) causavam uma diminuição de AG sat., compensada pelo aumento dos níveis de AG monoinsat.

Foi também verificada essa alteração no trabalho que se descreve, à excepção do rim e cérebro. Nestes órgãos verificou-se um decréscimo de AG monoinsat., embora o grau de insaturação do cérebro aumentasse à custa do teor mais elevado em AG polinsat. No caso do rim, conforme já foi referido, não se verificou aumento do grau de insaturação.

Convém referir que o aumento do grau de insaturação verificado nos lípidos totais dos vários órgãos do grupo ensaio, ocorre com o contributo dos isómeros *trans*.

Estes, devido à presença das duplas ligações *trans*, apresentam uma configuração espacial diversa da apresentada pelos isómeros *cis*, o que pode provocar alterações na permeabilidade e na fluidez das membranas, influenciando também possivelmente a acção de algumas enzimas membranares.

10.5.2. Avaliação de alguns parâmetros bioquímicos indiciadores de toxicidade de uma dieta enriquecida em trielaídina e trilinolelaídina

10.5.2.1. Interesse dos parâmetros escolhidos

Os parâmetros bioquímicos escolhidos como indiciadores de possível toxicidade dos isómeros *trans* ingeridos foram a glutatona, a taurina e a vitamina E.

A glutatona e a taurina podem resultar do metabolismo da cisteína ou da catabolização proteica.

A cisteína está presente nos tecidos em baixas concentrações, uma vez que na forma livre é um neurotóxico, especialmente em animais em desenvolvimento, estando ainda descrito o seu efeito tóxico na retina.

O mecanismo da sua toxicidade não está ainda completamente esclarecido, mas parece estar associado à formação de compostos contendo oxigénio reactivo, durante a sua auto-oxidação, e à formação de aductos estáveis piridoxal-5'-fosfato.

A regulação intracelular da cisteína é feita fundamentalmente por reacções de síntese proteica, síntese de compostos tiólicos, caso da glutatona e principalmente por catabolização, ou seja, oxidação a sulfato e/ou taurina, Weinstein *et al.*, 1988.

A **glutatona** faz parte integrante do sistema de defesa do organismo contra os processos radicalares.

As enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase, a catalase e a glutatona peroxidase, eliminam espécies envolvidas na fase inicial de formação de radicais livres.

Pequenas moléculas antioxidantes, tais como o ascorbato, os tocoferóis e a glutatona, mostram-se capazes de reparar directamente radicais oxidados e posteriormente funcionarem como antioxidantes, Buettner, 1993.

A glutatona é um substrato específico para as glutatona-peroxidases e glutatona-S-transferases.

Desempenha um papel de grande importância nas reacções de detoxicação de metabolitos electrofilicos de xenobióticos e intermediários de oxigénio reactivo, Adams *et al.*, 1983. Também intervém na defesa contra a toxicidade do oxigénio, quebrando a cadeia de reacções, lideradas pelo anião superóxido, que levam à formação de peróxido de hidrogénio, Kaplowitz *et al.*, 1985.

Pensa-se que talvez a sua função chave seja a redução do peróxido de hidrogénio, catalisada pela glutatona-peroxidase. Esta enzima parece ter maior importância na redução do peróxido de hidrogénio que a catalase, a qual se restringe ao compartimento peroxissomal.

A glutatona existe na forma reduzida (GSH) e na forma oxidada (GSSG).

A relação entre as duas formas tem um efeito importante no nível de oxidação-redução dos tióis proteicos, actuando, segundo alguns autores, como mensageiro que aumenta ou reduz a actividade de vários processos biológicos.

Quando em presença de xenobióticos verifica-se um aumento intracelular de GSSG. Por este motivo, alterações nos teores de GSH cumulativamente com os teores de GSSG produzidas por compostos tóxicos, fornecem informação acerca do mecanismo de toxicidade do composto.

O fígado, sendo o principal órgão envolvido na eliminação e detoxicação de xenobióticos, é o órgão que apresenta teores mais elevados de glutatona.

As células tentam manter a concentração intracelular de GSSG baixa, pelo que o excesso é eficientemente excretado para o plasma. Assim é possível verificar o stress oxidativo induzido por determinada droga através da determinação de GSH plasmática.

O plasma contém níveis significativos de glutatona principalmente na forma de GSH.

Os rins são órgãos determinantes na velocidade de desaparecimento de GSH e GSSG da circulação, Adams *et al.*, 1993.

A **taurina** é um produto da metabolização da cisteína.

Todos os mamíferos contêm teores elevados de taurina, embora alguns não tenham capacidade de a sintetizar. Quando a sintetizam é o fígado o órgão onde ocorre a síntese em maior quantidade.

Dependendo da espécie, os níveis mais elevados encontram-se nos músculos, coração ou cérebro.

Em condições normais, a dieta deverá ser a melhor fonte de taurina do animal.

A taurina ingerida não altera os teores biossintetizados mas intervém na cinética de excreção, tornando-se o rim um órgão de grande importância na regulação dos níveis de taurina no organismo.

São-lhe atribuídas funções metabólicas, como por exemplo intervenção na secreção biliar e na absorção dos lípidos, mas tem também funções não metabólicas na prevenção e tratamento da colestase e na prevenção da injúria hepática devida a tóxicos químicos.

Parece estar também envolvida no metabolismo lipídico, com acção na redução do colesterol livre hepático, triglicéridos, fosfolípidos e aumento dos ácidos gordos livres, Yan *et al.*, 1993.

Este comportamento é devido à alteração da actividade de algumas enzimas envolvidas no metabolismo lipídico. Entre elas a actividade do sistema enzimática de dessaturação e alongação das cadeias ácidas, demonstrada pela modificação do perfil de ácidos gordos dos fosfolípidos (diminuição dos AG sat. e aumento dos AG insat.).

A taurina tem também uma acção importante no sistema cardiovascular.

Na paragem cardíaca, devida a stress crónico, os níveis de taurina aumentam; no stress agudo os níveis de taurina diminuem, seguindo-se anoxia, necrose e isquémia; após enfarte do miocárdio os níveis de taurina na circulação aumentam marcadamente.

Uma outra função associada à taurina é a de estabilizador membranar, Sturmant, 1993.

Outro parâmetro escolhido foi a **vitamina E**.

Esta vitamina faz parte do equipamento antioxidante do organismo, juntamente com o ascorbato e a glutathione.

O α -tocoferol é o seu homólogo biologicamente activo.

Faz parte integrante dos fosfolípidos das membranas contribuindo para a sua estabilidade e protecção contra radicais livres, por ligação com estes, Meydani, 1992, Buettner, 1993.

Além de prevenir a peroxidação dos lípidos membranares parece ter acção inibitória sobre a ciclooxigenase e fosfolipase, embora este efeito só ocorra quando em concentrações elevadas, Pentland *et al.*, 1992.

A vitamina E atinge os tecidos por vários mecanismos, mecanismos dependentes e independentes de receptores, transporte independente e co-transporte com a LDL e transferência a partir de diferentes lipoproteínas, mecanismos estes variáveis de tecido para tecido, Cohn *et al.*, 1992.

Segundo Palozza *et al.*, 1992, a susceptibilidade das membranas microssomais à peroxidação está inversamente correlacionada com o conteúdo de α -tocoferol microssomal.

Verificou-se *in vitro* que, após reacção do α -tocoferol com radicais livres, se formam radicais de α -tocoferol, os quais reagem com a vitamina C próximo da superfície membranar, regenerando-se o α -tocoferol.

Estes autores referem que a eficácia antioxidante da vitamina E é influenciada por vários factores, incluindo o tipo de radical iniciador, o local e a velocidade de produção de radicais.

Berlin *et al.*, 1992, referem que o aumento de ingestão de AG polinsat. provoca alterações na composição lipídica das membranas, na sua fluidez e nos processos fisiológicos destas, assim como nas concentrações de vitamina E do organismo.

10.5.2.2. Cisteína e glutathiona

Determinaram-se os teores de cisteína, de glutathiona reduzida e oxidada, de glutathiona total e a relação entre a glutathiona reduzida e o teor total de glutathiona, no plasma. Os valores obtidos inscrevem-se na tabela 10.5.12.

Plasma ($\mu\text{g/ml}$)	Grupo ensaio $\bar{x}\pm\text{sd}$	Grupo controlo $\bar{x}\pm\text{sd}$
GSH	2,0 \pm 0,61	3,2 \pm 1,36
GSSG	0,8 \pm 0,36	0,5 \pm 0,76
GSH + GSSG	2,8 \pm 0,80	3,8 \pm 0,61
GSH/GSH+GSSG	0,7 \pm 0,09	0,8 \pm 0,25
Cisteína	7,4 \pm 1,63*	10,2 \pm 0,55*

*Diferenças significativas a 95%

Tabela 10.5.12. Valores médios dos parâmetros avaliados no plasma dos 2 grupos de ratos em estudo

A sua determinação efectuou-se no plasma uma vez que os teores plasmáticos expressam alterações ocorridas intracelularmente nos teores destes compostos.

Das determinações efectuadas apenas os teores de cisteína diferem significativamente entre os 2 grupos.

Uma vez que os teores ingeridos são semelhantes, fornecidos pela dieta base, poderá pensar-se num gasto superior deste ácido aminado por parte dos animais do grupo ensaio.

O maior consumo de cisteína pode ter sido devido ao aumento de síntese proteica, da síntese de glutathiona e/ou outros componentes tiólicos ou ao aumento da sua catabolização.

Os teores de GSH são inferiores no grupo ensaio e os teores de GSSG são ligeiramente superiores.

Em consequência o teor total de glutathiona (GSH + GSSG) é também inferior no grupo ensaio.

Uma possível explicação para o facto será o aumento da sua eliminação a nível renal. Conforme foi referido, os teores de renina e aldosterona estão elevados no grupo ensaio, relativamente ao grupo controlo. Estas alterações podem querer insinuar um comportamento renal diverso entre os animais dos 2 grupos.

Embora a relação GSH/GSH + GSSG tenha valores semelhantes entre os 2 grupos (0,7-0,8), a relação GSH/GSSG é diversa (2,5 para o grupo ensaio e 6,4 para o grupo controlo).

Isto significa que o nível de oxidação-redução é diferente nos 2 grupos de animais, sendo superior o nível de oxidação no grupo ensaio, o que também é confirmado pelo teor ligeiramente superior de GSSG.

Conforme foi referido, o nível de oxidação-redução funciona como mensageiro na implementação ou redução de determinados processos biológicos, e pode possivelmente aumentar, conforme já foi sugerido, os teores eliminados.

Este aumento do estado de oxidação, verificado nos animais do grupo ensaio, poderá estar eventualmente relacionado com um mecanismo de defesa contra a agressão provocada pela ingestão de isómeros *trans*.

Conforme foi referido em 10.5.1. verifica-se, regra geral, um enriquecimento dos lípidos totais extraídos dos órgãos em AG insaturados.

Embora não se saiba qual a sua localização nas células, possivelmente fazem parte dos fosfolípidos membranares, afectando processos biológicos destas, a sua permeabilidade e a sua fluidez.

10.5.2.3. Taurina

Determinou-se a taurina na urina, eliminada ao longo do ensaio, em dias alternados, no fígado e no coração.

A escolha efectuada deve-se ao facto de :

- o rim ser o órgão com maior responsabilidade na regulação dos níveis de taurina no organismo. Consequentemente a urina deverá refletir alguma alteração que se verifique.

- o fígado é o órgão onde é sintetizada;
- o coração é um dos locais onde se encontram os níveis mais elevados e onde podem ocorrer variações bruscas dos seus níveis, em situações anormais.

A tabela 10.5.13. e a figura 10.5.6. apresentam os valores obtidos na determinação da taurina urinária.

Dias de ensaio	Taurina na urina	
	Grupo Ensaio $\bar{x} \pm sd$	Grupo controlo $\bar{x} \pm sd$
1	31,7±14,16	47,2±33,87
3	11,3±5,52	10,2±3,39
5	28,5±16,97	16,0±4,13
7	13,8±8,24	16,2±18,92
9	20,2±10,58	14,2±8,42
10	29,9±14,09	20,6±7,44
12	64,3±26,63	36,9±15,00
14	46,3±18,27	48,3±44,36
16	42,1±30,59	50,1±5,45
18	82,8±19,23	121,8±60,71
20	48,6±54,87	53,3±33,59
22	43,2±15,16	39,6±35,59
24	34,3±31,68	28,97±13,88
26	25,9±5,94	21,8±20,78
28	97,6±71,75	63,7±27,26

Tabela 10.5.13. Valores médios de taurina determinados na urina dos 2 grupos de ratos em estudo

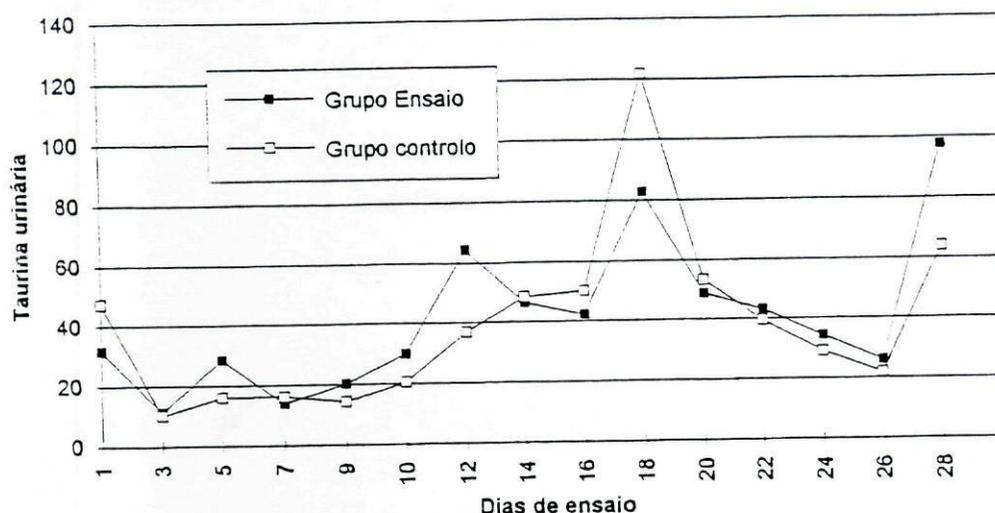


Figura 10.5.6. Representação gráfica da taurina urinária eliminada pelos 2 grupos de ratos estudados

Não se encontraram diferenças significativas entre os 2 grupos e pelos valores de desvio-padrão (sd) verificam-se variações muito grandes de animal para animal.

Na fase final o grupo ensaio apresentava valores superiores de taurina.

A diferença de teores de taurina no fígado e coração é pequena entre os 2 grupos, respectivamente 0,2 e 0,4 $\mu\text{mol/g}$, embora no fígado o grupo ensaio apresente teores inferiores e no coração os apresente superiores.

Os valores obtidos inscrevem-se na tabela 10.5.14.

Órgãos avaliados	Taurina ($\mu\text{mol/g}$)	
	Grupo Ensaio $\bar{x} \pm \text{sd}$	Grupo Controlo $\bar{x} \pm \text{sd}$
Fígado	4,1 \pm 3,59	4,3 \pm 3,35
Coração	29,4 \pm 1,42	29,0 \pm 1,42

Tabela 10.5.14. Valores médios de taurina determinados no fígado e coração dos 2 grupos de ratos estudados

A ligeira diminuição de taurina hepática pode significar um gasto aumentado na estabilização das membranas contra o stress oxidativo de que, como se viu quando da discussão das variações de glutatona, há indícios no grupo ensaio.

A confirmar esta suposição refere-se o valor superior dos teores de taurina do coração do grupo ensaio, o que poderá estar relacionado com um stress crónico motivado pela ingestão de AG *trans*.

10.5.2.4. Vitamina E

A tabela 10.5.15. apresenta os valores de vitamina E determinados no soro e no fígado dos animais em estudo.

Órgãos avaliados	Vitamina E	
	Grupo Ensaio $\bar{x} \pm sd$	Grupo Controlo $\bar{x} \pm sd$
Soro ($\mu\text{g/ml}$)	10,2 \pm 1,47	9,3 \pm 1,56
Fígado ($\mu\text{g/g}$)	19,5 \pm 2,46	19,0 \pm 0,97

Tabela 10.5.15. Valores médios de vitamina E determinados no soro e fígado dos 2 grupos de ratos estudados

O grupo ensaio apresenta teores superiores quer no soro quer no fígado, embora sem diferenças significativas entre os 2 grupos.

De acordo com o referido em 10.5.1. o teor de AG insaturados dos lípidos totais dos órgãos avaliados, à excepção do rim, é superior no grupo ensaio.

Os AG *trans* incorporados nos lípidos dos órgãos incluem-se no grupo dos AG insaturados, mas como é sabido têm uma maior estabilidade à oxidação que os correspondentes isómeros *cis*.

Como foi também referido, em alguns órgãos verificou-se uma diminuição percentual de AG polinsat., tais como por exemplo C_{20:4}, o que pode ter alterado algumas propriedades das membranas, mas simultaneamente diminuiu, relativamente ao grupo controlo, a sua susceptibilidade à oxidação.

Talvez seja esta uma possível explicação para os teores mais elevados de vitamina E determinados no grupo ensaio.

Conclusão :

- Pelos resultados obtidos no ensaio descrito parece possível afirmar que a ingestão de trielaídina e trilinoelaídina, durante 4 semanas, em teores da ordem dos 18% dos lípidos ingeridos, não provoca efeitos adversos mensuráveis, em ratos Wistar.

Esta mesma opinião é partilhada por outros autores, Kinsella *et al.*, 1981, Opstvedt *et al.*, 1988, Pettersen *et al.*, 1988 e 1989.

- No entanto, as pequenas diferenças verificadas poderão querer insinuar efeitos subtis a nível celular, que prolongados no tempo acabem por causar alterações detectáveis.

- Numa transposição dos resultados para o homem, dadas as diferenças fisiológicas e diferenças nas necessidades nutricionais, e no caso de Portugal a sua ingestão ainda ser inferior à testada nestes ensaios *in vivo*, parece possível afirmar que a saúde pública não corre risco com os actuais teores de AG *trans* fornecidos nos lípidos alimentares.

CAPÍTULO 11

CONCLUSÕES GLOBAIS

Nos estudos levados a efeito sobre padrões de ácidos gordos e triésteres nas duas formas isoméricas *cis* e *trans* demonstrou-se que :

- Das metodologias analíticas, descritas na literatura, a que melhor se adaptava aos objectivos do estudo foi a GLC/FID de coluna capilar;
- Dos ácidos estudados, oleico e elaídico, o que sofreu maior degradação com o tratamento térmico foi o ácido oleico;
- Dos triésteres, trioleína, trielaídina, trilinoleína e trilinolelaídina, o que mostrou menor grau de alteração foi a trielaídina seguida da trilinolelaídina;
- Dos triésteres, o que se mostrou mais instável, nas condições em que se efectuou o estudo descrito, foi a trilinoleína.

Estes resultados estão em conformidade com os observados por outros investigadores.

A contribuição média, em ácidos gordos *trans*, dos produtos estudados revelou ser :

- Em 41 óleos vegetais comercializados em Portugal,

Azeite	$0,35 \pm 0,014\%$		(n=1),
Óleo alimentar	$0,54 \pm 0,395\%$	(0,11% - 1,48%)	(n=18),
Óleo de girassol	$0,42 \pm 0,333\%$	(0,13% - 1,33%)	(n=11),
Óleo de soja	$1,83 \pm 1,035\%$	(0,84% - 3,93%)	(n=6),
Óleo de amendoim	$0,51 \pm 0,227\%$	(0,09% - 0,66%)	(n=3),
Óleo de milho	$0,46 \pm 0,243\%$	(0,16% - 0,63%)	(n=2);

A contribuição média destes produtos alimentares no teor total de ácidos gordos *trans* ingeridos é da ordem de $0,67 \pm 0,682\%$;

- Em 8 marcas de margarinas (5 lotes de cada num total de 40 amostras)

	$7,12 \pm 4,659\%$	(0,45% - 14,22%);
--	--------------------	-------------------

- Em 7 amostras de manteiga de cacau
0,03±0,022% (não detectável - 0,06±0,012%);

Demonstra-se que a **manteiga de cacau tem um contributo insignificante no teor total de ácidos gordos *trans* ingeridos;**

- Em 4 amostras de CBE
0,24±0,098% (0,15% - 0,37%).

No estudo de degradação térmica em estufa a 145±5°C de 5 óleos vegetais (azeite, alimentar, amendoim, girassol, milho e soja), utilizando 10 parâmetros analíticos na avaliação da degradação (acidez, IP, IpA, IT, RO, CP, cor Lovibond, características cromáticas, absorvências no ultravioleta e composição em ácidos gordos e isómeros *trans*) e realizando amostragens aos tempos 0, 1, 3, 5, 10, 24, 48, 72 e 96 horas, verificou-se que :

- O azeite, virgem extra, foi o óleo vegetal que menor alteração sofreu e a amostra com um teor inferior de isómeros *trans*;
- No final do ensaio o óleo de girassol apresentava valores próximos dos máximos preconizados pela legislação internacional;
- O óleo alimentar foi o óleo que apresentou maior estabilidade no que concerne à composição em ácidos gordos, o que permite inferir que a mistura de óleos de diferentes origens pode ter um efeito estabilizador do conjunto;
- O óleo de milho é a amostra que apresenta no fim do ensaio um valor superior de RO;
- O óleo de soja é a amostra mais rica em ácidos gordos *trans*;

• É de salientar que todos os óleos, de acordo com a legislação internacional (acidez inferior a 1% e compostos polares entre 25 e 27%) podiam ainda ser consumidos;

• Verificou-se ocorrer isomerização *cis/trans* ao longo do tratamento térmico a 145±5°C. Esta isomerização adquire maior intensidade a partir das 24-48 horas de aquecimento;

• Um parâmetro que se revelou particularmente informativo neste estudo foi o IpA.

Nos ensaios de fritura conduzidos nas condições reais normalmente utilizadas em restauração semi-industrial, utilizando diferentes produtos (batatas, filetes de polvo e rissóis) observou-se que :

- A reposição de óleo novo é inevitável ao fim de 7 horas de fritura;
A adição de óleo novo apresenta um efeito benéfico, inicialmente, tornando-se inútil ou até pejorativo em fases mais adiantadas do processo;

- A rejeição do óleo de fritura ocorre fundamentalmente devido à alteração de qualidade das características organolépticas dos produtos fritos e da cor do banho de fritura. Regra geral ocorre muito antes de o óleo de fritura atingir os máximos para os parâmetros legislados internacionalmente para óleos de fritura (acidez máxima 1% e compostos polares 25-27%);

- A qualidade inicial do óleo tem extrema importância no tempo de utilização e no nível de degradação atingido;

São exemplo disso os ensaios de fritura de rissóis; das 2 amostras ensaiadas a que apresentava um maior nível oxidativo sofreu uma degradação mais intensa;

Na fritura de batatas verificou-se que o óleo usado no ensaio 1, de menor qualidade inicial, foi rejeitado muito antes da amostra usada no ensaio 2 sendo o primeiro rejeitado ao fim de 17h de fritura e o segundo apenas ao fim de 89h;

- A composição em ácidos gordos e isómeros *trans* do banho de fritura apresenta-se como um factor determinante na composição final da gordura do produto frito;

Tal facto mostrou-se evidente nos ensaios de fritura de rissóis. Rissóis com igual teor de ácidos gordos *trans* antes de fritar (1,62%) apresentavam teores muito diversos após fritura em óleos com composição diferente (valores na ordem de 1,2% e 0,4% de ácidos gordos *trans*);

Nos ensaios de fritura de batatas também o produto frito apresentava teores de ácidos gordos *trans* diversos, dependentes da composição do banho de fritura.

- O tipo de alimento a fritar, nomeadamente o seu tipo de envolvimento, é um parâmetro a ter em conta no processo de fritura;

A absorção de gordura pelos alimentos estudados, batatas, rissóis de carne e filetes de polvo, com a fritura foi respectivamente de 5% nos rissóis, 8% nas batatas e 12% nos filetes de polvo;

A alteração de cor dos banhos de fritura é fortemente influenciada pela composição da camada exterior do alimento. A fritura de batatas durante 89h a $145 \pm 5^\circ\text{C}$

provocou uma alteração de cor do banho de fritura inferior à que ocorreu na fritura de filetes de polvo envoltos numa polme de farinha e ovo durante 1,5h a $180\pm 5^{\circ}\text{C}$;

- Ocorreu, ao longo dos processos de fritura, aumento dos teores de ácidos gordos *trans* contudo em níveis que não deverão ser considerados preocupantes.

Nos estudos comparativos de alteração de óleos quando aquecidos em estufa (sem arejamento) e durante a fritura em presença de alimentos de composição diversa, simulando alimentos ricos em glúcidos (batatas) e em prótidos (filetes de polvo e rissóis) ao fim de igual tempo de aquecimento (1,5h) observou-se que :

- Para ensaios que decorreram à mesma temperatura (aquecimento em estufa e fritura de batatas), à excepção da cor, a degradação ocorrida no óleo foi equivalente.

- A alteração sofrida pelos óleos mostrou-se mais intensa nos que estiveram sujeitos a temperaturas mais elevadas, informação veiculada pelos teores de compostos polares, de índice de *p*-anisidina e de variação de cor. Porém a isomerização *cis/trans* não foi significativa.

Como os teores de isómeros *trans* variam entre limites consideráveis, nos lípidos analisados, e influenciam os seus comportamentos posteriores ao calor, recomenda-se a inclusão no rótulo dos lípidos alimentares dos teores de ácidos gordos *trans* e o estabelecimento de limites admissíveis nos diferentes produtos.

Dos estudos *in vivo* de avaliação da disposição e da toxicidade (ensaio sub-agudo) de triésteres de ácidos gordos (trielaidina e trilinoelaidina) fornecidos pela dieta (teor total de ácidos gordos *trans* 18,9%), efectuados com ratos Wistar, é possível inferir:

- ausência de efeitos adversos mensuráveis, tendo em conta os parâmetros bioquímicos e de toxicidade seleccionados;

- absorção e incorporação dos ácidos gordos *trans* estudados (ácidos elaidico e linolelaidico), em teores diversos, nos lípidos totais dos diferentes órgãos avaliados, à excepção do cérebro;

A incorporação de ácido eláidico e ácido linolelaídico ocorreu do seguinte modo, respectivamente :

Intestino delgado	2,7%	2,1%
Coração	3,1%	1,2%
Fígado	2,3%	1,6%
Pulmão	1,4%	0,9%
Rim	0,85%	0,35%
Baço	1,3%	1,0%
Sangue total	1,6%	0,7%
Cérebro	Não se verificou incorporação destes isómeros.	

A ingestão total de ácidos gordos *trans* da população portuguesa, modelo de dieta em que os lípidos intervêm com 30% das calorias ingeridas, e dentro destas 20% são obtidas da ingestão de margarinas e óleos vegetais, respectivamente 10% para cada tipo de lípidos referido, deverá ser da ordem de 2,8 g/dia.

O valor obtido tem confirmação em investigação efectuada posteriormente em tecido adiposo abdominal de mulheres portuguesas.

BIBLIOGRAFIA

- Ackman, R. G. (1986) "WCOT (capillary) Gas-Liquid Chromatography" cap. 4 de "Analysis of oils and fats" edited by R. J. Hamilton e J. B. Rossell, Elsevier Applied Science Publishers, 137-206
- Ackman, R. G.; Hooper, S. N. (1974) "cis and trans isomerism in some polyethylenic C₁₈ fatty acids : open-tubular GLC data for the liquid phases Butanediolsuccinate, Silar-5CP, and Apiezon-L"; *J. of Chrom. Sci.*, **12**, 131-38
- Adams, J.D.; Lauterburg, B.H.; Mitchell, J.R. (1983) "Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat : regulation and response to oxidative stress"; *The J. of Pharmac. and Experim. Therap.*, **227**, 3, 749-754
- Alam, S.Q.; Alam, B.S.; Banerji, A. (1985) "Incorporation of trans fatty acids into submandibular salivary gland lipids"; *Lipids*, **20**, 1, 16-23
- Alam, S.Q.; Banerji, A.; Alam, B.S. (1985) "Membrane fluidity and adenylate cyclase activity in the lacrimal glands of rats fed diets containing trans fatty acids"; *Curr. Eye Res.*, **4**, 12, 1253-62
- Alam, S.Q.; Ren, Y.-F.; Alam, B.S. (1989) " Effect of dietary trans fatty acids on some membrane-associated enzymes and receptors in rat heart"; *Lipids*, **24**, 1, 39-44
- Alaniz, M.J.T.; Gomez Dumm, I.N.T.; Brenner, R.R. (1986) "Effect of different acids with $\Delta^9,12$ -dienoic structures on Δ^9 desaturation activity in rat liver microsomes"; *Lipids*, **21**, 7, 425-429
- Andrikopoulos, N.K.; Tzamtzis, U.A.; Giannopoulos, G.A.; Kalantzopoulos, G.K.; Demopoulos, C.A. (1989) "Deterioration of some vegetable oils. I. During heating or frying of several foods. Note de laboratoire. ", *Rev. Fr. des Corps Gras*, **36**, 3/4, 127-129
- AOAC Official methods of analysis (1990)
- Armstrong, S. G.; Bergan, J. G. (1992) "Factors affecting stability and nutritive value of fatty acids : culinary practices", cap. 15 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 353-63
- Aronhime, J.S.; Sarig, S.; Garti, N. (1988) "Reconsideration of polymorphic transformations in cocoa butter using the DSC"; *JAOCS*, **65**, 7, 1140-43
- Astorg, P.-O.; Chevalier, J. (1987) "Polyunsaturated fatty acids in tissues of rats fed trielaidin and high or low levels of linolenic acid"; *Lipids*, **22**, 12, 1025-1030
- Athnassios, A. K.; Healy, E. J.; Gross, A. F.; Templeman, G. J. (1986) "Determination of cis, cis-methylene interrupted polyunsaturated fatty acids in fats and oils by capillary Gas Chromatography"; *JAOAC*, **69**, 1, 65-67
- Awad, A.B.; Chattopadhyay, J.P. (1983) "Alteration of rat heart sarcolemma lipid composition by dietary elaidic acid"; *J. Nutr.*, **113**, 4, 913-20
- Azpilicueta, M.C.A.; Remíz, M.T.M. (1991) "Estudio de la degradación de los aceites de oliva sometidos a fritura. I. Determinación estadística del parámetro que mejor cuantifica a esta degradación", *Grasas y Aceites*, **42**, 1, 22-31
- Baliga, B.P.; Shitole, A.D. (1981) " Cocoa butter substitutes from mango fat"; *JAOCS*, **58**, 2, 110-14
- Barrera-Arellano, D.; Esteves, W. (1992) "Oxidative stability of potato chips determined by Rancimat"; *JAOCS*, **69**, 4, 335-37
- Barron, L.J.R.; Santa-Maria, G. (1991) "Los lípidos de los alimentos : aspectos nutricionales y efectos sobre la salud"; *Alim. Equipos y Tecnol.*, Abril, 145-50.

- Beare-Rogers, J. (1991) "Nutrition recommendations in Canada"; comunicação apresentada no AOCS Annual Meeting de 1991; *Inform*, 2, 4, 326
- Bernard, A.; Echinard, B.; Carlier, H. (1987) "Differential intestinal absorption of two fatty acid isomers: elaidic and oleic acids"; *Am. J. Physiol.*, 253, G 751-G 759
- Biagi, P.L.; Maranesi, M. (1984) "Dietary *trans*-fatty acid effects on mitochondrial functionality and phospholipid composition in rat perfused hearts in oxygenation and anoxia"; *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, LX, 5, 1029-35
- Blomstrand, R.; Diczfalusy, V.; Sisfontes, L.; Svensson, L. (1985) "Influence of dietary partially hydrogenated vegetable and marine oils on membrane composition and function of liver microsomes and platelets in the rat"; *Lipids*, 20, 5, 283-95
- Bloomer, S.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B. (1990) "Triglyceride interesterification by lipases. I. Cocoa butter equivalents from a fraction of palm oil"; *JAOCS*, 67, 8, 519-24
- Blumenthal, M.M. (1991) "A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying"; *Food Techn.*, Fev., 68-71.
- Boatella, J.; Rafecas, M.; Codony, R.; Gilbert, A.; Rivero, M.; Tormo, R.; Infante, D.; Sanchez-Valverde, F. (1993) "*Trans* fatty acid content of human milk in Spain"; *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 16, 4, 432-4
- Booyens, J.; Louwrens, C.C.; Katzeff, I.E. (1988) "The role of unnatural dietary *trans* and *cis* unsaturated fatty acids in the epidemiology of coronary artery disease"; *Med. Hypotheses*, 25, 3, 175-82
- Boskou, D.; Karapostolakis, A. (1983) "Fatty acid composition and *trans* isomer content of hardened olive oil"; *JAOCS*, 60, 8, 1517-19
- Bruckner, G.; Shimp, J.; Goswami, S.; Mai, J.; Kinsella, J.E. (1982) "Dietary trilinoelaidate: effects on metabolic parameters related to EFA metabolism in rats"; *J. Nutr.*, 112, 1, 126-35
- Bruckner, G. (1992) "Fatty acids and cardiovascular diseases"; cap. 32 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 735-52
- Buettner, G.R. (1993) "The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate"; *Arch. of Bioch. and Bioph.*, 300, 2, 535-543
- Calvet, M.; Codony, R.; Hernández, N.; Pinto, B. A.; Rafecas, M.; Boatella, J. (1990) "Contenidos de ácidos grasos *trans* en alimentos"; comunicação apresentada no III Congreso Nacional y Internacional Farmaceutico de Alimentacion, 17-20 Outubro, Alicante, Espanha
- Catignani, G.L.; Bieri, J.G. (1983) "Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in serum or plasma by liquid Chromatography"; *Clin. Chem.* 29, 4, 708-712
- Chang, M.-K.; Abraham, G.; John, V.T. (1990) "Production of cocoa butter-like fat from interesterification of vegetable oils"; *JAOCS*, 67, 11, 832-34
- Cho, Y.-J.; Ide, T.; Sugano, M. (1986) "Dietary manipulation of the disappearance of *trans*-octadecenoates in rat tissues"; *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 32, 497-506
- Chong, C. N.; Hoh, Y. M.; Wang, C. W. (1992) "Fractionation procedures for obtaining cocoa butter-like fat from enzymatically interesterified palm olein"; *JAOCS*, 69, 2, 137-40
- Chow, C.K. (1992) "Biological effects of oxidized fatty acids"; cap. 30 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 689-706
- Christiansen, E.N.; Flatmark, T.; Kryvi, H. (1981) "Effects of marine oil diet on peroxisomes and mitochondria of rat liver. A combined biochemical and morphometric study"; *Eur. J. Cell. Biol.*, 26, 1, 11-20
- Christie, W. W. (1982) "Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids" 2ª Edição Pergamon Press
- Christie, W. W. (1991) "Recent developments in high-performance liquid and gas chromatography of lipids"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, 38, 5/6, 155-60
- Christie, W.W. (1993) "Determination of fatty acids structure" *Inform*, 4, 1, 85-91

- Christie, W. W.; Breckenridge, G. H. McG. (1989) "Separation of *cis* and *trans* isomers of unsaturated fatty acids by High-Performance Liquid Chromatography in the silver ion mode"; *J. Chromat.*, **469**, 261-69
- Clark, W.L.; Serbia, G.W. (1991) "Safety aspects of frying fats and oils"; *Food Techn.*, Fev., 84-89
- Cohn, W.; Goss-Sampson, M.A.; Grun, H.; Muller, D.P.R. (1992) "Plasma clearance and net uptake of α -tocopherol and low-density lipoprotein by tissues in WHHL and control rabbits"; *Biochem. J.*, **287**, 247-254
- Coll Hellín, L.; Ruiz, M. L. G. (1989) "Determinación de ácidos grasos *trans* -insaturados en grasas anhidras"; *Grasas y Aceites*, **40**, 3, 173-77
- Coll Hellín, L.; Ruiz, M. L. G. (1989) "Determinación de ácidos grasos *trans* -insaturados en margarinas y mantequillas"; *Anales de Bromatología*, **XLI**, 1, 115-28
- Combe, N.; Rahmani-Jourdheuil, D.; Rietsch, J.; Wolff, R.; Entressangles, B. (1981) "Incorporation des acides gras *trans* dans les membranes biologiques"; *La Riv. Ital. delle Sost. Grasse*, **LXIII**, Nov., 548-555
- (1992) "Consumers receiving conflicting messages"; *Inform*, **3**, 6, 676-77
- Cook, H.W. (1981) "The influence of *trans*-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain"; *Lipids*, **16**, 12, 920-926
- Craig-Schmidt, M. C. (1992) "Fatty acid isomers in foods"; cap. 16 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 365-98
- Cuesta, C.; Sánchez-Muniz, F.J. (1991) "Tecnología de la fritura. Alteraciones de las grasas utilizadas en frituras debidas al proceso, tipo de grasa culinaria y alimento"; *Alim. Equip. y Tecnol.*, Abril, 101-09
- Cuesta, C.; Sánchez-Muniz, F.J.; López-Varela, S.; Garrido-Polonio, M^cC.; Diz, L.G. (1993) "Alteración termoxidativa en un aceite de girasol utilizado en 75 frituras de patatas. Efectos de su inclusión en dietas sobre crecimiento e ingesta en ratas"; *Grasas y Aceites*, **44**, 4-5, 263-269
- De Man, J. M. (1992) "Chemical and physical properties of fatty acids"; cap. 2 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 17-45
- Deman, L.; Deman, J. M. (1983) "*Trans* fatty acids in milk fat"; *JAOCS*, **60**, 6, 1095-98
- Denise, J. (1982) "L'hydrogénation sélective des huiles de soja et de colza"; 5^a parte de "Le raffinage des corps gras"; Westhoek editions, Les éditions des Beffrois, 162-65
- Denke, M.A. (1991) "Monounsaturates and nutrition"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA, *Inform*, **2**, 4, 347
- Deschuytere, A.; Deelstra, H. (1986) "Determination of vitamin E in different biological samples by high-pressure liquid chromatography"; *Fresenius Z Anal. Chem.*, **324**, 1-4
- Dimick, P.S.; Manning, D.M. (1987) "Thermal and compositional properties of cocoa butter during static crystallization"; *JAOCS*, **64**, 12, 1663-69
- Dobarganes, M.C.; Pérez-Camino, M.C.; (1988) "Fatty acids composition: a useful tool for the determination of alteration level in heated fats"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **35**, 2, 67-70
- Dobarganes, M.C.; Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G. (1989) "Determinación de compuestos polares en aceites y grasas de fritura"; *Grasas y Aceites*, **40**, 1, 35-38
- Dotson, K. (1992) "Key trends in fats and oils in 1990s spotlighted at Danish Conference"; *Inform*, **3**, 6, 688-94
- Draguet de Hault, E.; Demoulin, A. (1984) "Partial hydrogenation of polyunsaturated fatty materials"; *JAOCS*, **61**, 2, 195-200
- D'Souza, V.; deMan, J.M.; deMan, L. (1992) "Chemical and physical properties of the solid fats in commercial soft margarines"; *JAOCS*, **69**, 12, 1198-205

- Enig, M.G.; Pallansch, L.A.; Sampugna, J.; Keeney, M. (1983) "Fatty acids composition of the fat in selected food items with emphasis on *trans* components"; *JAOCS*, **60**, 1788-1795
- Enig, M.G.; Atal, S.; Keeney, M.; Sampugna, J. (1990) "Isomeric *trans* fatty acids in the U.S. diet"; *J. Am. College Nutr.*, **9**, 471-86
- Erickson, K.L.; Schlanger, D.S.; Adams, D.A.; Fregeau, D.R.; Stern, J.S. (1984) "Influence of dietary fatty acid concentration and geometric configuration on murine mammary tumorigenesis and experimental metastasis"; *J. Nutr.*, **114**, 10, 1834-42
- Fábregas, J.J.P.; Riera, J.B.; Boronat, M.C. de la T. (1985) "Modificaciones químicas de los aceites calentados"; *Grasas y Aceites*, **36**, 3, 217-222
- Fedeli, E. (1988) "The behaviour of olive oil during cooking and frying" cap. 4 de "Frying of food. Principles, changes, new approaches" edited by G.Varela, A.E. Bender and I.D. Morton, Ellis Horwood Series in Food Science and Technology, 52-81
- Ferreira, M.A.; Fernandes, J.O. (1989) "Micro-ondas: sim ou não? Suas vantagens e inconvenientes no tratamento dos alimentos"; *Alimentar*, **3**, 18, 54-57
- Firestone, D. (1984) "Oils and Fats" cap. 28 de AOAC Official methods of analysis; Associate Chapter Editor Food Drug Administration, 503-32
- Firestone, D.; Stier, R.F.; Blumenthal, M.M. (1991) "Regulation of frying fats and oils"; *Food Techn.*, Feb., 90-94
- Flatmark, T.; Nilsson, A.; Kvannes, J.; Eikhom, T.S.; Fukami, M.H.; Kryvi, H.; Christiansen, E.N. (1988) "On the mechanism of induction of the enzyme systems for peroxisomal β -oxidation of fatty acids in rat liver by diets rich in partially hydrogenated fish oil"; *Biochim. Biophys. Acta*, **962**, 1, 122-30
- Folch, J.; Lees, M.; Sloane Stanley, G.H. (1957) "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues"; *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-502
- Fritsh, C.W. (1981) "Measurements of frying fat deterioration: a brief review"; *J.A.O.C.S.*, World Conference on soya processing and utilization, Março, 272-274
- Gaydou, E. M. (1984) "Sterols, methyl sterols, triterpene alcohols and fatty acids of the kernel fat of different malagasy mango (*Mangifera indica*) varieties"; *JAOCS*, **61**, 10, 1589-93
- Gegiou, D.; Staphylakis, K. (1985) "Detection of cocoa butter equivalents in chocolate"; *JAOCS*, **62**, 6, 1047-51
- Gildenberg, L.; Firestone, D. (1985) "Gas chromatographic determination of *trans* unsaturation in margarine : collaborative study"; *JAOAC*, **68**, 1, 46-51
- Ginsberg, H.N. (1991) "Effects of monounsaturated and polyunsaturated fats on plasma lipids and lipoproteins in normal males"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA, *Inform*, **2**, 4, 347
- Goh, S.H.; Yeong, S.K.; Wang, C.W. (1993) "Transesterification of cocoa butter by fungal lipases : effect of solvent on 1,3-specificity"; *JAOCS*, **70**, 6, 567-70
- Grandgirard, A.; Sebedio, J.L.; Fleury, J. (1984) - "Geometrical isomerization of linolenic acid during heat treatment of vegetable oils"- *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **61**, 10, 1563-1568.
- Grandgirard, A.; Julliard, F.; Prevost, J.; Sebedio, J. L. (1987) "Preparation of geometrical isomers of linolenic acid"; *JAOCS*, **64**, 10, 1434-40
- Grandgirard, A.; Piconneaux, A.; Sebedio, J.L.; O'Keefe, S.F.; Semon, E.; Le Quére, J.L. (1989) - "Occurrence of geometrical isomers of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in liver lipids of rats fed heated linseed oil "- *Lipids*, **24**, 9, 799-804.
- Gray, M.S.; Lovegren, N.V.; Feuge, R.O. (1976) "Effect of 2-oleodipalmitin and 2-elaidodipalmitin on polymorphic behavior of cocoa butter"; *JAOCS*, **53**, 12, 727-31
- Grompone, M.A. (1991) "El índice de anisidina como medida del deterioro latente de un material graso"; *Grasas y Aceites*, **42**, 1, 8-13

- Guillen-Sans, R.; Guzman-Chosas, M. (1993) "Oxidative alterations of edible vegetable fats and oils measured by the thiobarbituric acid assay: applied methodologies"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **40**, 1/2, 49-52
- Gunstone, F. D. (1979) "Fatty acids"; Parte 25 "Lipid chemistry and biochemistry"; Volume 5 Haslam "Biological compounds"; Comprehensive organic chemistry. The synthesis and reactions of organic compounds; Chairman and deputy chairman of the editorial board Sir Derek Barton. F.R.S. and W. David Ollis. F.R.S., 587-632
- Gunstone, F. D. (1986) "Chemical properties" cap. 10 de "The Lipid Handbook"; edited by Frank D. Gunstone, John L. Harwood e Fred B. Padley, Chapman and Hall, 449-84
- Hamilton, R. J. (1986) "Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography" cap. 6 de "Analysis of oils and fats" edited by R. J. Hamilton e J. B. Rossell. Elsevier Applied Science Publishers, 243-311
- Hammond, E.G. (1992) "Genetic alteration of food fats and oils" cap. 12 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 313-27
- Hasenhuettl, G.L.; Wan, P.J. (1992) "Temperature effects on the determination of oxidative stability with the Metrohm Rancimat"; *JAOCS*, **69**, 6, 525-527
- Heckers, H.; Melcher, F. W. (1978) "Trans-isomeric fatty acids present in West German margarines, shortenings, frying and cooking fats"; *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 6, 1041-49
- Hernández i Rabascall, N.; Boatella e Riera, J. (1988) "Contenidos de isómeros trans de los ácidos grasos en margarinas"; *Grasas y Aceites*, **39**, 348-52
- Hernández, N.; Codony, R.; Rafecas, M.; Boatella, J. (1991) "Contenidos de isómeros trans de los ácidos grasos en productos cárnicos (I) Embutidos"; *Grasas y Aceites*, **42**, 2, 143-47
- Hoffmann, G. (1986) "Edible oils and fats", cap. 5 "Quality control in the food industry"; vol. 2, edited by S. M. Herschdoerfer, Second Edition, Food Science and Technology, 407-504
- Hogan, M.L.; Shamsuddin, A.M. (1984) "Large intestinal carcinogenesis. I. Promotional effect of dietary fatty acid isomers in the rat model"; *J. Natl. Cancer Inst.*, **73**, 6, 1293-6
- Hogenbirk, G. (1991) "Cocoa butter replacer-fats"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA
- Holmer, G.; Hoy, C.E.; Kirstein, D. (1982) "Influence of partially hydrogenated vegetable and marine oils on lipid metabolism in rat liver and heart"; *Lipids*, **17**, 9, 585-93
- Hoy, C.E.; Holmer, G. (1990) "Influence of dietary linoleic acid and trans fatty acids on the fatty acid profile of cardiolipins in rats"; *Lipids*, **25**, 8, 455-59
- Hrivnak, J.; Soják, L.; Krupcik, J.; Duchesne, Y. P. (1973) "Effect of temperature on the separation of some Δ^9 -cis-trans isomers of methyl esters of fatty acids by open tubular gas chromatography"; *JAOCS*, **50**, 3, 68-71
- Hunter, J.E.; Ip, C.; Hollenbach; E.J. (1985) "Isomeric fatty acids and tumorigenesis: a commentary on recent work"; *Nutr. Cancer*, **7**, 4, 199-209
- Hunter, J.E. (1991) "Dietary fat, thrombosis links reviewed"; *Inform*, **2**, 8, 723-26
- Hunter, J.E. (1992) "NIH hosts meeting on triglycerides, HDL, CHD"; *Inform*, **3**, 6, 702-705
- Hunter, J.E. (1992a) "Safety and health effects of isomeric fatty acids"; cap. 37 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 857-68
- Hwang, D.H.; Chanmugam, P.; Anding, R. (1982) "Effects of dietary 9-trans, 12-trans linoleate on arachidonic acid metabolism in rat platelets"; *Lipids*, **17**, 4, 307-13
- Hwang, D. (1992) "Dietary fatty acids and eicosanoids"; cap. 24 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 545-57
- Ide, T.; Sugano, M. (1984) "Oxidation and esterification of cis and trans-isomers of octadecenoic and octadecadienoic acids in isolated rat liver"; *Biochim. Biophys. Acta*, **794**, 2, 281-91

- Ide, T.; Sugano, M. (1986) "Stain dependence of the metabolism of *cis* and *trans*-isomers of 9-octadecenoic acid in perfused liver and cell-free preparation in rats"; *Biochim. Biophys. Acta*, **877**, 1, 104-11
- Ide, T.; Watanabe, M.; Sugano, M.; Yamamoto, I. (1987) "Activities of liver mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation enzymes in rats fed *trans* fat"; *Lipids*, **22**, 1, 6-10
- Jacotot, B.; Sola-Alberich, R. (1991) "Effect of dietary monounsaturated fats on HDL fluidity and composition"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA, *Inform*, **2**, 4, 347
- Jandacek, R. J. (1992) "Commercial applications of fatty acid derivatives in foods"; cap. 17 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 399-427
- Jornal Oficial das Comunidades Europeias (1991), L248, 5 Setembro
- Kamel, B.S.; Kakuda, Y. (1992) "Fatty acids in fruits and fruit products"; cap. 10 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 263-98
- Kaplowitz, N.; Aw, T.Y.; Ookhtens, M. (1985) "The regulation of hepatic glutathione"; *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **25**, 715-744
- Katan, M.B.; Mensink, R.P. (1991) "*Trans* fatty acids decrease high-density lipoprotein cholesterol levels in man"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA, *Inform*, **2**, 4, 348
- Kawahara, Y. (1993) "Progress in fats, oils food technology"; *Inform*, **4**, 6, 663-67
- Kinsella, J.E.; Bruckner, G.; Mai, J.; Shimp, J. (1981) "Metabolism of *trans* fatty acids with emphasis on the effects of *trans*, *trans*-octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acids and prostaglandins: an overview"; *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 10, 2307-18
- Koletzko, B. (1992) "*Trans* fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man"; *Acta Paediatr.*, **81**, 4, 302-6
- Koseoglu, S. S. (1991) "Soybean oil hydrogenation via a unique reactor" Processing, *Inform*, **2**, 7, 631-36
- Kritchevsky, D. (1982) "*Trans* fatty acids effects in experimental atherosclerosis"; *Fed. Proc.*, **41**, 11, 2813-17
- Kurata, N.; Privett, O.S. (1980) "Effects of dietary *trans* acids on the biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes"; *Lipids*, **15**, 12, 1029-36
- (1992) "Labeling, oilseeds key topics at USDA meeting"; *Inform*, **3**, 2, 187-93
- Lanser, A. C.; Emken, E. A. (1988) "Comparison of FTIR and capillary gas Chromatographic methods for quantitation of *trans* unsaturation in fatty acid methyl esters"; *JAOCS*, **65**, 9, 1483-87
- Lanza, E.; Slover, H. T. (1981) "The use of SP 2340 glass capillary columns for the estimation of the *trans* fatty acids content of foods"; *Lipids*, **16**, 4, 260-67
- Larsen, B.R.; Grosso, D.S.; Chang, S.Y. (1980) "A rapid method for taurine quantitation using high performance chromatography"; *J. of Chrom. Sci.*, **18**, 233-236
- Lavoue, G.; Bezaud, J. (1969) "Separation of oleic, elaidic and 9*cis* -, 12*cis* -, 9 *trans*-, 12 *trans*-linoleic acids by Capillary Column Gas Chromatography"; *J. of Chrom. Sci.*, **7**, 375-377
- Lercker, G.; Zullo, C.; Tortorelli, A. (1987) "Contenuto di *trans* isomeri negli acidi grassi delle margarine del commercio"; *Riv. Ital. delle Sost. Gras.*, **LXIV**, 11, 469-73
- Liu, H.-R.; White, P. J. (1992)a "Oxidative stability of soybean oils with altered fatty acid compositions"; *JAOCS*, **69**, 6, 528-32
- Liu, H.-R.; White, P. J. (1992)b "High-temperature stability of soybean oils with altered fatty acid compositions"; *JAOCS*, **69**, 6, 533-37

- London, S.J.; Sacks, F.M.; Caesar, J.; Stampfer, M.J.; Siguel, E.; Willett, W.C. (1991) "Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue and diet in postmenopausal U.S. women"; *Am. J. Clin. Nutr.*, **54**, 2, 340-5
- London, S.J.; Sacks, F.M.; Stampfer, M.J.; Henderson, I.C.; Maclure, M.; Tomita, A.; Wood, W.C.; Remine, S.; Robert, N.J.; Dmochowski, J.R. (1993) "Fatty acid composition of the subcutaneous adipose tissue and risk of proliferative benign breast disease and breast cancer"; *J. Natl Cancer Inst. (US)*, **85**, 10, 785-93
- Look, H.W. (1981) "The influence of *trans*-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain"; *Lipids*, **16**, 12, 920-6
- Lluch, M.C.; Pascual, J.; Parcerisa, J.; Guardiola, F.; Codony, R.; Rafecas, M.; Boatella, J. (1993)a "Contenidos de isómeros *trans* de los ácidos grasos en productos cárnicos. (II) Tejido adiposo y grasa intramuscular de cerdo"; *Grasas y Aceites*, **44**, 2, 97-100
- Lluch, M.C.; Roca de Vinyals, M.; Parcerisa, J.; Guardiola, F.; Codony, R.; Rafecas, M.; Boatella, J. (1993)b "Contenidos de isómeros *trans* de los ácidos grasos en productos cárnicos. (III) Tejido adiposo y grasa intramuscular de vacuno"; *Grasas y Aceites*, **44**, 3, 195-200
- Madison, B. L.; Depalma, R. A.; D'Alonzo, R. P. (1982) "Accurate determination of *trans* isomers in shortenings and edible oils by Infrared Spectrophotometry"; *JAOCS*, **59**, 4, 178-81
- Mahfouz, M.M.; Johnson, S.; Holman, R.T. (1980) "The effect of isomeric *trans*-18:1 acids on the desaturation of palmitic, linoleic, and eicosa-8,11,14-trienoic acids by rat liver microsomes"; *Lipids*, **15**, 2, 100-7
- Mahfouz, M. (1981) "Effect of dietary *trans* fatty acids on the $\Delta 5$, $\Delta 6$ and $\Delta 9$ desaturases of rat liver microsomes *in vivo*"; *Acta Biol. Med. Ger.*, **40**, 12, 1699-705
- Mahfouz, M.M.; Osman, M.Y.; El-Habet, A.E. (1982) "Effect of dietary *trans* fatty acids on cholinesterase and monoamine oxidase activities in different organs of rats"; *Acta Biol. Med. Ger.*, **41**, 4, 355-63
- Mallet, G.; Dimitriades, C.; Ucciani, E.; Morin, O. (1989) "Hydrogénation d'esters d'acide gras catalysée par du palladium sur charbon. Structure des isomères formés. Mémoire scientifique"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **36**, 1, 21-25
- Mallet, G.; Ucciani, E.; Morin, O. (1984) "Hydrogénation des acides gras triéniques II- Isomères *trans* obtenus par isomérisation des produits d'hydrogénation par l'hydrazine des acides α et γ -linoléiques"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **31**, 9, 347-55
- Marsic, V.; Yodice, R.; Orthofer, F. (1992) "The dietary role of monounsaturates"; *Inform.*, **3**, 6, 681-86
- McDonald, R. E.; Armstrong, D. J.; Kreishman, G. P. (1989) "Identification of *trans*-diene isomers in hydrogenated soybean oil by Gas Chromatography, silver nitrate Thin-Layer Chromatography, and ^{13}C NMR Spectroscopy"; *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 637-42
- Mensink, R.P.; Katan, M.B. (1990) "Effects of dietary *trans* fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects"; *The New Eng. J. of Medicine.*, **323**, 7, 439-445
- Mensink, R.P.; de Louw, M.H.; Katan, M.B. (1991) "Effects of dietary *trans* fatty acids on blood pressure in normotensive subjects"; *Eur. J. Clin. Nutr.*, **45**, 8, 375-82
- Mensink, R.P.; Zock, P.L.; Katan, M.B.; Hornstra, G. (1992) "Effect of dietary *cis* and *trans* fatty acids on serum lipoprotein (a) levels in humans"; *J. Lipid Res.*, **33**, 10, 1493-501
- Meydani, D.V.M.M. (1992) "Protective role of dietary vitamin E on oxidative stress in aging"; *Age*, 89-93
- Monferrer, A.; Villalta, J. (1993) "La fritura desde un punto de vista práctico (I)"; *Alim. Equip. y Tecnol.*, Abril, 87-91

- Moore, C.E.; Alfin-Slater, R.B.; Aftergood, L. (1980) "Incorporation and disappearance of *trans* fatty acids in rat tissues"; *The Am. J. of Clin. Nut.*, **33**, 2318-2323
 - Mordret, F.; Prévot, A.; Perrin, J.-L.; Coustille, J.-L.; Morin, O. (1987) "Applications des récents progrès des méthodes chromatographiques à l'analyse des corps gras"; *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **80**, 854, 9-24
 - Mossoba, M.M.; McDonald, R.E.; Armstrong, D.J.; Page, S.W. (1991) "Hydrogenation of soybean oil: a Thin-Layer Chromatography and Gas Chromatography / Matrix isolation / Fourier Transform Infrared study"; *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 695-99
 - Mossoba, M.M.; McDonald, R.E.; Chen, J.-Y.T.; Armstrong, D.J.; Page, S.W. (1990) "Identification and quantitation of *trans*-9, *trans*-12-octadecadienoic acid methylester and related compounds in hydrogenated soybean oil and margarines by Capillary Gas Chromatography-Matrix Isolation / Fourier Transform Infrared Spectroscopy"; *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 86-92
 - Mouecoucou, J.; Astorg, P.O. (1990) "Incorporation de l'acide élaïdique dans les lipides de cardiomyocytes en culture primaire. Transformations métaboliques en autres chaînes *trans*"; *Rev. Franç. des Corps Gras*, **37**, 1/2, 3-9
 - Mounts, T.L.; Warner, K.; List, G.R.; Kleiman, R.; Fehr, W.R.; Hammond, E.G.; Wilcox, J.R. (1988) "Effect of altered fatty acids composition on soybean oil stability"; *JAOCS*, **65**, 4, 624-28
 - Mutter, M.; Homan, H. R. (1987) "Estimation of amount of *trans*, *trans*-isomers of octadecadienoic acids in hydrogenated oils and fats"; *J. of High Resolut. Chrom. & Chromat. Communicat.*, **10**, 12, 672-73
 - Nestel, P.; Noakes, M.; Belling, B.; Mc Arthur, R.; Clifton, P.; Janus, E.; Abbey, M. (1992) "Plasma lipoprotein lipid and Lp(a) changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet"; *J. Lipid Res.*, **33**, 7, 1029-36
 - Nishiyama, K.; Ide, T.; Sugano, M. (1985) "Activities of liver mixed function oxidase system in rats fed *trans* fat"; *Lipids*, **20**, 5, 325-327
 - Ng, S.; Koh, H. F. (1988) "Detection of *cis*-vaccenic acid in palm oil by ¹³C NMR Spectroscopy"; *Lipids*, **23**, 2, 140-43
 - (1978) NP-1539 Óleo de soja. Definição, características e acondicionamento.
 - (1979) NP-961 Óleo de girassol. Definição, características e acondicionamento.
 - (1981) NP-945 Óleo de amendoim. Definição, características e acondicionamento.
 - (1981) NP-946 Óleo de milho. Definição, características e acondicionamento.
 - (1984) NP-1819 Determinação do índice de *p*-anisidina
 - (1985) NP-896 Gorduras e óleos comestíveis. Preparação das amostras para laboratório
 - (1986) NP-970 Gorduras e óleos comestíveis. Absorvências no ultravioleta.
 - (1987) NP-903 Gorduras e óleos comestíveis. Determinação do índice de acidez e da acidez.
- Método titrimétrico.
- (1987) NP-904 Gorduras e óleos comestíveis. Determinação do índice de peróxido
 - (1987) NP-937 Gorduras e óleos comestíveis. Determinação da cor dos óleos e suas características cromáticas
 - (1987) NP-2037 Gorduras e óleos comestíveis. Óleo alimentar. Definição, características e acondicionamento.
 - (1989) NP-972 Azeite. Definição, características e acondicionamento.
 - (1992) NP-4008 Gorduras e óleos comestíveis. Determinação dos compostos polares.
 - (1989) NP-972 Azeite. Definição, características e acondicionamento.
 - Oliveira, M.B.P.P.; Sousa, M.L.; Ferreira, M.A. (1988) "Estudo da gordura de chocolate de algumas marcas comerciais"; comunicação apresentada no II Congresso Nacional de Ciências Farmacêuticas, Montechoro, Algarve, 10-13 Nov.

- Oliveira, M.B.P.P.; Sousa, M.L.; Ferreira, M.A.; Proença, E.B. (1990) "Estudo dos ácidos gordos e dos esteróis da manteiga de cacau e de seus substitutos por cromatografia em fase gasosa"; comunicação apresentada no III Congresso Nacional y I Internacional Farmacéutico de Alimentación, Alicante, Espanha, 17-20 Out.
- Oliveira, M.B.P.P.; Sousa, M.L.; Alves, A.; Ferreira, M.A. (1990) "Estudo da gordura de várias marcas comerciais de chocolate"; comunicação apresentada no III Congresso Nacional y I Internacional Farmacéutico de Alimentación, Alicante, Espanha, 17-20 Out.
- Oliveira, M.B.P.P.; Ferreira, M.A. (1991) "Controlo de qualidade de margarinas 1. Estudo químico comparativo das margarinas de fabrico nacional" *Rev. Port. de Nutrição*, **III**, 4, 32-38
- Oliveira, M.B.P.P.; Ferreira, M.A. (1992) "Controlo de qualidade de margarinas 2. Avaliação do teor de formas *trans* dos ácidos gordos das margarinas de fabrico nacional " *Rev. Port. de Nutrição*, **IV**, 2, 38-46
- Oliveira, M.B.P.P.; Ferreira, M.A. (1992a) "Controlo de qualidade de margarinas 3. Relação ácidos gordos essenciais / ácidos gordos saturados + formas *trans* + colesterol como forma de avaliação da qualidade nutricional "; *Rev. Port. de Nutrição*, **IV**, 3, 27-30,
- Opstvedt, J.; Pettersen, J.; Sverre, J.M. (1988) "Trans fatty acids. 1. Growth, fertility, organ weights and nerve histology and conduction velocity in sows and offspring"; *Lipids*, **23**, 7, 713-19
- Ostlund-Lindquist, A.-M.; Albanus, L.; Croon, L.-B. (1985) "Effect of dietary trans fatty acids on microsomal enzymes and membranes"; *Lipids*, **20**, 9, 620-3
- Padley, F.B.; Gunstone, F.D.; Harwood, J.-L. (1986) "Ocurrence and characteristic of oils and fats"; cap. 3 de "The lipid handbook"; Frank D. Gunstone, John L. Harwood e Fred B. Padley. Chapman and Hall, 49-112
- Palozza, P.; Moualla, S.; Krinsky, N.I. (1992) "Effects of β -carotene and α -tocopherol on radical-initiated peroxidation of microsomes"; *Free Radical Biology & Medicine*, **13**, 127-136
- Parthasarathy, S. (1991) "Role of oleic acid in the oxidative modification of LDL"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA. *Inform*, **2**, 4, 347
- Pease, J.J. (1985) "Confectionery fats from palm oil and lauric oil"; *JAOCS*, **62**, 2, 426-30
- Pelloquin, A.; Ucciani, E. (1973) "Recherches sur l'analyse des isomères de position de l'acide oléique II.- Éssais complémentaires et mise au point d'une méthode d'analyse"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **20**, 10, 557-65
- Pentland, A.P.; Morrison, A.R.; Jacobs, S.C.; Hruza, L.L.; Hebert, J.S.; Packer, L. (1992) "Tocopherol analogs suppress arachidonic acid metabolism via phospholipase inhibition"; *The J. of Biological Chemistry*, **267**, 5, 15578-15584
- Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Salgado Raposo, A.; Dobarganes, M.C. (1988) "Alteración de grasas usadas en fritura. III. Correlación entre índices analíticos y métodos de evaluación directa de compuestos de degradación"; *Grasas y Aceites*, **39**, 2, 72-76
- Perkins, E.G.; McCarthy, T.P.; O'Brien, M.A.; Kummerow, F.A. (1977) "The application of packed column Gas Chromatographic analysis to the determination of *trans* unsaturation"; *JAOCS*, **54**, 7, 279-81
- Perkins, E.G.; Smick, C. (1987) "Octadecatrienoic fatty acid isomers of partially hydrogenated soybean oil"; *JAOCS*, **64**, 8, 1150-55
- Perrin, J.-L.; Naudet, M. (1984) "Hemi-synthèse des isomères *cis-trans* / *trans-cis* de l'acide linoléique"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **31**, 11, 449-53
- Pettersen, J.; Opstvedt, J. (1988) "Trans fatty acids. 2. Fatty acid composition of the brain and other organs in the mature female pig"; *Lipids*, **23**, 7, 720-726
- Pettersen, J.; Opstvedt, J. (1989) "Trans fatty acids. 3. Fatty acid composition of the brain and other organs in the newborn piglet"; *Lipids*, **24**, 7, 616-624

- Picciano, M.F.; Perkins, E.G. (1977) "Identification of the *trans* isomers of octadecenoic acid in human milk"; *Lipids*, **12**, 4, 407-08
- Poumeyrol, G. (1987) "Étude de l'évolution des teneurs de monomères cycliques et de glycérides altérés d'huiles de friture utilisées en restauration"- *Rev. Fr. des Corps Gras*, **34**, 12, 543-546.
- Rabascall, N.H. (1988) "Tecnologia i valor nutritiu dels greixos comestibles: vitamina E i formes isomèriques dels àcids grassos"; Tesi doctoral, 235 pág.
- Rabascall, N.H.; Riera, J. B. (1988) "Contenidos de isómeros *trans* de los ácidos grasos en margarinas"; *Grasas y Aceites*, **39**, 6, 348-52
- Ratnayake, W.M.N.; Pelletier, G. (1992) "Positional and geometrical isomers of linoleic acid in partially hydrogenated oils"; *JAOCS*, **69**, 2, 95-105
- Reiser, R. (1981) "Nutrition and metabolism of *trans* fatty acids"; *La Riv. Ital. delle Sostanza Grasse*, **LVIII**, Nov., 565-570
- Record, I.R.; Konstantinopoulos, M.; Nestel, P.J. (1992) "A comparative study of micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of human subjects given dietary *cis*, *trans* and saturated fat"; *Fd Chem. Toxic.*, **30**, 7, 585-588
- Ren, Y.F.; Alam, S.Q.; Alam, B.S.; Keefer, L.M. (1988) "Adenylate cyclase and β -receptors in salivary glands of rats fed diets containing *trans* fatty acids"; *Lipids*, **23**, 4, 304-8
- Ritter, M.M.; Richter, W.O. (1992) "*Trans*-fettsaurer und lipide"; *Fortschr. Med.*, **110**, 12, 205-7
- Rosenthal, M.D.; Whitehurst, M.C. (1983) "Selective effects of isomeric *cis* and *trans* fatty acids on fatty acyl $\Delta 9$ and $\Delta 6$ desaturation by human skin fibroblasts"; *Biochim. Biophys. Acta*, **75**, 3, 450-9
- Rosenthal, M.D.; Doloresco, M.A. (1984) "The effects of *trans* fatty acids on fatty acyl $\Delta 5$ desaturation by human skin fibroblasts"; *Lipids*, **19**, 11, 869-874
- Rossell, J.B. (1983) "Measurement of rancidity "; cap. 2, 25-28 em Allen, J.C. e Hamilton, R.J. "Rancidity in foods", Applied Science Publishers
- Rossell, J.B. (1986) "Classical analysis of oils and fats"; cap. 1 de "Analysis of oils and fats" edited by Hamilton, R.J. e Rossell, J.B., Elsevier Applied Science Publishers
- Sadeghi-Jorabchi, H.; Wilson, R.H.; Belton, P.S.; Edwards-Webb, J.D.; Coxon, D.T. (1991) "Quantitative analysis of oils and fats by Fourier-Transform Raman Spectroscopy"; *Spectrochim. Acta*, Part A, **47A**, (9-10), 1449-58
- San Juan, P.M.F. (1990) "Estudio de la presencia de ácidos grasos *trans*-insaturados em margarinas y grasas comestibles"; comunicação apresentada no III Congreso Nacional y Internacional Farmaceutico de Alimentacion, 17-20 Outubro, Alicante, Espanha
- San Juan, P.M.F. (1991) "Ácidos grasos *trans*-insaturados. Estudio de su contenido en margarinas y grasas comestibles"; *Alim. Equip. y Tecn.*, 281-284
- Sánchez-Muniz, F.J.; Hernández, I.; Cuesta, C. (1989) "Estudio de la calidad del aceite extraído de patatas fritas en aceite de oliva"; *Grasas y Aceites*, **40**, 6, 399-405
- Sánchez-Muniz, F.J.; Viejo, J.M.; Medina, R. (1992) "Deep-frying of sardines in different culinary fats. Changes in the fatty acid composition of sardines and frying fats"; *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2252-2256
- Sánchez-Muniz, F.J.; Cuesta, C.; Garrido-Polonio, C. (1993) "Sunflower oil used for frying: combination of column, gas and High-Performance Size-Exclusion Chromatography for its evaluation", *JAOCS*, **70**, 3, 235-240
- Schrijver, R. de; Privett, O.S. (1982) "Interrelationship between dietary *trans* fatty acids and the 6- and 9-desaturases in the rat"; *Lipids*, **17**, 1, 27-34
- Schrijver, R. de; Privett, O.S. (1984) "Energetic efficiency and mitochondrial function in rats fed *trans* fatty acids"; *J. Nutr.*, **114**, 7, 1183-91

- Sebedio, J.L.; Prevost, J.; Grandgirard, A. (1987)- "Heat treatment of vegetable oils. I. Isolation of the cyclic fatty acid monomers from heated sunflower and linseed oils"; *JAOCS*, **64**, 10, 1026-1032.
- Sebedio, J.L.; Grangirard, A.; Prevost, J. (1988) "Linoleic acid isomers in heat treated sunflower oils"; *JAOCS*, **65**, 3, 362-66
- Selenskias, S.L.; Ip, M.M.; Ip, C. (1984) "Similarity between *trans* fat and saturated fat in the modification of rat mammary carcinogenesis"; *Cancer Res.*, **44**, 4, 1321-6
- Sgoutas, D.; Kummerow, F.A. (1970) "Incorporation of *trans*-fatty acids into tissue lipids"; *The Am. J. of Clin. Nutr.*, **23**, 8, 1111-1119
- Shen, C.J.; O'Dell, R.; Sheppard, A.J. (1991) "Fatty acid composition of margarines and margarines-like foods as determined by capillary Gas Chromatography"; comunicação apresentada no 82nd AOCS Annual Meeting, 12-15 Maio, Chicago, Illinois, USA, *Inform.*, **2**, 4, 347
- Shrapnel, W.S.; Calvert, G.D.; Nestel, P.J.; Truswell, A.S. (1992) "Diet and coronary heart disease. The National Heart Foundation of Australia"; *Med. J. Aust.*, **4**, 5, 156 suppl. 9-16
- Siguel, E.N.; Lerman, R.H. (1993) "*Trans*-fatty acids patterns in patients with angiographically documented coronary artery disease"; *Am. J. Cardiol.*, **71**, 11, 916-20
- Srivastava, K.C.; Awasthi, K.K. (1982) "A comparative study on the effect of *cis* (oleic, linoleic) and *trans* (elaidic, linoelaidic) fatty acids on the *in vitro* prostaglandin biosynthesis in human blood platelets from (1-¹⁴C) arachidonic acid"; *Prostag. Leukotrienes and Medic.*, **9**, 669-684
- Sturman, J.A. (1993) "Taurine in development"; *Physiolog. Rev.*, **73**, 1, 119-147
- Suys, I. (1991) "Contrôle de la qualité des graisses et huiles de friture: corrélation entre teneurs en composés polaires et viscosités"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **38**, 7/8, 219-224
- Svensson, L.; Sisfontes, L.; Nyborg, G.; Blomstrand, R. (1982) "High Performance Liquid Chromatography and glass capillary Gas Chromatography of geometric and positional isomers of long chain monounsaturated fatty acids"; *Lipids*, **17**, 1, 50-59
- Svensson, L. (1983) "The effect of dietary partially hydrogenated marine oils on desaturation of fatty acids in rat liver microsomes"; *Lipids*, **18**, 3, 171-8
- Takagi, T.; Itabashi, Y. (1981) "Occurrence of mixtures of geometrical isomers of conjugated octadecatrienoic acids in some seed oils: analysis by open-tubular Gas Liquid Chromatography and High Performance Liquid Chromatography"; *Lipids*, **16**, 7, 546-51
- Tatum, V.; Chow, C. K. (1992) "Effects of processing and storage on fatty acids in edible oils" cap. 14 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 337-51
- Thomassen, M.S.; Christiansen, E.N.; Norum, K.R. (1982) "Characterization of the stimulatory effect of high-fat diet on peroxisomal β -oxidation in rat liver"; *Biochem. J.*, **206**, 2, 195-202
- Thomassen, M.S.; Rostveit, T.; Christiansen, E.N.; Norum, K.R. (1984) "Changes in the content of n-6 fatty acids in liver phospholipids in rats as a consequence of partially hydrogenated dietary oils"; *Br. J. Nutr.*, **51**, 3, 315-22
- Toda, T.; Mahfouz, M.M.; Kummerow, F.A. (1984) "Influence of dietary fats on ultrastructure and fatty acid. Composition of swine arterial tissue"; *Acta Pathol. Jpa*, **34**, 5, 935-45
- Traitler, H.; Diefenbacher, A. (1985) "Palm oil and palm kernel oil in food products"; *JAOCS*, **62**, 2, 417-21
- Troisi, R.; Willett, W.C.; Weiss, S.T. (1992) "*Trans*-fatty acids intake in relation to serum lipid concentrations in adult men"; *Am. J. Clin. Nutr.*, **56**, 6, 1019-24
- (1992) "*trans* Fatty acids topic for Lipidforum"; *worldwatch, Inform*, **3**, 2, 196
- (1992) "33 invited to *trans* workshop in Toronto"; *Inform*, **3**, 1, 89

- Ucciani, E.; Pelloquin, A. (1973) "Recherches sur l'analyse des isomères de position de l'acide oléique I.- Étude bibliographique et essais préliminaires"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **20**, 1, 397-404
- Ulberth, F.; Henninger, M. (1992) "Simplified method for the determination of *trans* monoenes in edible fats by TLC-GLC"; *JAOCS*, **69**, 8, 829-31
- Veerkamp, J.H.; Zevenbergen, J.L. (1986) "Effect of dietary fat on total and peroxisomal fatty acid oxidation in rat tissues"; *Biochim. Biophys. Acta*, **878**, 1, 102-9
- Vigneron, P.Y.; Spicht, P.; Lesieur-Cotelle (1973) "Hidrogénéation sélective de l'huile de soya : étude des isomères"; *Rev. Fr. des Corps Gras*, **20**, 11, 631-36
- Walker, B.L. (1981) "The OV 275-packed stainless steel column in *trans*-fatty acids research : a note of caution"; *Lipids*, **16**, 6, 468-71
- Waterfield, C.J. (1994) "Determination of taurine in biological samples and isolated hepatocytes by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection"; *J. of Chromat. B*, **657**, 37-45
- Waterfield, C.J.; Turton, J.A.; Scales, M.D.C.; Timbrell, J.A. (1991) "Taurine, a possible urinary marker of liver damage : a study of taurine excretion in carbon tetrachloride-treated rats"; *Arch. Toxicol*, **65**, 548-555
- Weinstein, C.L.; Haschemeyer, R.H.; Griffith, O.W. (1988) "In vivo studies of cysteine metabolism"; *The J. of Biolog. Chemistry*, **263**, 32, 16568-16579
- Welch, V.A.; Borlakoglu, J.T. (1992) "Absorption and transport of dietary lipid: Effect on some lipid-related health problems"; cap. 25 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 559-612
- Wen, M.-C.; German, B.; Kinsella, J.E. (1984) "Cocoa bean cell and embryo culture"; *JAOCS*, **61**, 11, 1720-24
- White, P. J. (1991) "Methods for measuring changes in deep-fat frying oils"; *Food Tech.*, Fev., 75-80
- White, P. J. (1992) "Fatty acids in oilseeds (vegetable oils)"; cap. 9 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 237-261
- Willett, W.C.; Stampfer, M.J.; Manson, J.E.; Colditz, G.A.; Speizer, F.E.; Rosner, B.A.; Sampson, L.A.; Hennekens, C.H. (1993) "Intake of *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease among women"; *Lancet*, **341**, 8845, 581-85
- Witting, L.A. (1979) "Lipids" cap. 4 de "Nutritional and safety aspects of food processing" edited by Steven R. Tannenbaum, Marcel Dekker Inc. / New York and Basel, 97-137
- Wolff, J. P. (1968) "Manuel d'analyse des corps gras"; Azoulay Editeur, Paris
- Wolff, R. L. (1992) "Resolution of linolenic acid geometrical isomers by Gas-Liquid Chromatography on a capillary column coated with a 100% Cyanopropyl Polysiloxane film (CP TM Sil 88)"; *J. of Chrom. Sci.*, **30**, 17-22
- Wood, R. (1992) "Biological effects of geometrical and positional isomers of monounsaturated fatty acids in humans"; cap. 29 de "Fatty acids in foods and their health implications"; edited by Ching Kuang Chow, Marcel Dekker, Inc., 663-88
- Wood, R.; Kubena, K.; O'Brien, B.; Tseng, S.; Martin, G. (1993) "Effect of butter, mono and polyunsaturated fatty acid-enriched butter, *trans* fatty acid margarine and zero *trans* fatty acid margarine on serum lipids and lipoproteins in healthy men"; *J. Lipid Res.*, **34**, 1, 1-11
- Yan, C.C.; Bravo, E.; Cantáfora, A. (1993) "Effect of taurine levels on liver lipid metabolism : an *in vivo* study in the rat"; *P.S.E. B.M.*, **202**, 88-96
- Yoshida, H.; Kondo, I.; Kajimoto, G. (1992) "Participation of free fatty acids in the oxidation of purified soybean oil during microwave heating"; *JAOCS*, **69**, 11, 1136-1140

- Younes, N.A.; Soliman, M.A. (1988) "Adulteration of butterfat: *trans*-unsaturation content"; *Grasas y Aceites*, **39**, 2, 69-71
- Young, F.V.K. (1986) "Modification processes"; "Processing of fats and oils"; cap. 5 de de "The Lipid Handbook"; edited by Frank D. Gunstone, John L. Harwood e Fred B. Padley, Chapman and Hall, 208-16
- Yu, P.; Mai, J.; Kinsella, J.E. (1980) "The effects of dietary 9-*trans*,12-*trans*-octadecadienoate on composition and fatty acids of rat lungs"; *Lipids*, **15**, 11, 975-979
- Yusem, G.J.; Pintauro, P.N. (1992) "The electrocatalytic hydrogenation of soybean oil"; *JAOCS*, **69**, 5, 399-404
- Zevenbergen, J.L.; Houtsmuller, U.M.T.; Gottenbos, J.J. (1988) "Linoleic acid requirement of rats fed *trans* fatty acids"; *Lipids*, **23**, 3, 178-86
- Zock, P.L.; Katan, M.B. (1992) "Hydrogenation alternatives: effects of *trans* fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans"; *J. Lipid Res.*, **33**, 3, 399-410