



Romina Melissa Conceição Cunha Gomes

Licenciatura em Química Aplicada

**Avaliação do efeito da digestão gastro-intestinal
no perfil lipídico de pescado e derivados: O
caso da cavala e do óleo de fígado de bacalhau**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Narcisa Maria Mestre Bandarra, Investigadora Auxiliar
IPMA

Co-orientador: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora
Auxiliar FCT/UNL

Júri:

Presidente: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando – FCT/UNL

Arguente: Doutora Helena Maria Gomes Lourenço - IPMA

Vogal: Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra - IPMA



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Março 2019

Romina Melissa Conceição Cunha Gomes

Licenciatura em Química Aplicada



**Avaliação do efeito da digestão gastro-intestinal
no perfil lipídico de pescado e derivados: O
caso da cavala e do óleo de fígado de bacalhau**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Narcisa Maria Mestre Bandarra, Investigadora Auxiliar
IPMA

Co-orientador: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora
Auxiliar FCT/UNL

Júri:

Presidente: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando – FCT/UNL
Arguente: Doutora Helena Maria Gomes Lourenço - IPMA
Vogal: Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra - IPMA

Avaliação do efeito da digestão gastro-intestinal no perfil lipídico de pescado e derivados: O caso da cavala e do óleo de fígado de bacalhau ©

Romina Melissa Conceição Cunha Gomes, FCT-UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço desde já, a todos aqueles que durante a realização desta dissertação, para obtenção de grau de Mestre, me apoiaram e ajudaram, de facto não foi um processo fácil, mas foi por fim concluído.

Agradeço ao Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P./ IPMA pela oportunidade concedida deste estágio, que fez com despertasse a minha paixão por trabalhar em laboratório e seguir esta carreira.

À Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra, chefe da divisão de Aquacultura e Valorização do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) que sempre se mostrou disponível para ajudar em tudo o que fosse necessário, assim como fornecer as ferramentas necessárias à escrita desta dissertação. A sua força e esperança foram essenciais para continuar a acreditar que seria possível.

À Doutora Cláudia Afonso, Investigadora do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), por toda a disponibilidade cedida, assim como toda a informação fornecida e força durante este percurso.

À Doutora Carla Pires, Investigadora do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA) por toda ajuda prestada durante a escrita desta tese e acima de tudo pela amizade e horas de almoço passadas juntas.

Não poderia esquecer a pessoa que me passou todo o conhecimento técnico e laboratorial, e que mais tempo passou comigo neste processo, a Técnica Julia Ferreira, obrigada por todos os ensinamentos, por todos os “puxões de orelhas”, por toda a confiança que depositou em mim, pelas nossas horas de almoço, e por me fazer sentir “em casa”. Foi de facto uma peça crucial para me tornar mais ágil, eficaz e crítica no trabalho laboratorial. Obrigada pela disponibilidade constante.

Às minhas colegas de trabalho, Maria Sapatinha e Ana Gomes, Bolseiras de Investigação no IPMA, pelo tempo que me dedicaram em dias mais difíceis. Jamais esquecerei todo o apoio e ajuda que me proporcionaram, tornando assim todo este percurso mais fácil e agradável.

A professora Maria Paula Duarte por toda a dedicação e ajuda prestada na fase final desta tese, sem a sua ajuda jamais teria sido possível o fecho desta etapa na minha vida. Ficar-lhe-ei sempre grata.

Aos amigos a quem chamo de família agradeço por todo o apoio e por nunca terem deixado de acreditar em mim, dando-me a força e confiança necessárias para enfrentar as dificuldades.

Por último, mas o mais importante, agradeço aos meus pais, pois sem eles este percurso académico jamais teria sido possível. Obrigada por sempre me terem dado “asas para voar e raízes para ficar”. Obrigada por acreditarem em mim e me apoiarem. Tudo o que sou devo a vocês.

Dedico esta tese às duas pessoas mais importantes da minha vida, os meus pais. Obrigada.

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS

AA – Ácido araquidónico

CH – Colesterol

DAG – Diacilglicerol

DHA – Ácido docosaheptaenóico, 22:6n-3

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

EPA – Ácido eicosapentaenóico, 20:5n-5

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FFA – Ácidos gordos livres

FAME – Ésteres Metílicos dos Ácidos Gordos

GC-FID – Cromatografia Gás-Líquido com detetor de Ionização de Chama.

HDL –Lipoproteínas de alta densidade.

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LA – Ácido Linoleico, 18:2n-6.

MAG – Monoacilglicerol

MUFA – Ácidos Gordos Monoinsaturados

NP – Norma Portuguesa

PIB – Produto Interno Bruto

PL – Fosfolípidos

PLA – Lipase pancreática.

PUFA n-3 – Ácidos Gordos Polinsaturados da Família Ómega-3.

PUFA n-6 – Ácidos Gordos Polinsaturados da Família Ómega-6

SFA – Ácidos Gordos Saturados.

TAG – Triacilglicerol

TLC – Cromatografia de camada fina

WHO - Organização Mundial da Saúde

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil lipídico da Cavala (*Scomber colias*) durante os meses de inverno. Atualmente esta ainda é uma espécie subvalorizada, sendo assim importante uma maior sensibilização do consumidor para o seu importante valor nutricional de forma a potenciar o interesse, a procura e, conseqüentemente, o consumo da cavala. Por outro lado, tem-se verificado um crescente aumento do consumo de suplementos alimentares com o intuito de suprimir necessidades diárias de ómega-3 na alimentação. Assim, de forma a potenciar o benefício associado ao consumo destes nutrientes, e de forma a melhor ajustar as doses administradas, é importante não só considerar as doses diárias recomendadas, mas também conhecer a quantidade de ácidos gordos ómega-3 que é libertada e fica disponível para ser absorvida a nível intestinal (bioacessível). Neste contexto, foi também objetivo deste trabalho estudar a bioacessibilidade de cada ácido gordo contida num suplemento alimentar de óleo de fígado de bacalhau, recorrendo à utilização de um modelo *in vitro* otimizado, que simula a digestão humana (boca, estômago e intestino delgado) através da recriação do ambiente usual (por exemplo, pH ácido no estômago) e da adição de enzimas digestivas, tais como amilase, tripsina e lípases.

Os resultados obtidos permitiram verificar que durante os meses de Inverno a cavala apresenta um reduzido teor em gordura (cerca de 1,5 %). Os ácidos gordos presentes em maior quantidade foram os polinsaturados (PUFA), especialmente os ómega-3. O músculo da cavala nesta época do ano apresentou um teor conjunto em ácido docosahexaenóico (DHA) e em ácido eicosapentaenóico (EPA) de cerca de 340 mg/100 g. Este valor, apesar de ser muito inferior ao descrito para a cavala nos meses em que esta apresenta um teor em gordura mais elevado, constitui, mesmo assim, um valor considerável tendo em conta que a EFSA recomenda, para um adulto, uma dose de 250 mg/dia destes dois ácidos. Deste modo, a cavala, mesmo numa altura do ano em que se apresenta mais magra, continua a ser um alimento interessante do ponto de vista nutricional, por constituir uma boa fonte de ácidos gordos essenciais, particularmente EPA e DHA, e um elevado teor em ómega-3, que pode ajudar a equilibrar a razão ómega-3/ómega-6 que se sabe estar atualmente tão desequilibrada na dieta ocidental. A análise realizada com o óleo de fígado de bacalhau permitiu concluir que os perfis de ácidos gordos bioacessíveis tinham semelhanças com os perfis iniciais de ácidos gordos. De um modo geral, a bioacessibilidade dos SFA foi sempre menor que a dos MUFA, e os PUFA apresentaram, geralmente, uma percentagem de bioacessibilidade entre a dos SFA e dos MUFA. Dentro dos PUFA, o ácido gordo com percentagem de bioacessibilidade mais elevada foi o DHA. Este resultado é particularmente importante dada a relevância nutricional deste ácido gordo. Relevante foi igualmente a elevada bioacessibilidade dos ácidos gordos ómega-3, uma vez que aumentar os níveis dietéticos destes ácidos constitui um dos motivos para a administração deste suplemento. Tendo em conta os resultados, um consumo de aproximadamente 2,5 g/dia de óleo de fígado de bacalhau poderá ser o suficiente para suprimir as necessidades de EPA e DHA.

Palavras-chave: Cavala, óleo de fígado de bacalhau, bioacessibilidade de ácidos gordos.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the lipid profile of Mackerel (*Scomber colias*) during the winter months. This is still an undervalued species, for this reason it is important to increase consumer awareness for its important nutritional value, and thus boost the interest, demand and consumption of Mackerel. On the other hand, there has been a growing interest in dietary supplements, such as cod liver oil, in order to suppress daily needs of omega 3 in the diet. Therefore, in order to maximize the benefit associated with these nutrients consumption and to adjust the administered doses, it is important to consider the recommended daily doses as well as the amount of omega 3 fatty acids that is released during the digestion process and is available to be absorbed at the intestinal (known as bioaccessible fraction). In this context, it was also the objective of this study to evaluate the bioaccessibility of each fatty acid found in cod liver oil. With that purpose an optimized *in vitro* model simulating human digestion (mouth, stomach and small intestine) was used. This model mimitized the typical human digestion through the environment (for example, acidic pH in the stomach) and the addition of digestive enzymes, such as amylase, trypsin and lipases.

The results obtained showed that during the winter months the Mackerel has a reduced fat content (about 1.5%). The higher fatty acids present were polyunsaturated fatty acids (PUFAs), especially omega-3 fatty acids. The Mackerel muscle at this time of year had a combined content of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) of about 340 mg / 100g. This value, although is much lower than that often reported for Mackerel (in those months in which it has a higher fat content). Nevertheless, it is still an important amount of fat, based on the EFSA recommendations, for an adult (a dose of 250 mg / day of these two acids). Thus, even at a time of the year when it is leaner, mackerel continues to be an interesting food from a nutritional point of view, as it is a good source of essential fatty acids, particularly EPA and DHA, and a high omega-3, which may help balance the n3 / n6 ratio known to be currently so unbalanced in the Western diet.

The analysis carried out with cod liver oil allowed to conclude that the bioaccessible fatty acid profiles were similar to those initially found fatty in this supplement. In general, the bioaccessibility of SFA was always lower than for MUFAs. PUFAs generally had a percentage of bioaccessibility between SFA and MUFAs. Within the PUFAs, DHA was the most bioaccessible. This result is particularly important given the nutritional relevance of this fatty acid. Also significant was the high bioaccessibility of omega-3 fatty acids, since increasing dietary levels of these acids is one of the reasons for the administration of this supplement. In view of this results a consumption of 2.5 g / day of cod liver oil would be enough to suppress the daily need of EPA and DHA.

Key words: Mackerel, cod liver oil, bioaccessibility of fatty acids.

ÍNDICE

1. Introdução.....	1
1.1. Sector das pescas	1
1.1.1. Importância do pescado em Portugal	1
1.1.2. Tipos de pesca.....	2
1.2. Composição química e valor nutricional do pescado	3
1.2.1. Lípidos no pescado	5
1.2.2. Perfil de ácidos gordos do pescado.....	8
1.2.3. Os lípidos e a saúde	8
1.3. Processo digestivo dos lípidos	12
1.4. Bioacessibilidade e biodisponibilidade dos lípidos	14
1.5. Cavala	15
1.5.1. A captura da cavala	16
1.5.2. Composição química da cavala.....	17
1.6. Óleo de fígado de bacalhau	19
1.7. Objetivos	20
2. Materiais e Métodos.....	21
2.1. Material biológico.....	21
2.2. Material, equipamentos e reagentes.....	21
2.3. Determinação do teor em humidade da cavala.....	23
2.4. Determinação do teor em cinza da cavala.....	23
2.5. Digestão <i>in vitro</i> da cavala e do suplemento de óleo de fígado de bacalhau.....	24
2.6. Extração e quantificação dos lípidos totais e do bioacessível da cavala e do óleo de fígado de bacalhau	25
2.7. Determinação de classes de lípidos por cromatografia em camada fina (<i>thin layer chromatography</i> – TLC).....	26

2.8. Determinação do perfil em ácidos gordos.....	27
2.9. Determinação da percentagem de bioacessibilidade dos ácidos gordos.....	28
2.10. Tratamento estatístico dos dados.....	29
3. Resultados e Discussão.....	31
3.1. Caraterização da composição da cavala nos meses de Inverno.....	31
3.1.1. Caraterização biométrica dos exemplares de cavala.....	31
3.1.2. Teor lipídico da cavala.....	31
3.1.3. Identificação e quantificação das classes de lípidos na cavala.....	33
3.1.4 Perfil de ácidos gordos na cavala.....	33
3.1.5. Determinação da composição lípidica na fração bioacessível da cavala.....	36
3.2. Caraterização da fração lipídica do suplemento alimentar de óleo de fígado de bacalhau.....	37
3.2.1. Identificação e quantificação das classes de lípidos e do perfil em ácidos gordos do óleo de fígado de bacalhau.....	37
3.2.2. Análise da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau.....	39
3.2.2.1. Identificação das principais classes de lípidos nas frações bioacessíveis.....	39
3.2.2.2. Perfil de ácidos gordos das diferentes frações bioacessíveis.....	42
3.2.2.3. Percentagem de bioacessibilidade de ácidos gordos nas frações bioacessíveis.....	44
4. Conclusões.....	49
5. Referências Bibliográficas.....	51
Anexos.....	59
Anexo I - Cromatograma da cavala.....	59
Anexo II- Cromatograma do óleo de fígado de bacalhau antes da digestão.....	60
Anexo III - Cromatograma da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau.....	61

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1. – Composição química e valor nutricional do pescado.....	3
Tabela 1.2 - Principais ácidos gordos presentes nos produtos de pesca.....	8
Tabela 1.3 - Composição química da cavala (por 100g de parte edível).....	18
Tabela 2.1- Materiais e reagentes usados no processo experimental.....	22
Tabela 2.2 – Lista de padrões de ácidos gordos utilizados na cromatografia em camada fina (TLC)....	23
Tabela 2.3 – Composição (para 500 mL) dos sucos digestivos utilizados na digestão <i>in vitro</i>	25
Tabela 3.1 - Características dos exemplares de cavala em estudo.....	31
Tabela 3.2 - Teor em lípidos das várias pools de cavala durante o Inverno (fevereiro).....	32
Tabela 3.3 - Classes de lípidos presentes na cavala (%).....	33
Tabela 3.4 - Perfil de ácidos gordos na cavala (% de ácidos gordos totais).....	34
Tabela 3.5 – Principais ácidos gordos na cavala em mg/100g.....	35
Tabela 3.6 - Classe de lípidos presentes na amostra de óleo de fígado de bacalhau inicial (%).....	38
Tabela 3.7 - Perfil de ácidos gordos na amostra inicial de óleo de fígado de bacalhau.....	38
Tabela 3.8 - Teor de lípidos totais na fração bioacessível (%).....	39
Tabela 3.9 - Classe de lípidos presentes nas frações bioacessíveis de óleo de fígado de bacalhau.....	41
Tabela 3.10 - Perfil de ácidos gordos (% ácidos gordos totais) das frações bioacessíveis.....	43
Tabela 3.11 - Percentagem de ácidos gordos presente nas frações bioacessíveis do óleo de fígado de bacalhau.....	45
Tabela 3.12 - Comparação do teor de ácidos gordos (expresso em mg/g) antes (inicial) e após digestão (bioacessível).....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Estrutura geral dos triacilgliceróis.....	6
Figura 1.2 – Estrutura geral dos fosfolípidos. R1 e R2 representam diferentes cadeias de ácido gordo e X representa o grupo ligado ao grupo fosfato (glicerol, amina, aminoácido).....	7
Figura 1.3 – Estrutura química do colesterol.....	7
Figura 1.4- Síntese de ácidos gordos essenciais.....	10
Figura 1.5 - Fases do processo digestivo dos lípidos.....	14
Figura 1.6 - Aspeto e classificação científica da cavala.....	16
Figura 1.7 - Evolução dos desembarques de cavala (<i>Scomber colias</i>) e sardinha (<i>Sardina pilchardus</i>) em Portugal Continental, de 1950 a 2013.....	17
Figura 3.1 - TLC analítica da amostra de óleo de fígado de bacalhau (em realce a laranja) e dos padrões das classes de lípidos.....	37
Figura 3.2 - TLC analítica da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau e dos padrões das classes de lípidos.....	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sector das pescas

1.1.1. Importância do pescado em Portugal

Devido à condição geográfica de Portugal o sector das pescas é de grande importância. Com uma extensão de costa de 2.830 km e com uma costa de mar abundante em peixe, Portugal é um País com forte tradição marítima, tornando-se o peixe num elemento primordial na alimentação. Com base nos dados da FAO, Portugal tem atualmente um consumo *per capita* anual de pescado que ronda os 55 kg, sendo o maior consumidor de peixe por habitante na EU e o terceiro a nível mundial (FAO, 2019).

O sector das pescas, transformação e comercialização de pescado é um importante motor de desenvolvimento económico, social e cultural do país, representando 2,5 mil milhões de euros do produto Interno Bruto (PIB) português. Em 2010, Portugal totalizou cerca de 5 % das capturas da União Europeia, sendo as principais capturas sardinha, cavala e carapau (Doca pesca, 2011). Apenas 2 % do peixe consumido em Portugal é proveniente de aquacultura, sendo a maioria oriundo da pesca (35 %) e de importações (63 %) (INE, 2017).

Em 2017, o volume de descargas de pescado efetuado pelas organizações de produtores (OP) do Continente registou um decréscimo de 13,0 % face a 2016, sendo notório uma menor descarga de cavala (- 38,7 %), carapau (-19,7 %) e verdinho (-10,7 %) (INE, 2018). A redução de capturas registada a nível nacional ficou a dever-se à menor captura de peixes marinhos que registou um decréscimo de 3,9 % em relação a 2016. Para tal contribuiu sobretudo a cavala (-30,4 %) mas também o carapau e as pescadas, que registaram menores volumes de captura (-4,8 % e -24,6 %, respetivamente) (INE, 2018).

Para a redução da cavala não terá sido alheia a cessação temporária da atividade da frota do cerco, aliada à orientação para a captura de espécies mais valorizadas, como por exemplo o biqueirão. Consequentemente, verificou-se um acréscimo do valor em 4,1 %, comparativamente a 2016, em grande parte pelo peso que espécies mais valorizadas assumiram no total de pescado capturado. Houve, no entanto, para algumas espécies um aumento significativo da captura em 2017, caso dos atuns (+ 58,4%) e do biqueirão (+ 30,3%).

Considerando as diferentes modalidades de pesca e as capturas delas resultantes, a pesca polivalente foi em 2017 a arte preponderante, com um peso de 44,8 % face a 2016, posição tradicionalmente ocupada pela pesca do cerco, que ficou em segundo lugar com 37,9 % face a 42,9 % em 2016. O arrasto aumentou o volume de capturas atingido os 17,3 % (16,1 % em 2016). As capturas provenientes da pesca do cerco não ultrapassaram as 44 849 toneladas, tendo diminuído

15,8 %, devido essencialmente às menores quantidades de peixes marinhos, nomeadamente cavala (-40,7 %) e carapau (-12,5 %)(INE, 2018).

O preço médio anual do pescado fresco ou refrigerado descarregado em 2017 registou um aumento de 6,5 %, passando de 2,10 €/kg em 2016, para 2,23 €/kg. O preço médio anual do pescado fresco ou refrigerado, descarregado em portos nacionais em 2017 registou um aumento de 0,14 €/kg em relação a 2016, o que correspondeu a um acréscimo de 6,5 %, passando de 2,10 €/kg para 2,23 €/kg. O aumento do preço médio dos peixes marinhos a nível nacional foi de 8,2 %, que correspondeu a 1,89 €/kg, tendo sido consequência da subida de preços registada em espécies representativas, nomeadamente na cavala, cujo preço aumentou 21,1%, passando de 0,36 €/kg para 0,43 €/kg, e para o qual terá contribuído o decréscimo significativo das respetivas capturas (INE, 2018).

O pescado transacionado em lota gerou uma receita de 272 360 mil euros aumentando 1,1 % comparativamente a 2016 (INE, 2018).

As exportações de “Produtos da pesca ou relacionados com esta atividade” atingiram 1 086,8 milhões de euros em 2017, o que representou um aumento de 10,7 % em comparação com o ano anterior (INE, 2018).

1.1.2. Tipos de pesca

Em Portugal, consideram-se as seguintes modalidades de pesca: Cerco, arrasto (arrasto de portas, arrasto de vara e ganchorra), redes de emalhar e de tresmalho, anzol, armadilhas, envoltentes arrastantes e apanha.

Por pesca por arte de arrasto entende-se qualquer método de pesca que opera através de redes de arrasto, ou seja, redes em forma de saco que são puxadas a uma velocidade que permite que os peixes (como o carapau, pescada cavala, sarda ou faneca), crustáceos (lagostim, gamba e camarão vermelho) ou outro tipo de pescado (polvos), sejam retidos dentro da rede (Tiago, 2012).

A pesca por arte de cerco abrange qualquer método de pesca que utilize uma parede de rede longa e alta, que é largada de modo a cercar as presas e a reduzir a sua capacidade de fuga. Esta arte de pesca dirige-se essencialmente à captura de pequenos pelágicos (sardinha, cavala e carapau). O processo de captura consiste em envolver o peixe pelos lados e por baixo, impedindo a sua fuga pela parte inferior da rede. Esta forma de pescar é utilizada a nível industrial mas também a nível artesanal (Tiago, 2012; DGRM, 2019).

A arte de pesca por redes de emalhar e de tresmalho utiliza uma rede de forma retangular, as redes de emalhar podem ser fixas ao fundo através de âncoras ou poitas e caladas diretamente sobre este ou a uma certa distância do fundo, sendo sinalizadas à superfície. As principais espécies de captura são a sardinha, a boga e judia (DGRM, 2019). A pesca por arte de anzol é o método de pesca que utiliza linhas e anzóis, lastros e boias e que é dirigida a espécies de fundo e a espécies pelágicas

(DGRM, 2019). Na pesca por arte de armadilhas está englobada a arte de armadilhas de gaiola e armadilhas de abrigo. Neste método de pesca a presa é atraída ou encaminhada para um dispositivo que impede a sua fuga. Esta arte tem como espécies alvo o polvo (única espécie alvo na armadilha de abrigo), camarão branco e o lagostim (DGRM, 2019). Um outro tipo de arte de pesca é a envolvente arrastante – Arte Xávega. Neste caso, a técnica de captura consiste em cercar uma superfície de água com uma rede muito comprida e manobrada por meio de dois cabos fixados nas suas extremidades, que têm como finalidade atar a rede e concentrar o peixe (DGRM, 2019). Por ultima a arte de pesca por apanha é um método individual onde são utilizados utensílios como por exemplo, a faca de mariscar e o sacho de cabo curto que não provocam ferimentos graves na captura. Esta arte tem como espécies-alvo bivalves e crustáceos (DGRM, 2019).

A pesca do cerco foi responsável pelos principais volumes de cavala, carapau e sardinha descarregado em portos nacionais em 2016, correspondendo 82,7 %, 92,4 % e 98,0 %, respetivamente (INE, 2017).

1.2. Composição química e valor nutricional do pescado

O pescado, assim como outros produtos alimentares, contém na sua composição água, proteínas e outros compostos azotados, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas e minerais. As proteínas e os lípidos encontrados na parte edível são os componentes maioritários, excluindo a água, enquanto os hidratos de carbono são componentes minoritários no peixe (Tabela 1.1) (Afonso, 2009). Estes produtos apresentam baixo valor calórico e são alimentos de fácil digestão (Nunes, Bandarra e Batista, 2003).

Tabela 1.1. – Composição química e valor nutricional do pescado.

Constituintes	g/100g parte edível
Água (humidade)	50 a 85
Proteínas	12 a 24
Lípidos	0,1 a 22
Compostos minoritários (minerais, hidratos de carbono, vitaminas)	0,8 a 2

Adaptado de (Nunes *et al.*, 2008).

No pescado o teor em água (humidade) é muito variável, sendo elevado no músculo com valores entre 50 e 85 g/100g. O teor em água e gordura variam inversamente nos peixes, representando a sua soma cerca de 80 % do peso da parte edível do peixe. Desta forma, um baixo teor de humidade indica um peixe com elevado teor lipídico e um alto teor de humidade indica um peixe com baixo teor

lipídico. A textura dos produtos de pesca é determinada pelo tipo de interação entre o teor de água e as proteínas, hidratos de carbono, lípidos e minerais (Afonso, 2009).

As proteínas encontram-se distribuídas no músculo do peixe representando 17-20 % do seu peso (Nunes *et al.*, 2008; Afonso, 2009). As proteínas podem ser divididas em três grupos, as sarcoplasmáticas, as contrácteis ou estruturais e as do tecido conjuntivo. As proteínas sarcoplasmáticas, como a mioalbumina, globulina e enzimas, representam cerca de 20 a 30 % do total de proteínas do músculo, as contrácteis ou estruturais (de entre as quais se destacam a actina, a miosina, a troponina e a tropomiosina) constituem cerca de 70 a 80 % do total e as do tecido conjuntivo, nomeadamente o colagénio, atingem valores próximos de 3 % nos peixes teleósteos (peixes ósseos) e 10 % nos elasmobrânquios (peixes cartilágineos) (Nunes *et al.*, 2008).

Nos produtos da pesca o teor em proteínas é relativamente estável, não ocorrendo alterações sazonais significativas ao longo do ciclo de vida, o que é importante dado o elevado valor biológico destes componentes para o crescimento e desenvolvimento de funções vitais do organismo humano (Monfort, 2010). Os hidratos de carbono encontram-se nestes produtos sob a forma de glicogénio no músculo estriado e como parte integrante dos nucleótidos. No entanto, como se encontram em quantidades muito baixas, inferiores a 0,3 %, estes constituintes não são usualmente quantificados (Huss, 1995; Belitz, Grosch e Schieberle, 2004).

As vitaminas são compostos orgânicos complexos, presentes em pequenas quantidades nos alimentos, sendo, no entanto, essenciais na manutenção das funções fisiológicas dos organismos. As vitaminas podem dividir-se em duas classes: as lipossolúveis, onde estão inseridas as vitaminas A, D, E e K, e as vitaminas do complexo B, como a vitamina B12, as quais são designadas por vitaminas hidrossolúveis. O teor de vitaminas lipossolúveis no peixe é semelhante ao encontrado nos mamíferos, com exceção das vitaminas A e D que estão presentes em maiores concentrações no tecido muscular de espécies de peixe consideradas gordas e no fígado de espécies magras (Huss, 1995).

Os elementos minerais existem naturalmente no meio aquático e a maior parte dos organismos aquáticos pode reter e mesmo acumular minerais do meio ambiente (Afonso, 2009). No peixe, tal como noutros organismos, os elementos inorgânicos essenciais são necessários não só para assegurar a manutenção dos processos metabólicos, mas também como fontes de material estrutural. Os peixes, principalmente os de origem marinha, têm a vantagem do ambiente em que vivem conter a maioria dos elementos para o seu crescimento e sobrevivência (Silva e Anderson, 1995). Deste modo, os produtos da pesca, principalmente os de origem marinha, apresentam concentrações de minerais mais elevadas do que as existentes nos animais terrestres (Piggott e Tucker, 1990). No entanto os teores dos diversos elementos minerais podem variar consideravelmente dentro da mesma espécie e entre espécies. As diferenças nos teores dos elementos encontrados na parte edível dos peixes são atribuídas não só a fatores intrínsecos mas também a fatores extrínsecos (Belitz, Grosch e Schieberle, 2004).

Os lípidos, juntamente com as proteínas, são os componentes orgânicos maioritários nos peixes (Nunes, Bandarra e Batista, 2011). O teor em lípidos no peixe pode variar entre 0,1 % (Huss, 1995) e 45 % (Kołakowska, Olley e Dunstan, 2003). Dependendo da espécie, e mesmo dentro da mesma espécie, existem grandes variações quanto ao teor lipídico, resultantes de diversos fatores, entre os quais as condições ambientais em que se encontram, o tipo de dieta que consomem, a disponibilidade de alimento, a época do ano e a própria maturidade do animal (Tocher, 2003; Nunes, Bandarra e Batista, 2011).

As espécies de peixe podem ser classificadas como magras (ex.: pescada, bacalhau, corvina, linguado, pargo e o tamboril), possuindo um teor lipídico inferior a 2 %, semi-gordas (ex.: atum, besugo, carapau, espadarte, goraz, peixe-espada-branco, peixe-espada-preto, robalo e o safio), com um teor lipídico entre 2 a 5 % e gordas (ex.: salmão, sardinha, cavala, cherne, dourada e a enguia) quando o teor lípido é superior a 5 % (Nunes *et al.*, 2008).

O consumo elevado de pescado está associado, segundo vários estudos epidemiológicos, a uma diminuição do risco de doenças coronárias, hipertensão arterial, acidente vascular cerebral, cancro, artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias (Lund, 2013). Esta realidade está em grande parte associada ao tipo de lípidos apresentado por estes produtos (Lund, 2013).

1.2.1. Lípidos no pescado

Os lípidos desempenham diversas funções biológicas importantes tais como, por exemplo, serem fonte e depósitos de energia, veículos para a absorção de outros nutrientes (ex.: vitaminas e antioxidantes), componentes de hormonas e precursores da síntese de eicosanóides, tais como, as prostaglandinas, serem essenciais para a formação de membranas celulares e manutenção da sua integridade estrutural e funcional, desempenharem funções de sinalização intra e intercelular e de isolamento térmico e elétrico (Duarte, 2010). Os lípidos contribuem também para as características sensoriais do alimento (Afonso, 2009). Segundo a sua composição química os lípidos podem classificar-se em triacilgliceróis, fosfolípidos, glicolípidos e colesterol e outros esteróis (Almeida e Afonso, 1997).

Os depósitos de lípidos no peixe situam-se principalmente no músculo, fígado e na cavidade abdominal à volta das vísceras. No músculo os lípidos presentes são essencialmente fosfolípidos e TAG (triacilgliceróis), podendo também existir, mas em menor quantidade, esteróis. O músculo escuro apresenta um teor de lípidos mais elevado que o músculo claro. Esse facto está relacionado com a adaptação biológica, sendo o músculo claro utilizado em movimentos mais bruscos e o músculo escuro utilizado em movimentos constantes (Nunes *et al.*, 2008). Para além dos lípidos já identificados podem ainda ser encontradas no pescado pequenas quantidades de lípidos pouco usuais, tais como, glicolípidos e sulfolípidos (Kołakowska e Sikorski, 2010).

Os TAG constituem a maior classe dentro dos lípidos não polares e são constituídos por três cadeias de ácidos gordos esterificados a uma molécula de glicerol (Figura 1.1). Os ácidos gordos, por sua vez, são as unidades básicas dos lípidos sendo classificados consoante o tamanho da cadeia e a presença ou ausência de duplas ligações (insaturações). Assim, os ácidos gordos podem ser de cadeia curta (2 a 10 átomos de carbono), média (12 a 16 átomos de carbono) e longa (18 a 24 átomos de carbono), e no que diz respeito à presença ou ausência de duplas ligações, os ácidos gordos podem ser saturados (sem duplas ligações, SFA), monoinsaturados (com uma dupla ligação, MUFA) e polinsaturados (com duas ou mais duplas ligações, PUFA) (Tocher, 2003; Alves, 2013). Os TAG podem ser constituídos apenas por um único tipo de ácido gordo, ou então podem ser constituídos por 2 tipos, ou, por 3 ácidos gordos diferentes esterificado com glicerol.

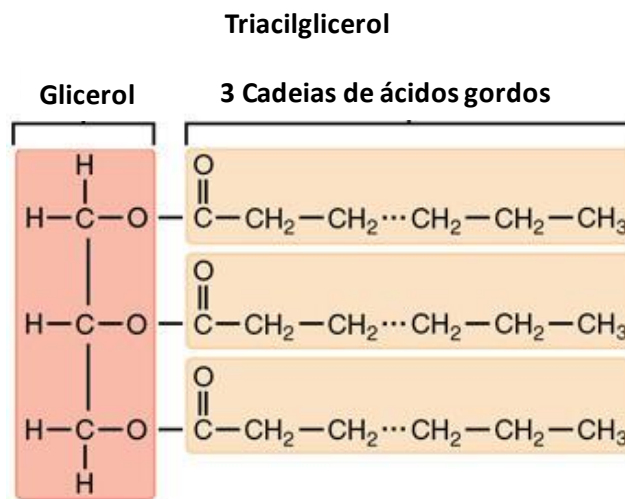


Figura 1.1 – Estrutura geral dos triacilgliceróis (adaptado de <https://brainly.com/question/4634091>).

Os PUFA são classificados, de acordo com a localização da primeira insaturação, a partir do grupo metilo terminal da molécula, em ómega-3 (n-3), ómega-6 (n-6), ómega-7 (n-7) e ómega-9 (n-9). Os fosfolípidos (PL) mais comuns são formados por duas moléculas de ácidos gordos e um grupo fosfato ligados a uma molécula de glicerol por ligações éster (Figura 1.2). Esse fosfato poderá estar ligado a outra molécula de glicerol, a uma amina ou a um aminoácido dando origem a diferentes classes de fosfolípidos (Christie, 1989).

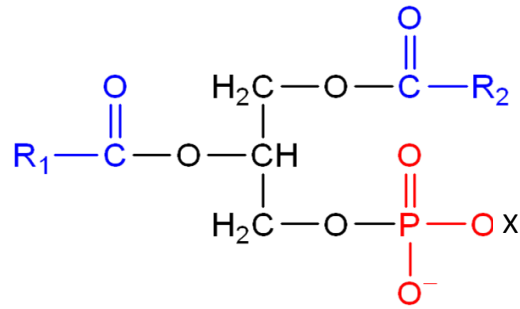


Figura 1.2 – Estrutura geral dos fosfolípidos. R1 e R2 representam diferentes cadeias de ácido gordo e X representa o grupo ligado ao grupo fosfato (glicerol, amina, aminoácido) (adaptado de <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/2491>).

Os esteróis são lípidos em que os carbonos formam anéis em vez de cadeias (Almeida e Afonso, 1997). O principal esteroide presente em produtos da pesca é o colesterol (CH) (Figura 1.3), normalmente em níveis entre os 20 e os 85 mg/100 g. O CH é de extrema importância para a fluidez das membranas celulares (Campos, 2008).

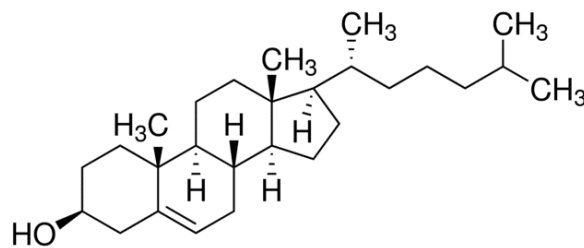


Figura 1.3 – Estrutura química do colesterol.

Conforme anteriormente referido, nos produtos da pesca, os lípidos são compostos, na sua maioria, por TAG e PL. Estes últimos são considerados lípidos estruturais, abundantes nas membranas dos tecidos dos animais (Christie, 1989) e variam numa razão inversa de acordo com o teor lipídico, o que significa, em termos relativos, que espécies mais magras têm mais PL comparativamente a espécies gordas (Moradi, A. Bakar, *et al.*, 2011). Já os TAG são lípidos de reserva e são usados principalmente no fornecimento e armazenamento de energia (Huss, 1995); (Kołakowska e Sikorski, 2010). Os lípidos estruturais, contrariamente aos lípidos de reserva possuem uma percentagem de ácidos gordos polinsaturados e uma composição mais estável ao longo do ano, enquanto os TAG no músculo estão sujeitos a variações sazonais (Huss, 1995).

Os lípidos nos peixes gordos são constituídos maioritariamente por TAG. No caso dos peixes magros, os PL constituem quase 90 % do teor de lípidos no músculo, sendo a percentagem de TAG de cerca de 1 a 2 % (Huss, 1995; Kołakowska e Sikorski, 2010).(Kołakowska e Sikorski, 2010)

1.2.2. Perfil de ácidos gordos do pescado

Os ácidos gordos saturados (SFA) são sólidos à temperatura ambiente e encontram-se frequentemente associados a problemas de saúde relacionados com a excessiva produção de colesterol. Os ácidos gordos saturados que se destacam nos produtos da pesca são, em regra, os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e esteárico (18:0), sendo, normalmente, o ácido palmítico (16:0) o mais abundante (Nunes, Bandarra e Batista, 2003).

Os ácidos gordos insaturados são normalmente líquidos à temperatura ambiente. Dos ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), aquele manifesta uma maior expressão nos produtos de pesca é o ácido oleico (18:1 n-9). No que diz respeito aos ácidos gordos polinsaturados (PUFA) os predominantes são os que pertencem às famílias ómega-6 e ómega-3. Dentro dos ómega-6, destacam-se os ácidos linoleico (18:2 n-6) e araquidónico (20:4 n-6). Da família ómega-3, os ácidos eicosapentaenóico (EPA) (20:5 n-3) e docosahexaenóico (DHA) (22:6 n-3) são os mais abundantes, sendo o DHA, na maioria dos casos, o ácido gordo que apresenta níveis mais elevados (Tabela 1.) (Nunes, Bandarra e Batista, 2011).

Tabela 1.2 - Principais ácidos gordos presentes nos produtos de pesca.

	Tipo de ligação	Estrutura	Nome sistemático	Nome comum
MUFA	14:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-tetradecenóico	Ácido miristoleico
	16:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-hexadecenóico	Ácido palmitoleico
	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico	Ácido oleico
PUFA n-3	18:3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Ácido <i>cis-cis-cis</i> -9,12,15-octadecatrienóico	Ácido linolénico (ALA)
	20:5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_6(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Ácido all- <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	EPA
	22:6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_6(\text{CH}_2)\text{-COOH}$	Ácido all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico	DHA
PUFA n-6	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Ácido <i>cis-cis</i> -9,12-octadecadienóico	Ácido linoleico (LA)
	20:4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Ácido <i>cis-cis</i> -5,8,11,14-eicosatetraenóico	Ácido araquidónico (AA)

Adaptado de (Campos, 2008).

1.2.3. Os lípidos e a saúde

Os lípidos podem ser obtidos no corpo humano por duas vias, a via exógena, ou seja, através do consumo de alimentos, ou através da via endogéna, sintetizados através de outros compostos (Versantvoort *et al.*, 2005).

Apesar do corpo humano conseguir utilizar hidratos de carbono, gorduras ou proteínas para sintetizar todos os ácidos gordos de que necessita, existem duas exceções: o ácido linoleico e ácido α -linolénico (ácido gordo ω -6 e ω -3, respetivamente). Estes dois ácidos gordos são essenciais para a saúde, pois o corpo humano não os consegue sintetizar (Campos, 2008). A partir do ácido linoleico e do ácido α -linolénico podem ser biossintetizados outros ácidos gordos da família ω -6 ou ω -3, respetivamente através de um conjunto de reações nas quais participam enzimas que promovem a incorporação de insaturações e o alongamento da cadeia carbonada (Figura 1.4).

A ingestão regular de lípidos associados ao pescado parece contribuir para a prevenção de diversas doenças incluindo as cardiovasculares (Sidhu, 2003). O EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) são cada vez mais alvo de estudos para compreensão do papel que desempenham na saúde humana. Estes ácidos gordos podem ser biossintetizados a partir do ácido α -linolénico (18:3 n-3). No entanto, esta biossíntese gera apenas quantidades ínfimas destes ácidos comparativamente às necessidades, razão pela qual estes são muitas vezes considerados ácidos gordos essenciais. Estima-se que a taxa de conversão de α -linolénico (18:3 n-3) em EPA seja inferior a 5 %, e deste último em DHA inferior a 0,05 % (Wang et al., 2006). Tendo em conta a quantidade produzida pelo nosso organismo, podemos afirmar que estes ácidos gordos provêm essencialmente da alimentação (Williams, 2000), sendo o consumo de peixe uma boa forma de os adquirir (Freire, 2015).

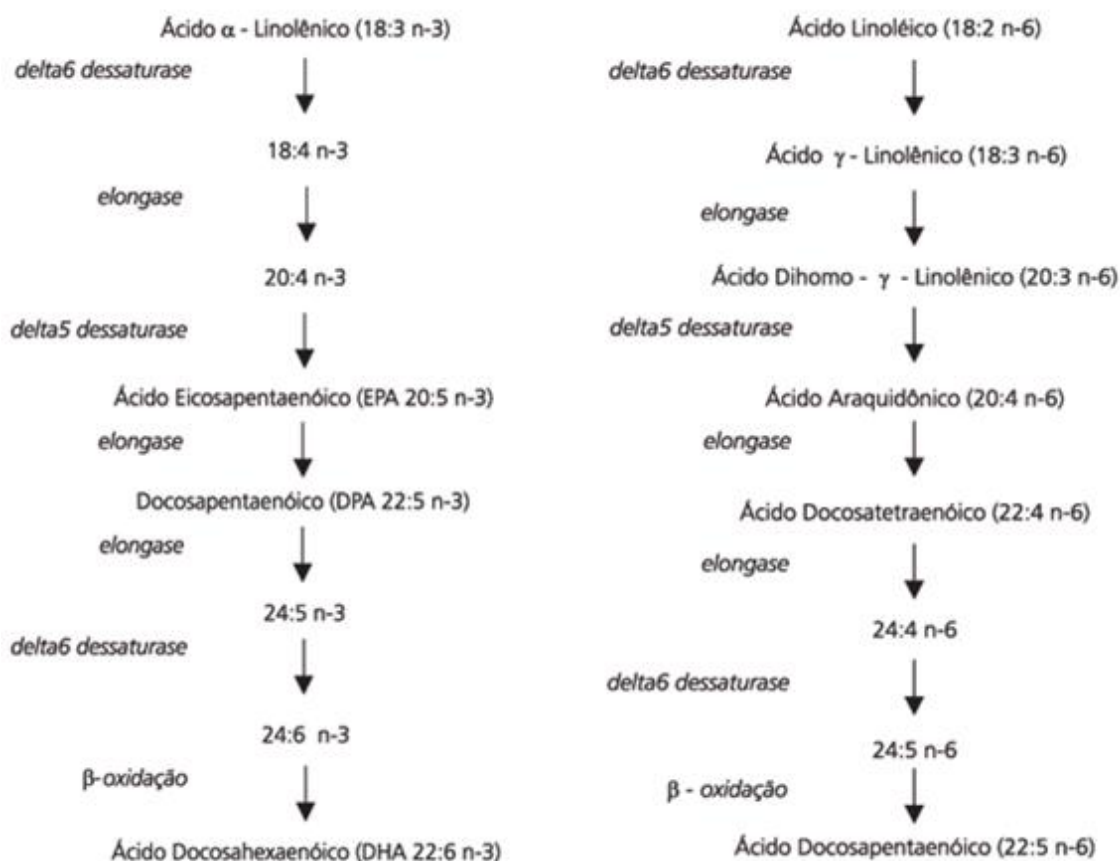


Figura 1.4- Síntese de ácidos gordos essenciais (Fonte: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732006000400008).

Vários estudos evidenciam os benefícios que os ácidos gordos ômega-3, essencialmente o DHA e EPA, presentes nos peixes têm para a saúde, particularmente na redução da pressão arterial, do risco de arritmia e trombose, dos níveis de triacilgliceróis, lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue, das respostas inflamatórias e da aterosclerose coronária e cerebral, bem como no aumento do nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL). O consumo destes ácidos tem mostrado contribuir para a diminuição do risco de desenvolvimento de certos tipos de cancro (fígado, pâncreas, próstata, cólon e mama) assim como de doenças como a osteoporose, artrite reumatóide, doenças neurodegenerativas diabetes (Kris-Etherton *et al.*, 2002; Nunes *et al.*, 2003; Sidhu, 2003; Castro-González e Méndez-Armenta, 2008; Candela *et al.*, 2011; Ferreira, 2017).

Os ácidos gordos ômega-6, particularmente o ácido araquidônico e os seus derivados, têm diversas funções fisiológicas incluindo a iniciação e sustentação da inflamação. Já os ácidos gordos ômega-3, particularmente o EPA e DHA, apresentam uma atividade anti-inflamatória. O estabelecimento de uma razão entre os ácidos gordos da família n-3 e n-6 pode representar um desafio. Vários estudos realizados nesta área, utilizando razões diferentes, demonstraram que uma percentagem mais

elevada de ómega-3 contribui para evitar determinada uma patologia mas, em contrapartida poderá não ser ótima para a prevenção de outra. Desta forma, não existe uma razão ideal e adequada à prevenção de todas as doenças e, por isso, é necessário adaptar-se caso a caso. Atualmente, vários cientistas concordam com o facto de em vários países, especialmente nos países ocidentais, a razão entre os ácidos gordos ómega-6 e ómega-3 ser excessivamente elevada (Candela *et al.*, 2011).

Segundo Simopoulos (1999) o balanço adequado entre n-6 e n-3 é de 4:1, estando esta razão associado a uma redução de 70 % na mortalidade por doença cardiovascular (Simopoulos, Leaf e Salem, 1999). Pode dizer-se que uma ingestão adequada de ambos os tipos de PUFA é essencial para uma boa saúde e para redução de doenças cardiovasculares. Vários estudos concordam que a proporção deve ser melhorada. Algumas pesquisas apontam para a necessidade de diminuição do consumo de n-6 para melhorar a relação, outros evidenciam o aumento do consumo de n-3, particularmente EPA e DHA. Isso explica o grande interesse em estabelecer a proporção ideal de ácidos gordos, havendo concordância quanto a necessidade de diminuir a relação n-6/n-3, e de acordo com alguns autores a relação ideal poderá ser de 1:1 ou de 2:1 (Candela, López e Kohen, 2011).

A organização mundial de Saúde (WHO), com base em estudos epidemiológicos e de controlo do risco de enfarte estabeleceu que a dose de PUFA benéfica para a saúde humana desse situa entre 6 e 11 % do valor energético total (FAO, 2010). Recomenda-se que o consumo de EPA+DHA, para os homens e para as mulheres, seja de 250 mg/dia e, no caso de grávidas ou lactantes, deverá ser de de mais 100 a 200 mg/dia de DHA (EFSA, 2017). A Fundação Portuguesa de Cardiologia recomenda a ingestão de ± 1 g/dia de DHA+EPA em indivíduos com doenças cardiovasculares, ± 500 mg/dia em indivíduos saudáveis e 3 a 4 g/dia em pacientes com hipertrigliceridemia (Silva, 2018).

Na Europa, estima-se que o consumo de ácido α -linolénico varie entre os 0,6-2,5 g/dia e o de EPA e DHA entre 0,1-0,5 g/dia, já nos EUA o consumo de EPA+DHA é de 0,1-0,2 g/dia e no Japão é superior a 2 g/dia (Candela, López e Kohen, 2011).

De forma a atingir a ingestão diária de ácidos gordos ómega-3 recomendada, a Associação Americana do Coração (*American Heart Association*) recomenda o consumo de peixe gordo, pelo menos duas vezes por semana no caso de adultos saudáveis e sem histórico de doenças cardiovasculares. No caso de indivíduos que apresentem alto risco de doenças cardiovasculares a recomendação é de três vezes por semana no mínimo (Castro-González e Méndez-Armenta, 2008). No entanto, no mundo são raras as pessoas que cumprem essa recomendação (Lund, 2013).

Com a crescente preocupação com a saúde e bem-estar, o consumidor procura cada vez mais a prática de uma alimentação cuidada e saudável, levando assim a um aumento da procura e do consumo de produtos da pesca e aquacultura (Bandarra *et al.*, 2004). Por outro lado, a introdução de novas espécies e produtos tem permitido aumentar a variedade de escolha contribuindo igualmente para um aumento desta procura (Nunes *et al.*, 2008). Pela primeira vez em 2016 o consumo global de

peixe ultrapassou os 20 quilos por pessoa por ano, impulsionado pelo aumento da oferta de pescado proveniente de aquacultura e ao recorde de capturas de espécies assim como a redução de desperdício (FAO, 2016). Contudo, o estado dos recursos marinhos no mundo não melhorou, apesar do progresso significativo em algumas áreas. É de salientar que um terço das unidades populacionais (*stock*) de peixe com valor comercial é capturado, hoje em dia, a um nível biológico insustentável, três vezes superior ao sucedido em 1974 (FAO, 2018).

Outra forma de tentar suprir as necessidades diárias de ácidos gordos ómega-3 na alimentação tem sido o recurso ao consumo de suplementos alimentares à base de pescado, como é o caso do óleo de fígado de bacalhau.

Por outro lado, é sabido que o facto do pescado, e dos suplementos à base de pescado, poderem apresentar uma concentração elevada em ácidos gordos ómega-3, não significa que estes possam todos ser absorvidos pelo organismo. Na verdade, a quantidade de nutrientes que existe num dado alimento nem sempre reflete a quantidade destes nutrientes que fica disponível para absorção após a digestão gastrointestinal. Assim, todos os fatores que possam influenciar o processo digestivo podem influenciar a quantidade de nutrientes que pode ser absorvida a partir de um determinado alimento (Grundy *et al.*, 2016)

1.3. Processo digestivo dos lípidos

As células do corpo humano requerem quantidades adequadas de nutrientes para o seu funcionamento. Os compostos para esse fim são obtidos a partir do ambiente exterior através da ingestão de alimentos. A função do sistema digestivo é possibilitar a transferência dos nutrientes provenientes dos alimentos do ambiente externo para o interno (organismo) onde podem ser distribuídos para as células do corpo através da circulação. O alimento quando é ingerido apresenta-se como um grande pedaço de matéria. As moléculas presentes nessa matriz são complexas (contendo substâncias de alto peso molecular) e incapazes de atravessar as membranas celulares do epitélio intestinal. Para serem absorvidas pelo organismo são degradadas para moléculas menores (Smith e Morton, 2010). A digestão consiste em várias transformações em sequência, desencadeadas por mediadores químicos, endócrinos e estímulos, desenvolvidos pelo aparelho digestivo de forma a possibilitar uma melhor absorção dos alimentos. Assim, a digestão pode ser definida como o conjunto de processos físicos (mastigação, deglutição e movimentos peristálticos) e químicos (ação enzimática) que convertem os alimentos em compostos menores absorvíveis, ocorrendo no interior do tubo digestivo (Smith e Morton, 2010).

O processo da digestão inicia-se na boca onde os alimentos são mastigados e misturados com a saliva (lípase lingual, amilase salivar, lisozima e mucina) formando o bolo alimentar que, de seguida, segue para o estômago onde, por ação da lipase gástrica presente no suco gástrico, ocorre uma hidrólise de 10 a 30% da gordura (Martin *et al.*, 2010).

De seguida, o produto resultante da digestão gástrica (quimo) é envolvido por ácidos biliares, promovendo a formação de pequenas micelas, aumentando assim a superfície exposta e possibilitando a hidrólise dos TAG em 2-monoacilgliceróis e ácidos gordos livres, e a hidrólise dos ésteres de colesterol em colesterol e ácidos gordos livres, pela lipase pancreática existente no suco pancreático. Os fosfolípidos são hidrolisados pelas fosfolipases A2 (PLA2) em lisofosfolípidos e ácidos gordos (Fernández-García, Carvajal-Lérida e Pérez-Gálvez, 2009).

Os ácidos gordos de cadeia curta e/ou média são absorvidos diretamente por difusão no intestino delgado e posteriormente transportados por via venosa e oxidados no fígado. Os restantes produtos da hidrólise, os ácidos gordos de cadeia longa, 2-monoacilgliceróis, lisofosfolípidos e colesterol formam micelas, devido à sua emulsão com sais biliares e lecitina. As micelas deslocam-se até à superfície da mucosa intestinal onde os lípidios se desprendem das micelas e os remanescentes das micelas retornam ao lúmen intestinal. Nas células da mucosa intestinal, os produtos da digestão dos lípidos são novamente convertidos em ésteres de ácidos gordos (TAG, fosfolípidos e éster de colesterol), que se unem a apolipoproteínas (proteína que se liga ao colesterol-HDL (Apolipoproteína-A) ou ao colesterol-LDL (Apolipoproteína-B)), formando as quilomicras. As quilomicras são lipoproteínas produzidas pelas células intestinais e são compostas por 85 a 95 % de TAG, uma pequena quantidade de colesterol livre, fosfolípidos e 1 a 2 % de proteínas (Fernández-García, Carvajal-Lérida e Pérez-Gálvez, 2009).

A última fase do metabolismo é o transporte, este envolve a transferência dos lípidos absorvidos da mucosa intestinal para os tecidos, através do sistema linfático e sanguíneo (Martin *et al.*, 2010). Os TAG das quilomicras são hidrolisados na corrente sanguínea, pela lipoproteína lipase, em ácidos gordos livres e glicerol, estes passam para as células onde são posteriormente utilizados como energia ou armazenados no tecido adiposo. Os restantes elementos das quilomicras são eliminados da circulação, através dos recetores das lipoproteínas do fígado, sendo e novamente sintetizados em TAG (a partir de ácidos gordos) e lipoproteínas de baixa densidade (Fernández-García, Carvajal-Lérida e Pérez-Gálvez, 2009). A Figura 1.5 resume as principais fases do processo digestivo dos lípidos.

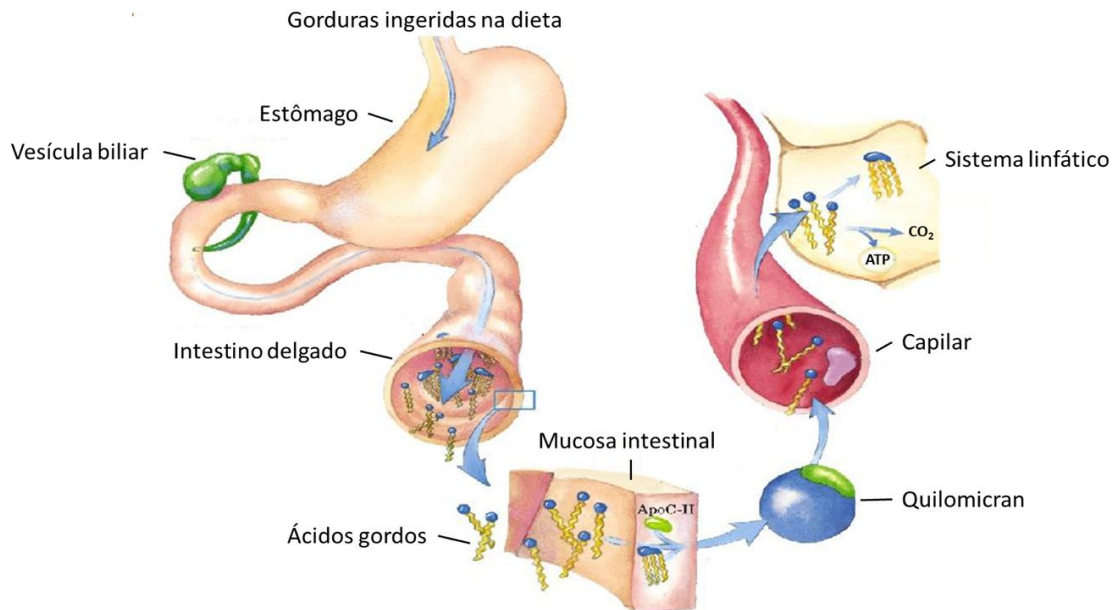


Figura 1.5 - Fases do processo digestivo dos lipídios (Fonte: <http://biointerativafisio.blogspot.pt/2010/12/metabolismo-de-lipideos-oii-gente-neste.html>).

1.4. Bioacessibilidade e biodisponibilidade dos lipídios

A bioacessibilidade é definida como a fração de um dado composto que é libertada do alimento durante o processo digestivo ficando disponível para absorção gastrointestinal e entrada na circulação sistémica (biodisponível) (Versantvoort *et al.*, 2005; Moradi, J. Bakar, *et al.*, 2011). A fração bioacessível é assim definida como a quantidade máxima de um composto que fica disponível para ser transportada através do epitélio intestinal, sendo a fração biodisponível a quantidade que realmente é absorvida (Moradi, A. Bakar, *et al.*, 2011).

A bioacessibilidade pode ser expressa pela razão entre a quantidade de nutriente libertada da matriz alimentar e a quantidade desse mesmo nutriente na matriz alimentar (Fernández-García, Carvajal-Lérída e Pérez-Gálvez, 2009).

A biodisponibilidade dos lipídios, assim como as propriedades físicas e químicas de cada ácido gordo podem ser influenciadas pela composição dos alimentos. Os ácidos gordos monoinsaturados, por exemplo, são mais facilmente absorvidos do que os polinsaturados, uma vez que são solúveis na fase aquosa do meio intestinal (Versantvoort *et al.*, 2005).

Experimentalmente, a bioacessibilidade (e a biodisponibilidade) de um determinado composto pode ser estimada por métodos *in vivo* (por exemplo, através de ensaios com animais) e *in vitro*. No caso dos

ensaios *in vivo*, os estudos da digestão e absorção são baseados em balanços de massas, que determinam a quantidade de nutriente absorvido, pela diferença entre as quantidades ingeridas e as quantidades excretadas, ou então pela monitorização do aumento da concentração do nutriente no plasma. No entanto estas abordagens são dispendiosas e algo limitadas, para além de serem aplicadas em modelos animais (Vassilopoulou *et al.*, 2006).

As metodologias *in vitro* são mais simples, rápidas e de custos moderados, motivo pelo qual poderão ser uma alternativa apelativa a estudos de intervenção ou com animais (Moradi, A. Bakar, *et al.*, 2011). Estas metodologias simulam os processos fisiológicos e a sequência que ocorre durante a digestão na boca e no trato gastrointestinal humano, excluído o trato no intestino grosso pois não está envolvido na absorção de compostos em alta escala (Cabañero, Madrid e Cámara, 2004; Versantvoort *et al.*, 2005; Vassilopoulou *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006).

Os modelos *in vitro* mimetizam as condições fisiológicas do organismo humano, tais como a composição química dos fluidos digestivos, o pH e tempo de residência típico de cada compartimento, para que estes sejam semelhantes aos verificados na digestão *in vivo* (Hornero-Méndez e Mínguez-Mosquera, 2007). A realização deste tipo de ensaios reveste-se da maior importância para conseguir prever a fração dos nutrientes presentes no alimento que pode realmente ser libertada da matriz do alimento no decurso da digestão gastrointestinal e, desta forma, ser absorvida.

Conforme anteriormente referido, a composição e o valor nutricional dos produtos de pesca é variável de espécie para espécie e, até mesmo, entre indivíduos da mesma espécie. Esta variação está relacionada com processos reprodutivos inerentes às espécies, com a época, com a quantidade e tipo de alimento, com a temperatura da água, o pH e a salinidade da mesma, assim como com a zona geográfica onde se encontrava e com os padrões de migração (Nunes *et al.*, 2008). Assim, para poder avaliar os benefícios nutricionais associados ao consumo de pescado torna-se essencial estudar a sua composição nutricional em diferentes épocas do ano, bem como avaliar a bioacessibilidade e biodisponibilidade dos nutrientes em cada uma dessas épocas. Os ensaios de bioacessibilidade/biodisponibilidade de ácidos gordos são igualmente fundamentais para poder prever os benefícios reais associados ao consumo de suplementos alimentares à base de pescado.

1.5. Cavala

A cavala (*Scomber colias*) (Figura 1.6) é das espécies mais abundantes na costa portuguesa. Espécie pelágica e costeira vive em grandes cardumes até cerca dos 250 m de profundidade, no Oceano Atlântico e mar Mediterrâneo, sendo dos recursos pesqueiros mais importantes do mundo (Bae e Lim, 2013).

FAO MAS	NOME COMERCIAL	CAVALA (Chub mackerel)		
	NOME CIENTÍFICO	<i>Scomber colias</i>		
	CLASSIFICAÇÃO	Filo	Cordados	
		Classe	Actinopterygii	
		Ordem	Perciformes	
Família		Scombridae		

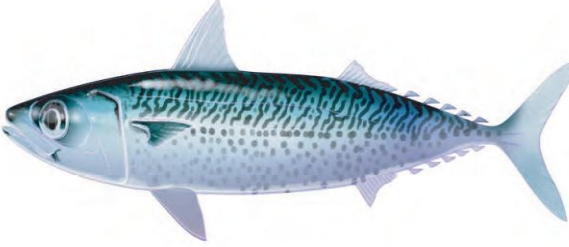


Figura 1.6 - Aspeto e classificação científica da cavala (Fonte: <http://www.katembe.com.pt/cavala.htm>)

De corpo alongado e sem escamas, a cavala possui caracteristicamente uma cabeça cônica, longa e translúcida, um focinho pontiagudo, boca grande e barbatanas pouco desenvolvidas. A cavala tem entre 8 a 10 espinhos na primeira barbatana dorsal, cor variada desde o dorso com tonalidades azuladas ou esverdeadas, ventre prateado com listas mais difusas e barriga com algumas pintas, tem um comprimento de primeira maturação estimado para ambos os sexos, de 18,9 cm de comprimento total com um intervalo de confiança de 95% de 0,2 cm (Gonçalves *et al.*, 2015).

A época de reprodução ocorre de Dezembro a Junho, com um máximo de intensidade em Fevereiro e Março na Costa Portuguesa (Gonçalves *et al.*, 2015).

A cavala é uma espécie oportunista e não-seletiva que utiliza diferentes estratégias alimentares, como filtração ou predação ativa, para captura de presas de diferentes tamanhos, taxa e níveis tróficos. Essas estratégias dependem de três fatores: geografia, sazonalidade e fase de desenvolvimento do animal (Castro-Hernández e Santana Ortega, 2000).

A dieta da cavala baseia-se, essencialmente, em zooplâncton, ictioplâncton, assim como juvenis de peixes pelágicos, como a sardinha, sarda, boga, biqueirão e carapau (Castro-Hernández e Santana Ortega, 2000). Estes animais ocupam uma posição importante, posição intermedia, na cadeia trófica, pois são, em simultâneo, predadores e presas de predadores de topo (aves e mamíferos marinhos e grandes pelágicos) (Velasco *et al.*, 2011).

1.5.1. A captura da cavala

A cavala tem sido uma das espécies mais rejeitadas da frota algarvia. No entanto, desde 2012 a cavala tem sido a espécie mais desembarcada nos portos nacionais e algarvios, devido a uma forte diminuição dos *stocks* de sardinha e a uma utilização mais diversificada da cavala (Figura 1.7) (Gonçalves *et al.*, 2015).

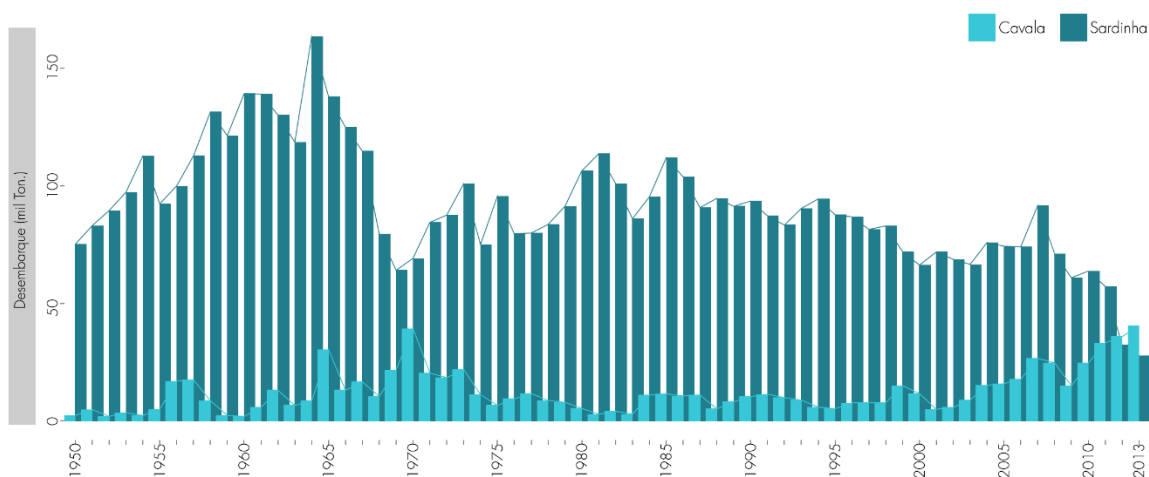


Figura 1.7 - Evolução dos desembarques de cavala (*Scomber colias*) e sardinha (*Sardina pilchardus*) em Portugal Continental, de 1950 a 2013 ((Gonçalves *et al.*, 2015)

A abundância da cavala encontra-se intimamente dependente do sucesso do recrutamento, que por sua vez depende amplamente de fatores ambientais como a intensidade do afloramento costeiro (Fréon *et al.*, 2005). Assim, é natural que se verifiquem oscilações de captura desta espécie. Para Portugal, estas oscilações têm sido frequentes tendo no ano de 2017 registado uma diminuição do volume de descargas em 38,7% face ao verificado no ano de 2016 (INE, 2018).

Como espécie que realiza migrações verticais diárias, escondendo-se dos predadores durante o dia em águas mais profundas e alimentando-se durante a noite em águas mais superficiais, é capturada sobretudo durante a noite. A captura destes pequenos pelágicos é realizada maioritariamente pela arte costeira de cerco e de forma residual nas restantes artes de pesca: aparelhos de anzol, redes de emalhar e de tresmalho e também em arrasto (Gonçalves *et al.*, 2015).

A cavala raramente aparece no Inverno, altura em que vivem em águas mais profundas e afastadas das costas, aproximando-se de novo da costa a partir do início da Primavera, chegando muito próximo das praias e pontões e perto da superfície (Gonçalves *et al.*, 2015).

1.5.2. Composição química da cavala

A cavala é um peixe com alto teor de proteína, rica em ácidos gordos ómega-3, principalmente EPA e DHA, e em vitamina B12, pobre em colesterol e contendo quantidades significativa das vitaminas D, B6, riboflavina e niacina e ainda dos minerais como o potássio, fósforo e zinco (Tabela 1.3) (Bae e Lim, 2013; Nogueira, Cordeiro e Aveiro, 2013; Gonçalves *et al.*, 2015). O teor lipídico da cavala é bastante variável, podendo a espécie ser considerada de semi-gorda (4-8% de gordura) a altamente gorda (> 8% de gordura), esta variação de teor lipídico deve-se ao fato de esta espécie apresentar variação sazonal (Gonçalves *et al.*, 2015).

Tabela 1.3 - Composição química da cavala (por 100g de parte edível)

Valor Energético (kcal/kJ)	202/841
Macronutrientes	
Lípidos Totais (g)	13,4
Ácidos gordos saturados (g)	3,6
Ácidos gordos monoinsaturados (g)	3,7
Ácidos gordos polinsaturados (g)	4,7
EPA (mg)	1217,9
DHA (mg)	2128,1
Hidratos de Carbono (g)	0
Proteína (g)	20,3
Fibra alimentar (g)	0
Água (g)	64,3
Colesterol (mg)	45
Micronutrientes	
Vitaminas	
Vitamina A (retinol) (µg)	28
Caroteno (µg)	0
Vitamina D (µg)	2,4
α-tocoferol (E) (mg)	1,3
Tiamina (B1) (mg)	0,13
Riboflavina (B2) (mg)	0,23
Niacina (mg)	9
Vitamina B6 (mg)	1
Vitamina B12 (µg)	14
Vitamina C (mg)	0
Folatos (µg)	14
Minerais	
Cinza (g)	1,4
Sódio (Na) (mg)	78
Potássio (K) (mg)	360
Cálcio (Ca) (mg)	39
Fósforo (P) (mg)	280
Magnésio (Mg) (mg)	37
Ferro (Fe) (mg)	1,1
Zinco (Zn) (mg)	2,2

Fonte: Bandarra *et al.*, 2004

1.6. Óleo de fígado de bacalhau

Tem sido atribuído ao óleo de fígado de bacalhau um crescente interesse devido às evidências científicas e à maior consciência do consumidor sobre as suas vantagens nutricionais, atribuídas ao abundante conteúdo de ácidos gordos ómega-3 (Zeng *et al.*, 2010).

O bacalhau (*Gadus sp.*) pertence a uma das maiores famílias de peixes, com mais de 90 espécies de bacalhau (das quais 40 são usadas comercialmente para extrair óleos), encontrada em todos os oceanos do mundo (Calvano *et al.*, 2008).

O fígado de bacalhau, um subproduto altamente valorizado, é utilizado em muitos pratos culinários tradicionais em toda a Europa, particularmente, na Noruega, Alemanha, Islândia, Dinamarca, Polónia, Letónia e Lituânia (Klapper *et al.*, 2018). O fígado de bacalhau contém aproximadamente 20 % de proteína e entre 50 a 60 % de lipídios (Klapper *et al.*, 2018). É rico em vitaminas lipossolúveis A, D e E, iodo e possui alto conteúdo de ácidos gordos polinsaturados, pertencentes maioritariamente à família ómega-3 (Klapper *et al.*, 2018).

O fígado é também usado para a produção de óleo de fígado de bacalhau, que tem sido utilizado como suplemento alimentar maioritariamente para crianças durante séculos, uma vez que é uma excelente fonte de ácidos gordos essenciais ómega-3 (EPA + DHA) (Klapper *et al.*, 2018), possuindo cerca de 9 % de EPA e 14 % de DHA (Sidhu, 2003). O consumo de óleo de fígado de bacalhau, quer como suplemento nutricional ou em produtos alimentícios, tem aumentando nas últimas décadas, principalmente devido aos potenciais benefícios para a saúde atribuídos aos lipídios polinsaturados de cadeia longa ómega-3, como o EPA e o DHA (Sidhu, 2003; Zeng *et al.*, 2010).

Em países como a Noruega, Escócia, Irlanda e Islândia, o óleo de fígado de bacalhau possui um grande impacto cultural, onde é consumido para tratar doenças como raquitismo e reumatismo (*Cod Liver Oil VS Fish Oil*, 2019). Estudos anteriores evidenciam que o óleo de fígado de bacalhau ajuda na redução de doenças cardiovasculares e tem efeitos anticancerígenos (Huang, Fan e Zhang, 2011).

1.7. Objetivos

Conforme anteriormente referido, a composição lípidica do pescado pode sofrer variações sazonais significativas, pelo que se torna importante conhecer a sua composição nutricional em diferentes épocas do ano. Por outro lado, também como já foi referido, a realização de ensaios de bioacessibilidade ao pescado e a suplementos alimentares à base de pescado, reveste-se da maior importância de modo a conhecer a fração dos ácidos gordos essenciais presentes nestas matrizes, que é libertada no decurso da digestão gastrointestinal e que, desta forma, pode realmente ser absorvida pelo organismo.

Neste contexto este trabalho teve dois objetivos principais:

- 1) Numa primeira etapa, este trabalho pretendeu contribuir para o conhecimento da composição lípidica da cavala durante o Inverno (Fevereiro), época que se caracteriza pela existência de um menor teor em gordura, analisando assim se esta é uma boa fonte de DHA e EPA nessa época do ano.
- 2) Numa segunda etapa, pretendeu avaliar-se qual o efeito da digestão gastrointestinal no perfil lipídico da cavala e do óleo de fígado de bacalhau. O óleo de fígado de bacalhau foi incluído devido ao crescente aumento do consumo de suplementos alimentares com o intuito de suprimir necessidades diárias de ómega-3 na alimentação.

Esta etapa do trabalho pretendeu determinar:

- a) Qual a bioacessibilidade dos ácidos gordos presentes nas amostras em estudo;
- b) Que alterações ocorrem no perfil de ácidos gordos no final do processo digestivo;
- c) Qual a quantidade de EPA e DHA que fica bioacessível.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material biológico

Foram objeto deste estudo a cavala e o óleo de fígado de bacalhau.

As cavalas utilizadas no presente trabalho foram fornecidas pelo IPMA e adquiridas no mercado municipal de Algés no dia 18 de Fevereiro de 2015. Os 20 exemplares foram agrupados em 4 pools, cada uma constituída por 5 exemplares, tendo como critério de separação a semelhança em peso e tamanho. Após remoção das espinhas e pele, procedeu-se à homogeneização do músculo. Retirou-se parte da amostra de cada pool para liofilização, durante 48 horas a -45 °C e a uma pressão de aproximadamente 10^{-1} atm, sendo no final, homogeneizada e armazenada a -20 °C até posterior análise, tendo a restante sido devidamente identificada e armazenada a -80 °C .

O suplemento, óleo de fígado de bacalhau, foi adquirido numa farmácia local.

2.2. Material, equipamentos e reagentes

Para a realização deste trabalho utilizaram-se os materiais, equipamentos, reagentes e enzimas indicados na Tabela 2.1, bem como os padrões de ácidos gordos descritos na Tabela 2.2. A água utilizada foi sempre água ultrapura (sistema Milli-Q Plus Millipore).

Tabela 2.1 – Materiais e reagentes utilizados no procedimento experimental

Material e Equipamentos	Reagentes/Enzimas/Padrão
<ul style="list-style-type: none"> • Agitador rotativo (Scientific Industries, SI-1101, E. U. A.); • Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204, E. U. A.); • Balões-pêra 50 mL, • Banho termostatizado (Buchi 461, Suíça); • Câmara de eluição (CAMAG, Suíça); • Centrífuga (Sigma, 2K 15, Alemanha); • Cromatógrafo de fase gasosa (Bruker 456, E. U. A.) equipado com uma coluna DB-WAX 30m, 0.25mm, 0.25µm (Agilent Technologies, E. U. A.) • Estufa de secagem, regulável a 105 ± 2 °C (Memmert, ULE 500, Alemanha); • Evaporador rotativo (Buchi 461, Suíça) e bomba de vácuo (Buchi V 700, Suíça); • Exsiccador; • Material de uso corrente em laboratório. • Medidor de pH e temperatura (HANNA Instruments, HI 221, Portugal); • Micropipeta de exclusão total (Gilson, Microman 10-20 µL, E. U. A.); • Placa de aquecimento (Schott-Geräte, CK 111, Alemanha); • Placas de sílica gel 60 F₂₅₄ 20x20, 0,25 mm de espessura (Merck, Alemanha); • Polytron (Kinematica, 10-35 GT-D, Suíça); • Pulverizador de vidro; • Scanner GS-800; • Tubos de 15, 18 e 20 mL rolhados, • Vortex (Heidolph, ReAX, Alemanha); 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido acético 99,8% (v/v), p. a. (Fluka, Alemanha); • Ácido fosfomolibdico hidratado 10% em etanol; • Ácido fosfomolibdico hidratado, p. a. (Merck, Alemanha); • Ácido glucorónico (Sigma, Alemanha); • Ácido Úrico 99% (p/p) (Sigma, Alemanha); • Albumina sérica bovina (BSA), pH 7, ≥ 98% (m/m) (Sigma, A7906, Alemanha); • Bicarbonato de sódio 99,5% (p/p)(Merck, Alemanha); • Bólis de suíno (Sigma, B8631, Alemanha); • Cloreto de acetilo > 98 % (v/v), para síntese (Merck, Alemanha); • Cloreto de amónio 99,5% (p/p) (Riedel-de Haen, Alemanha); • Cloreto de cálcio 96& (p/p) (Sigma, Alemanha); • Cloreto de magnésio 99% (p/p) (Chem-Lab NV, Bélgica); • Cloreto de potássio 99% (p/p) (Merck, Alemanha); • Cloreto de sódio (OmniPur, USA); • Clorofórmio ≥ 99% (v/v), p. a. (Carl Roth Alemanha); • di-hidrogenofosfato de potássio 99% (p/p) (Merck, Alemanha); • di-hidrogenofosfato de sódio 99-100,5% (Panreac, Espanha); • Etanol absoluto 100% (v/v), p. a. (Chem-Lab NV, Bélgica); • Éter dietílico > 99,7% (v/v), P. A. (Merck, Alemanha); • Glucose (Sigma, Alemanha); • Hidrocloreto de glucosamina 99% (p/p) (Sigma, Alemanha); • Lipase do pâncreas suíno, Tipo II, 100-500 unidade/mg proteína (Sigma, L3126, Alemanha); • Metanol ≥ 99,9 % (v/v), p. a. (Merck, Alemanha); • Metil heneicosanoato (Sigma, H3265-100MG , Alemanha) • Mucina do estômago suíno, Tipo II (Sigma, M2378, Alemanha); • n-Heptano > 99 % (v/v), p. a. (Merck, Alemanha); • n-Hexano > 99,0% (v/v), p. a. (Merck, Alemanha); • Pancreatina do pâncreas suíno, ≥ 3 × especificações USP (Sigma, P1625, Alemanha); • Pepsina da mucosa de estômago suíno, ≥ 400 unidades/mg proteína (Sigma, P7125, Alemanha); • Solução de Metanol/Clorofórmio (2:1); • Solução saturada de cloreto de sódio puro; • Sulfato de sódio 99% (p/p) (Merck, Alemanha); • Sulfato de sódio anidro ≥ 99,0% (m/m), p. a. (Panreac, Espanha); • Tiocianato de potássio 99% (p/p)(Sigma, Alemanha); • Tripsina do pâncreas suíno, Tipo IX-S (Sigma, T0303, Alemanha); • Ureia 100,5 % (p/p) (Sigma, Alemanha); • α-Amilase de <i>Aspergillus oryzae</i>, ≈1.5 U/mg (Sigma, 86250, Alemanha); • α-Quimotripsina do pâncreas bovino, Tipo II, ≥40 unidades/mg proteína (Sigma, C4129, Alemanha);

Tabela 2.2 – Lista de padrões de ácidos gordos utilizados na cromatografia em camada fina (TLC)

Padrão	Nome científico	Referência	Marca
PL	L- α -Fosfatidilcolina	P3556-500 mg	Sigma
MAG	DL- α - Monoleína	M7765-100mg	Sigma
1,2 DAG	(\pm)-1,2-Dioleína	D8394-25mg	Sigma
1,3 DAG	1,3-Dipalmitina	D1639-1g	Sigma
FFA	Ácido oleico	O1008-1g	Sigma
TAG	Trioleína	T7140-1g	Sigma
MAG, DAG e TA mix		1787-1AMP 10 mg de cada analito	Supelco

2.3. Determinação do teor em humidade da cavala

O teor de humidade da cavala foi determinado de acordo com a Norma Portuguesa NP 2282 de 2009. Neste método, a humidade é obtida a partir da diferença de massa da amostra determinada após secagem em estufa a 105 ± 2 °C durante 3 horas. Assim, pesaram-se rigorosamente, numa balança de precisão 0,001 g, cerca de 10 g de amostra, para placas de Petri previamente identificadas, secas em estufa à temperatura de 105 ± 2 °C, arrefecidas em exsiccador e pesadas. As placas de Petri foram de seguida colocadas na estufa a 105 ± 2 °C, durante uma noite. Por fim, retiraram-se as placas da estufa, deixou-se arrefecer em exsiccador até atingirem a temperatura ambiente, e pesaram-se. Repetiu-se as operações de secagem (30min), de arrefecimento e pesagem, até que os resultados de duas pesagens sucessivas não difiram entre si em mais do que 10 mg. O teor em humidade foi determinado de acordo com a expressão:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = 100 - \left[\frac{m(c. petri + amostra seca)(g) - m(c. petri)(g)}{m(amostra)(g)} \times 100 \right]$$

2.4. Determinação do teor em cinza da cavala

O teor em cinza foi determinado gravimetricamente após incineração da amostra em mufla a 500 °C, de acordo com a metodologia da NP 2032 de 2009. Assim, pesaram-se 5 g de amostra para cadinhos, numa balança de precisão 0,001 g, e secou-se em estufa a 100 °C durante uma noite. Posteriormente, transferiram-se as amostras secas para uma mufla a 200 °C. A temperatura da mufla foi depois aumentada gradualmente, até se atingirem os 500 °C, deixando-se as amostras a esta temperatura durante uma noite. Findo este período, transferiram-se os cadinhos para um exsiccador, onde arrefeceram até à temperatura ambiente e pesou-se o conjunto cadinho + amostra incinerada. Repetiu-se as operações de incineração (30min), de arrefecimento e pesagem, até que os resultados de duas pesagens sucessivas não difiram entre si em mais do que 1mg. Para o cálculo do teor em cinza recorreu-se à fórmula:

$$\text{Teor de cinza (\%)} = \frac{m(cadinho + amostras incinerada)(g) - m(cadinho)(g)}{m(amostra)(g)} \times 100$$

2.5. Digestão *in vitro* da cavala e do suplemento de óleo de fígado de bacalhau

A fim de obter informação sobre a bioacessibilidade dos ácidos gordos, as amostras foram submetidas a uma metodologia otimizada de digestão *in vitro* previamente descrita (Afonso et al., 2015). A quantidade de amostra de cavala utilizada como entrada para o modelo (1,5 g) foi escolhida com base em estudos anteriores visando uma otimização do modelo digestivo (Afonso et al., 2015). Diferentes quantidades de suplemento de óleo de fígado de bacalhau foram usadas como substrato para o modelo de digestão. As quantidades escolhidas foram 82, 154, 313, 604 e 1027 mg. As quantidades de 82, 154 e 313 mg foram escolhidas para simular peixes com 5% (p/p), 10% (p/p) e 20% (p/p) de gordura, respetivamente. A quantidade de 604 mg de suplemento de óleo foi escolhida para simular peixes com teor de gordura acima de 20% (p/p). Por último estudou-se, igualmente a quantidade de 1 027 mg por corresponder à quantidade de gordura em muitas prescrições de óleo de fígado de bacalhau.

As soluções e enzimas utilizadas na preparação dos sucos digestivos são os descritos por Versantvoort et al., (2005) encontram-se na Tabela 2.3.

Para se dar início ao processo digestivo a amostra foi pesada para tubos de centrifuga tendo, de seguida, sido adicionada a solução que simula a saliva. Esta mistura foi agitada no *vortex* durante 30 segundos. Posteriormente juntou-se a solução de suco gástrico e colocaram-se os tubos num agitador rotativo (cerca de 37 rpm), a 37 °C, durante 2 horas, simulando, desta forma, a digestão no estômago. Por fim, adicionou-se o suco duodenal e biliar e colocaram-se os tubos por mais duas horas a 37 °C no agitador rotativo (simulação da fase intestinal). No final, os tubos foram centrifugados, durante 5 minutos a 2750 g, e separou-se o sobrenadante (fração bioacessível) do *pellet* (fração não-digerida). Este ensaio foi realizado em duplicado tendo sido sempre realizada uma simulação do processo digestivo contendo apenas os sucos digestivos (controlo negativo), de modo a que a quantidade de cada nutriente presente nos sucos digestivos pudesse ser retirada à quantidade desse mesmo nutriente quantificada na fração bioacessível.

Tabela 2.3 – Composição (para 500 mL) dos sucos digestivos utilizados na digestão *in vitro* (Versantvoort et al., 2005)

Componentes	Saliva (500 mL)	Suco gástrico (500 mL)	Suco duodenal (500 mL)	Suco biliar (500 mL)
KCl (89,6 g L ⁻¹)	10,0 mL	9,2 mL	6,3 mL	4,2 mL
KSCN (20 g L ⁻¹)	10,0 mL	-	-	-
NaH ₂ PO ₄ (88,8 g L ⁻¹)	10,0 mL	3,0 mL	-	-
Na ₂ SO ₄ (57 g L ⁻¹)	10,0 mL	-	-	-
NaCl (175,3 g L ⁻¹)	1,7 mL	15,7 mL	40,0 mL	30,0 mL
NaHCO ₃ (84,7 g L ⁻¹)	20,0 mL	-	40,0 mL	71,2 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O (22,2 g L ⁻¹)	-	18,0 mL	9,0 mL	10 mL
NH ₄ Cl (30,6 g L ⁻¹)	-	10,0 mL	-	-
KH ₂ PO ₄ (8 g L ⁻¹)	-	-	10,0 mL	-
MgCl ₂ (5 g L ⁻¹)	-	-	10,0 mL	-
HCl (37%, p/p)	-	6,5 mL	180,0 µL	150,0 µL
Ureia (25 g L ⁻¹)	8,0 mL	3,4 mL	4,0 mL	10,0 mL
Ácido glucorónico (2 g L ⁻¹)	-	10,0 mL	-	-
Glucose (65 g L ⁻¹)	-	10,0 mL	-	-
Hidrocloreto de glucosamina (33 g L ⁻¹)	-	10,0 mL	-	-
α-Amilase	290 mg	-	-	-
Ácido úrico	15 mg	-	-	-
Mucina	25 mg	3,0 g	-	-
BSA	-	1,0 g	1,0 g	1,8 g
Pepsina	-	3,3 g	-	-
Pancreatina	-	-	9,0 g	-
Lipase	-	-	1,6 g	-
Tripsina	-	-	80 mg	-
α-Quimotripsina	-	-	870 mg	-
Bílis	-	-	-	30,0 g

2.6. Extração e quantificação dos lípidos totais e do bioacessível da cavala e do óleo de fígado de bacalhau

Para a extração e quantificação dos lípidos totais e bioacessíveis foi utilizado um procedimento baseado no método de extração descrito por Bligh e Dyer (1959). Para a extração dos lípidos da cavala, pesou-se 1 g de cada pool liofilizada, devidamente homogeneizada, para um tubo de 20 mL previamente identificado, adicionaram-se 20 mL da solução arrefecida de metanol/clorofórmio (2:1) e agitou-se durante 1 minuto no Polytron (Ultra Turrax). Seguidamente, adicionou-se 1 mL da solução saturada de cloreto de sódio fria e agitou-se por mais 30 segundos. Posteriormente, acrescentaram-se 4 mL de clorofórmio frio, agitando mais 30 minutos no Polytron e, por fim, mais 1 mL de água milli-Q, agitando durante 1 minuto.

As amostras foram então centrifugadas durante 10 minutos, a 4 °C e a 2000g, tendo-se, no final da centrifugação transferido a fase orgânica para tubo de 18 mL contendo sulfato de sódio anidro, para eliminação de algum teor de água. Procedeu-se a uma nova centrifugação durante 3 minutos a 4 °C e a 5000 rpm, tendo a fase orgânica sido filtrada através de uma coluna de algodão e sulfato de sódio anidro para um balão de pera de 50 mL identificado e tarado.

Procedeu-se então à evaporação do clorofórmio em evaporador rotativo em banho a 40 °C e pressão 434 mbar. No final, pesou-se o balão em forma de pera de modo a calcular-se o teor total de lípidos obtidos, solubilizou-se o óleo em 1 mL de clorofórmio e armazenou-se em congelado a -20 °C.

Para extração da gordura bioacessível adicionaram-se 2,0 mL de clorofórmio à fração bioacessível, homogeneizou-se durante um minuto no vortex e centrifugou-se a 2000 g durante 10 minutos a 4 °C. No final da centrifugação transferiu-se a fase orgânica para tubos contendo sulfato de sódio anidro, agitou-se no vortex e centrifugou-se novamente nas mesmas condições. Retirou-se a fase aquosa para frascos rolhados identificados e a fase orgânica para balões em formato de pera de 50 mL também identificados e previamente tarados, fazendo passar a amostra por uma coluna de algodão e por sulfato de sódio anidro. Por fim adicionaram-se três vezes 2,0 mL de clorofórmio à coluna e procedeu-se à evaporação do clorofórmio em evaporador rotativo, com banho a 40 °C e 434 mbar. Após evaporação, o balão foi pesado e solubilizou-se o óleo num volume de clorofórmio conhecido, armazenando-se a -20 °C. Os frascos contendo a fase aquosa foram também armazenados a -20 °C.

2.7. Determinação de classes de lípidos por cromatografia em camada fina (*thin layer chromatography* – TLC)

A determinação das classes de lípidos presentes na cavala e nas frações bioacessíveis pressupôs, como primeiro passo, a recolha dos lípidos das respetivas amostras conforme descrito no ponto anterior. Já no caso do óleo de fígado de bacalhau, não foi necessário realizar esse passo. As classes de lípidos foram determinadas através de cromatografia em camada fina (TLC) de acordo com o procedimento descrito por Bandarra et al. (2001).

A solução de eluição foi constituída por n-hexano, éter etílico e ácido fórmico, na concentração de 50:50:2. Já no caso da amostra cavala utilizou-se também a solução de eluição 65:35:1, constituída por n-hexano, éter dietílico e ácido acético. Após preparada, a solução de eluição foi vertida na câmara de eluição de modo a saturar o ambiente, durante aproximadamente 30 minutos. As soluções das amostras de cavala, óleo de fígado de bacalhau e da fração bioacessível, foram preparadas de modo a que estivessem numa concentração de 10 mg/mL em clorofórmio. As placas de sílica foram colocadas na estufa, durante uma hora a 110 °C, de modo a promover a ativação da sílica e a eliminar qualquer vestígio de humidade, sendo posteriormente arrefecidas num exsiccador à temperatura ambiente. Após o arrefecimento das placas de sílica estas foram colocadas no suporte e

com o auxílio de um lápis metálico e de uma régua de TLC traçou-se uma linha na parte superior das placas (de modo a impedir as amostras de eluírem para fora da placa) e marcaram-se e identificaram-se, na parte inferior das placas, os pontos de aplicação das várias amostras e dos padrões mistos que iriam ser aplicados na placa. De seguida, com o auxílio de uma micropipeta de exclusão total aplicaram-se as amostras e os padrões necessários. As placas foram então colocadas na tina de eluição de forma a que os solventes eluíssem até ao risco superior. Seguidamente, retiraram-se as placas, deixou-se a evaporar, procedeu-se à revelação com ácido fosfomolibílico hidratado a 10 % em etanol e colocaram-se as placas na estufa, de forma a permitir a revelação das frações lipídicas. Por fim, quando reveladas, foi possível calcular-se as proporções relativas de cada fração, através do recurso ao programa informático Quantity One, da PDI (versão 2.4, USA, New York).

2.8. Determinação do perfil em ácidos gordos

Para a determinação do perfil de ácidos gordos utilizou-se o método descrito por Lepage e Roy (1986) e modificado por (Bandarra *et al.*, 1997).

As amostras foram pesadas na balança analítica. A massa pesada variou consoante matriz utilizada. Assim, no caso da cavala pesaram-se aproximadamente 300 mg de amostra liofilizada e no caso do óleo de fígado de bacalhau pesaram-se 150mg e da fração biodisponível trabalhou-se com uma gama entre 50 a 150 mg de óleo. Em seguida, adicionaram-se 50 µL de padrão interno (21:0) e 5 mL da solução de cloreto de acetilo: metanol (1:19). Tendo em conta que se trata de uma reação exotérmica, esta solução foi preparada na hotte e com o copo dentro de uma tina com gelo, tendo-se, primeiramente, adicionado o metanol no copo e depois, com uma pipeta de Pasteur, adicionaram-se cuidadosamente, pelas paredes do copo e rodando sempre o mesmo, gotas de cloreto de acetilo. Após adição da solução de cloreto de acetilo: metanol, agitaram-se os tubos no vortex durante 30 segundos e colocou-se em banho-maria a 80 °C por uma hora (evaporação do solvente). Deixaram-se os tubos arrefecer até atingirem a temperatura ambiente e adicionou-se 1 mL de água milli-Q e 2 mL de n-heptano. Os tubos foram agitados mais 30 segundos no vortex e depois centrifugados a 3000 g, durante 3 minutos a 4 °C. Após a centrifugação recolheu-se a fase orgânica (fase superior), onde se encontram os ésteres metílicos, para um vial, filtrando através de uma coluna de algodão com sulfato de sódio anidro. A análise dos ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) foi efetuada pela injeção de 2 µL num cromatógrafo de fase gasosa, Bruker 456 (E:U:A), com detetor de ionização de chama (FID), a 250 °C. A obtenção de cada cromatograma teve a duração de cerca de 40 minutos por cada injeção, sendo que, durante esse tempo, a coluna foi aquecida a 180 °C, aumentando cerca de 4 °C durante 25 minutos, até se atingirem os 220 °C.

Os cromatogramas obtidos fornecem a percentagem relativa de cada ácido gordo presente na amostra (% AG). Os ácidos gordos foram identificados através da comparação do tempo de retenção de cada um deles nas amostras e no padrão da Sigma-Aldrich (PUFA-3 óleo de savelha da Supelco

Analytical). A quantificação dos ácidos gordos foi efetuada em função da área do pico, da área do pico do padrão interno (P.I.) (21:0), da massa da amostra pesada e da área total dos ácidos gordos da amostra (área total - área do padrão interno). Para o cálculo da percentagem relativa dos ácidos gordos totais recorreu-se seguinte formula:

$$\% \textit{relativa sem P.I.} = \frac{\textit{Área de A.G.} \times 100}{(\textit{Área total de A.G.} - \textit{Área do P.I.})}$$

2.9. Determinação da percentagem de bioaccessibilidade dos ácidos gordos

A percentagem (%) de ácidos gordos na fração bioaccessível foi calculada da seguinte forma:

$$\% \textit{X Bioaccessível} = \frac{[\textit{X}] \textit{Bioaccessível} \times 100}{[\textit{X}] \textit{Inicial}}$$

Sendo, [X] bioaccessível = [X] na fração bioaccessível e [X] inicial= [X] na amostra de óleo antes da digestão. A quantidade de nutriente presente na solução enzimática foi retirada de [X]bioaccessível.

Após o cálculo da percentagem bioaccessível, calculou-se a bioaccessibilidade de cada ácido gordo, pois só assim é possível compreender que fração fica realmente disponível para ser absorvida pelo organismo humano. Esta taxa traduz a percentagem de ácidos gordos da fração inicial do alimento que é realmente disponibilizada para ser assimilada, após a digestão, e calcula-se pela seguinte fórmula:

$$\textit{mg/g ácido gordo bioacesível} = \frac{\textit{mg /g ác. gordo inicial} \times \% \textit{ác. gordo bioacesível}}{100}$$

2.10. Tratamento estatístico dos dados

Todos os dados foram analisados usando o software STATISTICA 6 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK74104, EUA). Uma vez verificados os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias, a ANOVA unidirecional, seguida do teste de comparação múltipla “Tukey HSD” foram os testes utilizados para determinar a existência de diferenças significativas (para uma confiança de 95 %, $p\text{-value} < 0,05$) entre os diversos parâmetros analisados nas várias amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da composição da cavala nos meses de Inverno

3.1.1. Caracterização biométrica dos exemplares de cavala

Conforme já referido, neste trabalho foram utilizados 20 exemplares de cavala, capturados em fevereiro de 2015, que foram agrupados em 4 pools, cada uma constituída por 5 exemplares, tendo como critério de separação a semelhança em peso e tamanho. Na Tabela 3.1 encontram-se os valores médios de comprimento e peso dos exemplares que constituíam cada uma dessas pools, bem como os valores médios das várias pools.

Tabela 3.1 - Características dos exemplares de cavala em estudo

Cavala	Comprimento (cm)	Peso (g)
Pool 1	32,4±0,6 ^{ab}	389±16 ^b
Pool 2	33,1±0,6 ^{bc}	399±26 ^b
Pool 3	34,2±1,0 ^c	418±12 ^b
Pool 4	31,4±0,4 ^a	321±12 ^a
Média	32,8±0,9	382±15

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro de uma coluna correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

O comprimento médio dos espécimes de cavala das diversas pools variou entre 31,4 e 34,2 cm, tendo o peso médio variado entre 321 e 418 g. Os valores expressos na Tabela 3.1 mostram que o comprimento e o peso médio dos espécimes que constituíam as pools 2 e 3 foi semelhante, tendo os exemplares que constituíam a pool 4 um comprimento médio inferior aos das pool 2 e 3 e um peso médio inferior ao das restantes pools ($p < 0,05$).

De acordo com Bandarra *et al.* (2004), a cavala apresenta um comprimento máximo de 60 cm e um mínimo de 20 cm, tendo um tamanho usual entre 15 e 30 cm. Desta forma, os exemplares em estudo apresentaram uma dimensão próxima da dimensão usual.

3.1.2. Teor lipídico da cavala

O teor de lipídios das várias pools de cavala encontra-se na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Teor em lípidos das várias pools de cavala durante o Inverno (fevereiro)

Cavala	Lípidos totais (%)
Pool 1	1,1±0,0 ^a
Pool 2	1,5±0,6 ^a
Pool 3	1,7±0,8 ^a
Pool 4	1,5±0,5 ^a
Média	1,5±0,3

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

Apesar da pool 4 se ter diferenciado das outras em termos de tamanho e peso, tendo apresentado sempre valores mais baixos, o teor em lípidos totais das várias pools não variou de forma estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Os resultados mostram que a cavala, nesta época do ano (Fevereiro) apresentou um teor de 74,9±0,0 % em humidade, 1,4±0,0 % em cinza e 1,5±0,3% em gordura.

(Bandarra *et al.*, 2004) indicam para a cavala um valor de humidade de 64,3%, de cinza de 1,4% e de gordura de 13,4%. Deste modo, pode verificar-se que a maior discrepância se verificou no teor em gordura, que apresentou uma redução de cerca de 88% e no teor em água. Conforme já referido, o teor em água e gordura variam inversamente nos peixes (Afonso, 2009), pelo que esta variação está de acordo com a literatura.

Bandarra *et al.* (2001) analisaram a composição do carapau da costa portuguesa ao longo de um ano e verificaram que o conteúdo de gordura variou entre 1,4% e 7,5%, tendo o maior teor de gordura sido registado em agosto e dezembro e o menor em fevereiro. Segundo os mesmos autores, a época de desova dessa espécie ocorre durante o primeiro semestre do ano, mostrando um pico em fevereiro, o que pode ajudar a explicar o baixo conteúdo de gordura registado neste mês. Motivo idêntico pode explicar o teor em gordura verificado na cavala nesta época do ano. Com efeito, também a cavala apresenta um período de desova entre janeiro e abril, com pico entre fevereiro e março (Vasconcelos *et al.*, 2012).

3.1.3. Identificação e quantificação das classes de lipídios na cavala

As percentagens relativas de cada uma das classes identificadas no músculo da cavala encontram-se na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Classes de lipídios presentes na cavala (%)

Cavala	Classe de lipídios (%)			
	PL	CH	TAG	FFA
Pool 1	3,2±0,1 ^a	18,4±1,1 ^a	62,6±0,9 ^b	15,7±1,6 ^a
Pool 2	4,0±0,0 ^b	21,2±1,1 ^b	56,6±2,5 ^a	18,2±1,9 ^a
Pool 3	5,5±0,2 ^c	22,1±0,6 ^b	53,6±0,3 ^a	18,8±0,7 ^a
Pool 4	6,4±0,7 ^d	22,0±0,9 ^b	54,1±1,5 ^a	17,6±1,6 ^a
Valor médio	4,8±1,3 ^A	20,9±1,5 ^B	56,7±3,6 ^C	17,6±1,2 ^B

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro de uma coluna correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Letras maiúsculas dentro da mesma linha representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Apesar de algumas diferenças verificadas entre as diversas pools, que evidenciam alguma variabilidade entre os indivíduos capturados na mesma época do ano, a classe lipídica dominante foi sempre a classe dos TAG, que representou em média 56,7% do total. A segunda classe mais expressiva correspondeu ao colesterol (20,9%), e a terceira a dos FFA (17.6%).

3.1.4 Perfil de ácidos gordos na cavala

A realização da análise cromatográfica (Anexo I) à amostra de cavala em estudo permitiu determinar as percentagens relativas em cada um dos ácidos gordos se encontra (Tabela 3.4). Esta análise permitiu ainda calcular o teor dos diferentes ácidos gordos em mg/100g de parte edível (Tabela 3.5).

Tabela 3.4 - Perfil de ácidos gordos na cavala (% de ácidos gordos totais)

Ácido gordo	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Média
14:0	2,3±0,4 ^b	1,4±0,3 ^{ab}	1,2±0,0 ^a	1,3±0,1 ^{ab}	1,6±0,5
16:0 (ácido palmítico)	17,1±2,3 ^a	15,7±2,1 ^a	14,0±0,2 ^a	16,7±1,0 ^a	15,9±1,4
18:0	8,8±0,3 ^a	9,3±0, ^{ab}	9,3±0, ^{ab}	9,9±0,1 ^b	9,3±0,5
∑ Saturados	30,9±3,1 ^a	28,9±2,8 ^a	27,0±0,2 ^a	30,9±1, ^a	29,4±1,9
16:1n9+n7	2,5±0,4 ^a	1,8±0,3 ^a	1,6±0,0 ^a	1,7±0,1 ^a	1,9±0,4
18:1n9 (ácido oleico)	15,0±1,0 ^b	17,0±0,8 ^b	12,6±0,3 ^a	13,7±0,3 ^a	14,6±1,9
20:1ω9	3,6±0,3 ^b	2,8±0,1 ^a	2,5±0,0 ^a	2,3±0,1 ^a	2,8±0,6
∑ Monoinsaturados	24,9±0,8 ^b	23,4±0,8 ^b	18,2±1,0 ^a	19,4±0,2 ^a	21,5±3,2
18:2n6 (LA)	1,5±0,3 ^a	1,5±0,0 ^a	1,3±0,1 ^a	1,5±0,1 ^a	1,5±0,1
18:3n3	0,5±0,0 ^a	0,4±0,0 ^a	0,4±0,0 ^a	0,5±0,0 ^a	0,5±0,1
20:4n6 (AA)	2,1±0,1 ^a	2,2±0,0 ^a	2,7±0,0 ^b	2,8±0,0 ^b	2,5±0,3
20:5n3 (EPA)	6,4±0,3 ^{ab}	6,3±0,1 ^a	6,9±0,0 ^{0ab}	7,0±0,1 ^b	6,6±0,4
22:6n3 (DHA)	25,4±3,5 ^a	29,3±2,9 ^a	33,9±0,1 ^a	29,3±1,6 ^a	29,5±3,5
∑ Polinsaturados	42,2±4,8 ^a	46,5±2,6 ^a	53,1±0,1 ^a	48,4±1,7 ^a	47,6±4,5
∑ Ómega-3 (n3)	36,0±3,9 ^a	39,8±3,1 ^a	45,3±0,1 ^a	40,5±1,9 ^a	40,4±3,8
∑ Ómega-6 (n6)	5,1±1,0 ^a	5,7±0,5 ^a	6,8±0,1 ^a	6,9±0,0 ^a	6,1±0,9
n3/n6	7,1±0,6 ^a	7,0±0,1 ^a	6,7±0,1 ^a	5,9±0,2 ^a	6,7±0,6

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro de uma linha correspondem a diferenças estatísticas (p < 0,05).

Tabela 3.5 – Principais ácidos gordos na cavala em mg/100g

Ácidos gordos	
∑ Saturados	308,3±52,0
14:0	16,7±7,3
16:0	166,9±32,4
18:0	96,8±9,2
∑ Monoinsaturado:	
16:1(n9+n7)	20,2±6,5
18:1(n9+n7+n5)	152,9±33,4
20:1(n9+n7)	29,4±9,6
∑ Polinsaturados	
18:2n6	15,5±2,7
18:3n3 LNA	4,7±0,8
20:4n6 AA	25,3±2,0
20:5n3 EPA	68,8±5,8
22:6n3 DHA	302,6±6,8
∑ Ómega-3 (n3)	
∑ Ómega-6 (n6)	62,7±4,3
n3/n6	6,7±0,5

Mais uma vez, apesar de algumas diferenças verificadas entre as diversas pools, que evidenciam alguma variabilidade entre os indivíduos capturados na mesma época do ano, verificou-se que para qualquer uma das pools em estudo, os ácidos gordos presentes em maiores quantidades foram os polinsaturados (PUFA), tendo, dentro destes o DHA sido o ácido mais abundante, seguido do EPA, do ácido araquidónico (AA) e do ácido linoleico (LA). O segundo grupo mais abundante foi o dos ácidos gordos saturados (SFA), sendo o ácido palmítico o que se encontra em maior quantidade, e, por último, os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), com o ácido oleico a ser o dominante.

No que diz respeito ao total de ómega-3 e ómega-6, o ómega-3 é bastante superior ao total de ómega-6. Uma alimentação com predominância de ómega-6 relativamente ao ómega-3 leva a uma maior produção de substâncias de carácter inflamatório, aumentando o risco de obesidade, diabetes, complicações metabólicas, doenças cardiovasculares, entre outras. A predominância de ómega-6 relativamente ao ómega-3 leva também a um aumento da rigidez das membranas das células, dificultando as trocas que devem ser feitas em termos de nutrientes e gases respiratórios, o que em termos gerais resulta num funcionamento alterado do organismo (Ferreira, 2017). Conforme anteriormente referido, atualmente, especialmente nos países ocidentais, a razão entre os ácidos gordos ómega-6 e ómega-3 é excessivamente elevada (Candela, López e Kohen, 2011), e muito

distante da considerada adequada (cerca de 4:1) (Simopoulos, Leaf e Salem, 1999). Desta forma, o consumo de cavala pode ajudar a equilibrar esta razão, devido ao seu elevado teor em ómega-3.

Analisando os ácidos gordos polinsaturados estudados, temos a noção que o EPA e DHA, tão importantes para a saúde e bem-estar, contribuem fortemente para a totalidade de ácidos gordos ómega-3 apurados neste estudo. Com efeito, no seu conjunto, estes dois ácidos representam cerca de 37% do total de ácidos gordos. O músculo da cavala nesta época do ano apresenta um teor em EPA+DHA de cerca de 370 mg/100g, o que constitui um valor considerável tendo em conta que a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) recomenda, para um adulto, uma dose de 250 mg/dia destes dois ácidos (EFSA, 2017).

A comparação dos resultados obtidos neste estudo com os valores fornecidos por Bandarra *et al.* (2004) as diferenças são claras. Os valores encontrados na literatura são bastante superiores aos obtidos. Segundo Bandarra *et al.* (2004) a cavala possui uma quantidade EPA e DHA de 1217,8 e 2128,1 mg/100g, respetivamente, valores bastante superiores aos 68,8 mg/100g para o EPA e 302,6 mg/100g para o DHA, obtidos neste estudo. No que diz respeito ao total de ácidos gordos ómega-3 e ómega-6, a literatura indica valores de 4135,5 e 528,3 mg/100g, tendo, no presente estudo, sido determinados teores de apenas 415,5 e 62,7 mg/100g, respetivamente.

Estas diferenças podem ser explicadas pelo teor lipídico da amostra em estudo ser mais baixo do que o reportado na literatura, o que se traduz em quantidades menores de ácidos gordos presentes na amostra, devido à altura do ano em que foi capturada. É importante referir, mais uma vez, que o teor lipídico do pescado não é constante ao longo do ano, devido à disponibilidade de alimento e ao estado de maturação da espécie, entre outros fatores.

3.1.5. Determinação da composição lípidica na fração bioacessível da cavala

Um dos objetivos deste trabalho residia na avaliação da composição lípidica da cavala após simulação *in vitro* do processo de digestão gatrointestinal, de modo a determinar os lípidos bioacessíveis. Contudo, devido ao baixo teor lipídico não foi possível obter resultados no ensaio de bioacessibilidade.

A determinação da composição da fração bioacessível num determinado nutriente é tecnicamente muito difícil de realizar com rigor quando, esse mesmo nutriente, se encontra presente nos sucos digestivos em quantidades semelhantes ou superiores às existentes na amostra (Afonso *et al.*, 2015). Desta forma, o baixo teor em lípidos da cavala nesta época do ano e o teor lipídico presente nos sucos digestivos, particularmente no suco biliar, inviabilizou a realização desta análise.

3.2. Caracterização da fração lipídica do suplemento alimentar de óleo de fígado de bacalhau

3.2.1. Identificação e quantificação das classes de lípidos e do perfil em ácidos gordos do óleo de fígado de bacalhau

Para determinar a distribuição das principais classes de lípidos no suplemento de óleo de fígado de bacalhau efetuaram-se TLC analíticas (Figura 3.1). Através da realização deste ensaio foi possível constatar que a classe de lípidos dominante na amostra inicial, antes da digestão *in vitro*, foi a dos TAG. Foi igualmente possível constatar a ausência de PL nesta amostra. O teor mais elevado em TAG era de esperar uma vez que se trata de um suplemento rico em lípidos de reserva.

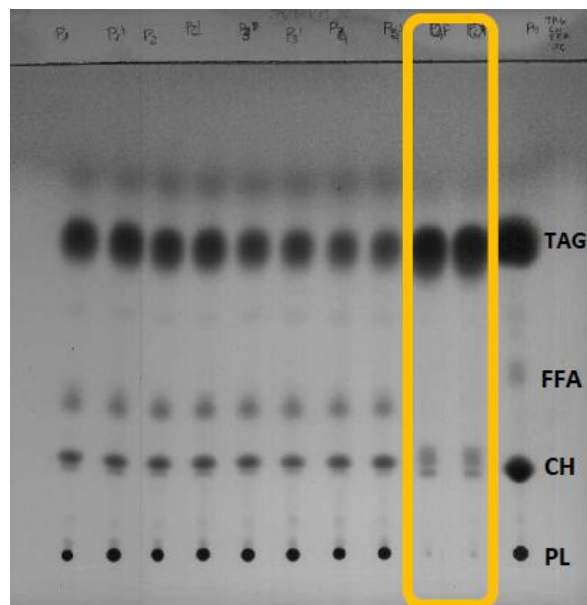


Figura 3.1 - TLC analítica da amostra de óleo de fígado de bacalhau (em realce a laranja) e dos padrões das classes de lípidos. PL corresponde à classe de lípidos fosfolípidos, CH à classe de lípidos colesterol, FFA à classe de lípidos de ácidos gordos livres e TAG à classe de lípidos triacilglicerol.

As classes lipídicas (%) identificadas no óleo de fígado de bacalhau inicial encontram-se descritas na Tabela 3.6. Tal como referido anteriormente, a classe de lípidos predominante é a classe dos TAG com uma expressão de $83,2 \pm 2,2$ %, seguida da classe CH com $16,8 \pm 2,6$ % de expressão. Esta amostra não mostrou ter sofrido nenhum tipo de hidrólise já que não se detetaram ácidos gordos livres (Figura 3.1).

Tabela 3.6 - Classe de lípidos presentes na amostra de óleo de fígado de bacalhau inicial (%).

Classe de lípidos	Óleo de fígado de bacalhau inicial (%)
TAG	83,2±2,6
CH	16,8±2,6

A realização da análise cromatográfica (Anexo II) ao óleo de fígado de bacalhau permitiu a determinação do seu perfil em ácidos gordos (Tabela 3.7).

Tabela 3.7 - Perfil de ácidos gordos na amostra inicial de óleo de fígado de bacalhau

Ácido gordo	Percentagem dos ácidos gordos totais
14:0	6,2±1,2
16:0	12,7±0,7
18:0	2,5±0,0
Σ Saturados	23,3±2,1
16:1 n7	5,9±0,4
18:1 n9	30,5±0,8
20:1 n9	2,7±0,2
22:1 n11+n9	1,9±0,1
Σ Monoinsaturados	41,3±0,8
18:2 n6	9,2±0,2
20:4 n6	0,5±0,0
18:3 n3	3,3±0,1
18:4 n3	1,5±0,1
20:4 n3	0,7±0,1
20:5 n3 (EPA)	7,1±0,5
22:5 n3	1,2±0,1
22:6 n3 (DHA)	6,0±0,4
Σ Polinsaturados	34,5±1,3
Σ Ómega 3	21,7±1,1
Σ Ómega 6	10,7±0,3
n3/n6	2,0±0,0

No caso do suplemento alimentar, os ácidos gordos em maiores quantidades foram os MUFA com 41,3±0,8 %, sendo o ácido oleico o que se encontra presente em maior quantidade. Seguiram-se os PUFA (34,5±1,3), destacando-se, dentro destes, os ácidos linoleico (9,2±0,2), EPA (7,1±0,5) e DHA (6,0±0,4). Com uma percentagem de 23,2±2,1 os ácidos gordos saturados foram os que se

encontraram em menor quantidade no óleo de fígado de bacalhau, com o ácido palmítico a ser o mais dominante. Dentro dos PUFA os ómega-3 encontram-se em maior quantidade que os ómega-6, tendo-se uma razão ómega-3/ómega-6 de $2,0 \pm 0,0$.

Quando comparado com a cavala, óleo de fígado de bacalhau apresentou um teor bastante superior de ácidos gordos ómega-6, devido essencialmente ao elevado teor de ácido linoleico. Devido a este facto, a razão n3/n6 foi bastante inferior no óleo de fígado de bacalhau (2) do que na cavala (≈ 7).

A composição em ácidos gordos do óleo de fígado de bacalhau analisado diferiu, em alguns aspetos, da de outros óleos de fígado de bacalhau, especialmente na presença de uma parcela substancial de ácido linoleico que foi a causa de uma baixa razão n3/n6. No entanto, sua riqueza em ácido oleico e n-3 PUFA foi comparável aos valores relatados na literatura (Lei *et al.*, 2016).

3.2.2. Análise da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau

3.2.2.1. Identificação das principais classes de lípidos nas frações bioacessíveis

A percentagem total de lípidos na fração bioacessível, provenientes da digestão *in vitro* das diferentes quantidades de óleo de fígado de bacalhau, encontra-se na Tabela 3.8. O total de lípidos nas diversas frações bioacessíveis variou entre 85,1 e 92,8 %, não se tendo, no entanto, verificado diferenças significativas ($p > 0,05$).

Tabela 3.8 - Teor de lípidos totais na fração bioacessível (%)

Quantidade testada	Teor em lípidos
82 mg	85,1 \pm 2,6 ^a
154 mg	88,1 \pm 5,1 ^a
313 mg	86,6 \pm 0,4 ^a
604 mg	88,5 \pm 0,3 ^a
1027 mg	92,8 \pm 3,8 ^a

Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

A Figura 3.2 mostra a distribuição das várias classes de lípidos nas diferentes frações bioacessíveis do óleo de fígado de bacalhau. Os resultados mostram que, para todas as quantidades de óleo testadas, a classe lipídica dominante na amostra digerida foi a dos FFA, seguida da classe CH. A fração TAG predominante na amostra original apenas surge nas frações digeridas onde se utilizou maior quantidade de óleo (313, 604 e 1027 mg). Contrariamente ao verificado com a amostra de óleo

de fígado de bacalhau não digerida (amostra inicial), nas amostras digeridas foi possível detetar a presença de uma fração de fosfolípidos, contudo esta fração é proveniente do branco, ou seja, os fosfolípidos deteados são provenientes dos sucos digestivos.

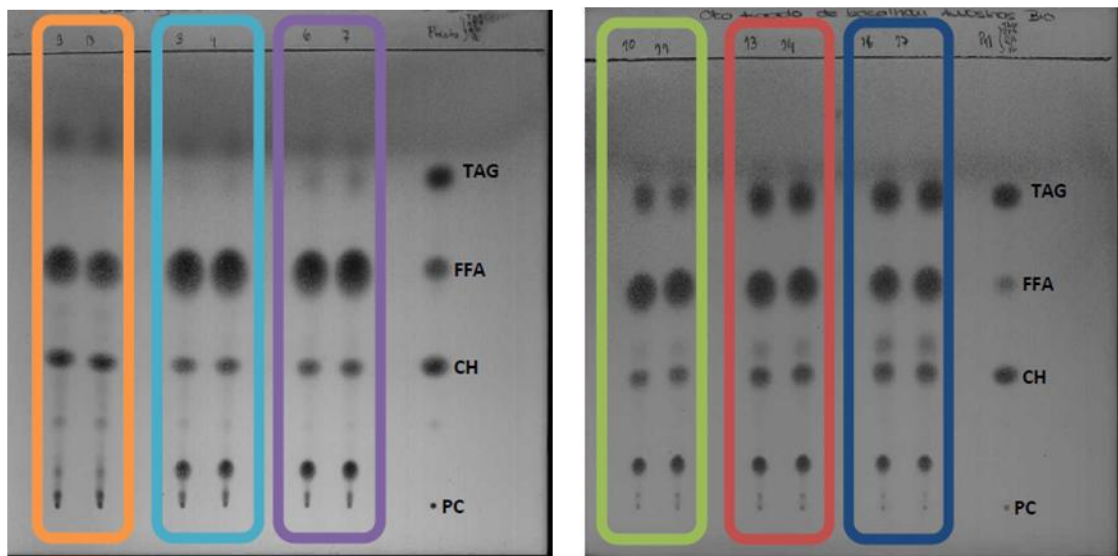


Figura 3.2 - TLC analítica da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau e dos padrões das classes de lípidos. PL corresponde à classe dos fosfolípidos, CH à classe de lípidos colesterol, FFA à classe de lípidos de ácidos gordos livres e TAG à classe de lípidos triacilglicerol). As linhas com realce em laranja correspondem ao branco do ensaio, em azul à fração de 82 mg, em lilás à fração de 154 mg, em verde à fração de 313 mg, em vermelho à fração de 604 e em azul-escuro à fração de 1 027 mg.

Na Tabela 3.9 são apresentadas as percentagens relativas das classes de lípidos presentes nas frações bioacessíveis provenientes das digestões *in vitro* realizadas com as diferentes quantidades de óleo de fígado de bacalhau.

Tabela 3.9 - Classe de lípidos presentes nas frações bioacessíveis de óleo de fígado de bacalhau.

Fração bioacessível	Classe de lípidos (%)					
	PL	MAG	CH	DAG 1,3	FFA	TAG
82 mg	0,0±0,0 ^a	13,1±1,9 ^b	13,6±1,1 ^a	0,0±0,0 ^a	73,3±0,8 ^b	0,0±0,0 ^a
154 mg	0,0±0,0 ^a	15,4±0,9 ^b	14,2±0,2 ^a	0,0±0,0 ^a	70,4±1,2 ^b	0,0±0,0 ^a
313 mg	0,1±0,0 ^a	12,3±2,2 ^{ab}	13,6±4,2 ^a	4,8±0,1 ^b	46,6±5,1 ^a	22,6±1,4 ^b
604 mg	0,1±0,1 ^a	10,2±0,7 ^{ab}	14,9±1,3 ^a	7,7±0,6 ^c	40,8±2,7 ^a	26,5±2,6 ^b
1 027 mg	0,6±0,1 ^b	7,0±0,5 ^a	12,7±3,7 ^a	11,2±1,1 ^d	36,8±4,1 ^a	31,9±0,1 ^c

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro de uma coluna correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

Os resultados mostram a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre as frações bioacessíveis obtidas com 82 mg e 154 mg de óleo de fígado de bacalhau, ou seja, entre as frações resultantes da digestão das menores quantidades de óleo. Nestas duas frações não foi possível detetar a presença de TAG. Com efeito, a classe dos TAG só foi observada quando se utilizaram as quantidades de 313, 604 e 1027 mg, sendo a percentagem desta classe de lípidos na fração bioacessível mais elevada quando a digestão foi realizada com a quantidade máxima de óleo estudada (1027 mg). Resultados inversos foram obtidos com a classe dos FFA. Neste caso, foram as frações correspondentes às menores quantidades de óleo que apresentaram percentagens mais elevadas. Assim, a proporção de FFA nas frações bioacessíveis baixou claramente de 70-73%, para quantidades de óleo até 154 mg, para 37-47% para quantidades de óleo iguais ou superiores a 313 mg.

Houve também uma diminuição da percentagem de MAG e um aumento da percentagem de DAG com o aumento da quantidade de óleo testada, detetando-se apenas a presença de DAG quando a quantidade de óleo digerida foi igual ou superior a 313 mg. Mesmo no caso de PL, houve um ligeiro aumento da percentagem quando o sistema modelo foi alimentado com a maior carga de óleo. Neste caso, e tal como já anteriormente referido, tendo em conta que não se encontram na matriz inicial e verificando-se a sua presença no branco do bioacessível, poderá dizer-se que são provenientes das soluções que simulam os sucos digestivos.

O processo digestivo leva à ocorrência da hidrólise dos TAG em MAG e em FFA, assim como à hidrólise dos ésteres de colesterol em CH e FFA (Fernández-García *et al.*, 2009; Afonso *et al.*, 2015). Tendo em conta a taxa de hidrólise para as diferentes classes lipídicas, pode afirmar-se que o modelo digestivo aplicado foi eficiente para as quantidades de 82 e 154 mg de óleo de fígado de bacalhau, onde se verificou a hidrólise completa dos TAG. Para quantidades de 313 a 1027 mg de óleo de fígado de bacalhau a hidrólise não foi total, levando à formação de alguns ácidos gordos livres, mas contendo ainda uma percentagem superior a 20% de TAG. Conclui-se assim que para qualquer amostra com 300 mg ou mais de gordura pode ser necessária a otimização das quantidades de enzimas utilizadas durante as três fases do processo, de modo a que essas enzimas sejam

suficientes para a hidrólise total da amostra em estudo. Em particular, essa otimização deve passar pela utilização de níveis mais elevados da enzima lipase.

Outro fator que poderá ser também otimizado é o tempo de digestão. Segundo os resultados apresentados por (Schram *et al.*, 2007), o facto do óleo de peixe não fazer parte de uma matriz alimentar, poderá tornar o seu processo de digestão mais lento. Estes autores concluíram que o processo digestivo dos óleos de peixe só era significativo ao fim de pelo menos 4 horas de digestão, mas que apenas ao fim de 6 horas ocorreria a maior bioacessibilidade dos seus ácidos gordos.

3.2.2.2. Perfil de ácidos gordos das diferentes frações bioacessíveis

A realização da análise cromatográfica (Anexo III) às frações bioacessíveis resultantes da digestão *in vitro* das diferentes quantidades de suplemento de óleo de fígado de bacalhau permitiu determinar o seu perfil em ácidos gordos (Tabela 3.10).

Tabela 3.10 - Perfil de ácidos gordos (% ácidos gordos totais) das frações bioacessíveis

Ácido Gordo	Ácidos gordos na fração bioacessível				
	82 mg	154 mg	313 mg	604 mg	1 027 mg
14:0	3,1±0,4 ^{aB}	4,9±0,1 ^{bA}	4,0±0,3 ^{abA}	4,9±0,4 ^{bA}	5,0±0,7 ^{bA}
16:0	11,2±1,1 ^{aA}	11,2±0,3 ^{aA}	9,3±0,4 ^{aA}	11,5±0,3 ^{aA}	11,5±0,9 ^{aA}
18:0	3,7±0,2 ^{bA}	2,5±0,1 ^{aA}	2,1±0,3 ^{aA}	2,4±0,0 ^{aA}	2,6±0,0 ^{aA}
Σ Saturados	19,2±1,7 ^{aA}	19,7±0,4 ^{aA}	16,5±0,4 ^{abB}	20,0±0,6 ^{aA}	20,4±1,7 ^{aA}
16:1 n7	4,7±0,4 ^{aA}	6,0±0,0 ^{abA}	5,5±0,5 ^{abA}	6,0±0,1 ^{bA}	5,6±0,4 ^{abA}
18:1 n9	34,0±0,1 ^{abB}	34,0±0,6 ^{abB}	34,5±0,4 ^{abB}	35,0±0,3 ^{abB}	33,3±0,1 ^{abB}
20:1 n9	3,0±0,1 ^{aA}	2,8±0,0 ^{aA}	3,2±0,3 ^{aA}	2,9±0,0 ^{aA}	3,2±0,2 ^{aA}
22:1 n11+n9	2,4±0,3 ^{aA}	1,9±0,1 ^{aA}	2,3±0,3 ^{aA}	2,0±0,1 ^{aA}	2,3±0,1 ^{aA}
Σ Monoinsaturados	44,5±1,0 ^{abB}	45,0±0,5 ^{abB}	45,8±0,6 ^{abB}	46,2±0,2 ^{abB}	44,7±0,1 ^{abB}
18:2 n6	12,0±0,5 ^{cbB}	11,2±0,1 ^{bcB}	10,7±0,4 ^{abB}	10,1±0,2 ^{abA}	9,6±0,1 ^{aA}
20:4 n6	1,7±0,2 ^{cbB}	1,1±0,0 ^{bbB}	0,9±0,0 ^{abB}	0,7±0,0 ^{aA}	0,6±0,0 ^{aA}
18:3 n3	2,7±0,2 ^{abB}	3,0±0,0 ^{aA}	3,2±0,2 ^{aA}	3,1±0,1 ^{aA}	3,1±0,0 ^{aA}
18:4 n3	1,1±0,1 ^{abB}	1,2±0,0 ^{aA}	1,3±0,2 ^{aA}	1,3±0,1 ^{aA}	1,2±0,1 ^{aA}
20:4 n3	0,6±0,0 ^{aA}	1,1±0,0 ^{aA}	0,7±0,0 ^{aA}	0,6±0,0 ^{aA}	0,7±0,0 ^{aA}
20:5 n3	5,5±0,6 ^{abB}	5,7±0,3 ^{aA}	6,8±0,3 ^{aA}	5,8±0,1 ^{aA}	6,4±0,5 ^{aA}
22:5 n3	1,2±0,1 ^{aA}	1,2±0,1 ^{aA}	1,4±0,1 ^{aA}	1,0±0,1 ^{aA}	1,3±0,1 ^{aA}
22:6 n3	6,2±0,3 ^{aA}	5,6±0,4 ^{aA}	6,8±0,3 ^{aA}	5,5±0,1 ^{aA}	6,5±0,6 ^{aA}
Σ Polinsaturados	35,1±2,3 ^{aA}	34,1±0,9 ^{aA}	36,4±0,9 ^{aA}	32,4±0,4 ^{aA}	33,5±1,4 ^{aA}
Σ Ómega 3 (n3)	18,7±1,6 ^{aA}	18,9±0,9 ^{aA}	21,8±0,4 ^{aA}	18,8±0,2 ^{aA}	20,5±1,3 ^{aA}
Σ Ómega 6 (n6)	14,8±0,7 ^{cbB}	13,3±0,1 ^{bcB}	12,7±0,3 ^{abB}	11,8±0,2 ^{abA}	11,3±0,2 ^{aA}
n3/n6	1,3±0,0 ^{abB}	1,4±0,1 ^{abB}	1,7±0,0 ^{cdB}	1,6±0,0 ^{bcB}	1,8±0,1 ^{dA}

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro de uma linha correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes significam diferenças estatísticas antes (resultados apresentados na Tabela 3.7) e após a digestão ($p < 0,05$)

Apesar de se verificarem algumas variações, os perfis de ácidos gordos bioacessíveis dos ensaios com as diferentes quantidades de óleo de fígado de bacalhau foram, no geral, muito semelhantes. A única tendência clara foi observada foi uma diminuição das percentagens de ácido linoleico (18:2 n6) e araquidónico (20:4 n6) à medida que se foi aumentando a quantidade de óleo no modelo *in vitro*. Esta diminuição refletiu-se consequentemente na percentagem de n6-PUFA.

Em comparação com o perfil de ácidos gordos do suplemento antes da digestão (Tabela 3.7), os teores totais de MUFA e de ácido oleico foram superiores em todas as cinco frações bioacessíveis. Para quantidades de suplemento até 313 mg, houve também um aumento de n6-PUFA e dos ácidos linoleico e araquidónico na fração bioacessível, causando assim uma diminuição da relação n3/n6.

A maior percentagem destes ácidos nas frações bioacessíveis foi verificada em estudos anteriores realizados com o linguado, onde se encontrou um aumento sistemático das concentrações de n6-PUFA e ácido linoleico nas frações bioacessíveis (Afonso *et al.*, 2017).

O enriquecimento que se verificou em n6-PUFA e em ácido linoleico e araquidónico sugere que estes tenham uma bioacessibilidade superior à bioacessibilidade média dos outros ácidos gordos. No entanto, esta vantagem relativa parece desaparecer quando a lipólise se torna incompleta, uma vez que o enriquecimento nestes ácidos gordos não se verificou nas frações bioacessíveis resultantes da digestão das quantidades mais elevadas de óleo (604 e 1027 mg). Variáveis como a cinética da lipólise (Giang *et al.*, 2016), a solubilização das micelas mistas (Freeman, 1969), e as propriedades de emulsão (Zhang *et al.*, 2015) podem contribuir para determinar, por exemplo, uma maior bioacessibilidade do ácido linoleico do que o de outros ácidos gordos.

3.2.2.3. Percentagem de bioacessibilidade de ácidos gordos nas frações bioacessíveis

A percentagem de bioacessibilidade de ácidos gordos, determinada após a digestão das diferentes quantidades do suplemento de óleo de fígado de bacalhau em estudo encontra-se na Tabela 3.11.

Tabela 3.11 - Percentagem de ácidos gordos presente nas frações bioacessíveis do óleo de fígado de bacalhau.

Ácido Gordo	Bioacessibilidade (%)				
	82 mg	154 mg	313 mg	604 mg	1027 mg
Lípidos totais	85±3 ^A	88±5 ^A	93±1 ^A	92±0 ^A	93±4 ^A
14:0	51±7 ^{aA}	72±2 ^{abA}	59±8 ^{abcA}	68±6 ^{abA}	71±16 ^{aA}
16:0 (ácido palmítico)	56±12 ^{abA}	63±6 ^{aA}	57±1 ^{abA}	71±3 ^{aA}	75±13 ^{aA}
Σ Saturados	55±10 ^{abA}	62±5 ^{aA}	56±2 ^{aA}	69±4 ^{aA}	73±13 ^{aA}
18:1n9 (ácido oleico)	93±3 ^{CA}	91±6 ^{CA}	95±5 ^{dA}	93±1 ^{dA}	91±7 ^{aA}
Σ Monoinsaturados	93±5 ^{CA}	91±6 ^{CA}	94±5 ^{dA}	91±1 ^{cdA}	91±8 ^{aA}
18:2n6 (ácido linoleico)	75±0 ^{abcA}	81±6 ^{bcA}	89±10 ^{dA}	84±0 ^{bcA}	84±7 ^{aA}
18:3n3	79±5 ^{bcA}	80±4 ^{bcA}	85±12 ^{bcdA}	76±1 ^{abA}	77±6 ^{aA}
20:5n3 (EPA)	76±7 ^{bcA}	72±0 ^{abA}	84±9 ^{abcdA}	68±0 ^{aA}	75±1 ^{aA}
22:6n3 (DHA)	98±3 ^{CD}	82±2 ^{bcAB}	98±2 ^{dD}	75±2 ^{abA}	91±0 ^{abc}
Σ Polinsaturados	79±4 ^{bcA}	78±2 ^{abcA}	88±8 ^{cdA}	75±0 ^{abA}	81±4 ^{aA}
Σ Ómega-3 (n3)	82±5 ^{CA}	77±0 ^{abcA}	88±7 ^{dA}	71±0 ^{aA}	80±2 ^{aA}
Σ Ómega-6 (n6)	75±0 ^{abcA}	79±6 ^{abcA}	89±9 ^{dA}	83±0 ^{bcA}	84±6 ^{aA}

Para cada amostra, diferentes letras minúsculas dentro de uma coluna correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre ácidos gordos. Para o conteúdo lipídico e para cada ácido gordo, letras maiúsculas diferentes em cada linha correspondem a diferenças estatísticas entre as amostras ($p < 0,05$).

Embora a lipólise tenha sido reduzida com quantidades crescentes de suplemento de óleo, nenhum efeito prejudicial foi detectado na bioacessibilidade de lípidos totais ou dos ácidos gordos particulares, já que não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre a percentagem de bioacessibilidade dos lípidos totais nem de cada ácido gordo nas diferentes frações, a exceção do ácido gordo DHA.

Com exceção da fração correspondente à digestão da quantidade de óleo mais elevada (1 027 mg), em que não se verificaram diferenças estatísticas entre as percentagens de bioacessibilidade dos diversos ácidos gordos, todas as restantes percentagens de bioacessibilidade foram variáveis. Quando o modelo foi alimentado com quantidades de óleo entre 82 e 604 mg, a bioacessibilidade dos SFA foi sempre menor que a dos MUFA, o que é concordante com o enriquecimento relativo de MUFA na fração bioacessível destas amostras.

Os PUFA apresentaram geralmente uma percentagem de bioacessibilidade entre a dos SFA e dos MUFA. A bioacessibilidade do EPA e do DHA foi tipicamente inferior à do ácido oleico e dos MUFA.

A relação entre a bioacessibilidade dos SFA, MUFA e PUFA foi diferente da relatada para salmão (Costa *et al.*, 2015), linguado (Afonso *et al.*, 2017) e dourada (Costa *et al.*, 2016). No entanto, foi

possível encontrar algumas semelhanças com a literatura consultada. Assim, Afonso *et al.* (2017) e Costa *et al.* (2016), também atribuem principalmente aos MUFA os maiores valores de bioacessibilidade. Costa *et al.* (2016), num estudo efetuado com dourada, também relatou para o EPA e DHA uma bioacessibilidade à inferior dos MUFA.

A diferença na bioacessibilidade destes ácidos pode resultar de diferenças na capacidade da lipase para os hidrolizar. As lipases têm uma menor capacidade de hidrolisar ácidos gordos mais insaturados, associado ainda a um maior impedimento estereoquímico, que resulta numa menor bioacessibilidade (Giang *et al.*, 2016). Trabalhos recentes sobre a lipase referem que esta hidrolisa preferencialmente ácidos gordos cuja ligação dupla seja mais distante da ligação éster (Akanbi, Sinclair e Barrow, 2014). Precisamente os ácidos gordos menos insaturados possuem uma ligação dupla distante da ligação éster. No entanto a ação da lipase pode não ser suficiente para explicar as diferenças de bioacessibilidade. A maior polaridade dos PUFA, também pode explicar a menor bioacessibilidade desses ácidos gordos altamente insaturados. Os problemas de afinidade química podem também estar relacionados com dificuldades de emulsão. De facto, também foi relatado que a absorção de EPA e DHA é especialmente aumentada pela pré-emulsificação (Garaiova *et al.*, 2007) e é favorecida pela utilização de emulsões gelatinosas em vez dos tradicionais suplementos de óleo (Haug *et al.*, 2011).

Apesar dos MUFA terem apresentado uma bioacessibilidade superior aos PUFA, destes últimos, o ácido gordo mais bioacessível foi o DHA, com uma bioacessibilidade de 98% e 82% para as quantidades de 84 e 154 mg, respetivamente, o que é uma ótima informação para o consumidor.

A determinação do teor dos diferentes ácidos gordos em mg/100g no suplemento de óleo de fígado de bacalhau e nas frações bioacessíveis onde a lipólise foi completa (82 e 154 mg) encontra-se na Tabela 3.12.

Tabela 3.12 - Comparação do teor de ácidos gordos (expresso em mg/g) antes (inicial) e após digestão (bioacessível)

Ácidos gordos	Inicial	82 mg	154 mg
14:0	57±11 ^c	29±4 ^a	42±1 ^b
16:0	118 ±7 ^b	66±14 ^a	74±7 ^a
18:0	23±0 ^c	15±3 ^b	11±2 ^a
16:1ω9+ω7	55±4 ^b	50±2 ^b	44±4 ^a
18:1n9	284±7 ^b	264±10 ^{ab}	258±18 ^a
20:1n9	26±2 ^{ab}	28±11 ^b	23±1 ^a
18:2n6	86±2 ^b	64±0 ^a	69±5 ^a
18:3n3	31±1 ^b	25±2 ^a	25±1 ^a
20:5n3 (EPA)	66±5 ^b	50±4 ^a	48±0 ^a
22:6n3 (DHA)	56±3 ^b	55±2 ^b	46±1 ^a
Σ Saturados	216±20 ^b	119±23 ^a	134±11 ^a
Σ Monoinsaturados	385±15 ^b	360±20 ^{ab}	349±21 ^a
Σ Polinsaturados	322±15 ^b	251±11 ^a	245±6 ^a
Σ Ómega-3 (n3)	203±12 ^b	167±11 ^a	155±0 ^a
Σ Ómega-6 (n6)	100±3 ^b	75±0 ^a	79±6 ^a
n3/n6	2±0 ^{ab}	2±0 ^b	2±0 ^a

Letras minusculas diferentes dentro da mesma linha correspondem a diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre o teor de cada ácido gordo nas diferentes amostras

Analisando a Tabela 3.12, podemos ver que, na sua maioria, a quantidade de ácidos gordos que fica disponível para ser assimilada pelo organismo é menor do que aquela que o suplemento contém inicialmente.

Quando se digeriram quantidades inferiores a 313 mg de óleo de fígado de bacalhau, quantidades que pareceram mais adequadas ao modelo experimental utilizado, obtiveram-se teores de EPA e DHA bioacessíveis de cerca de 100 mg/g.

Tendo em conta este valor, a administração de uma única dose de 1,027 g/dia, segundo o nosso modelo digestivo, não parece, por si só, ser suficiente para fornecer a quantidade recomendada destes dois ácidos (250 mg/dia, EFSA, 2017). Recomenda-se assim a divisão da dose em três partes iguais ao longo do dia.

4. CONCLUSÕES

Com a informação cada vez mais disponível, e com a crescente preocupação com a saúde, o consumidor procura cada vez mais o consumo de pescado rico em ácidos gordos ómega-3. Torna-se então importante conhecer e divulgar o perfil em ácidos gordos dum grande número de espécies ricas em ácidos gordos ómega-3, de modo a diversificar o consumo de recursos marinhos. Com a informação do valor nutricional correta o consumidor conseguirá comparar diferentes espécies e adaptar a sua alimentação de modo a incluir outras espécies. Por outro lado, dado ser conhecida a variação sazonal do teor em gordura do pescado, torna-se necessário realizar esta análise em diferentes épocas, em particular naquelas em que o produto apresenta uma menor procura. Tão importante como saber a composição lipídica do pescado é conhecer a fração dos ácidos gordos essenciais, presentes nestas matrizes, que é libertada no decurso da digestão gastrointestinal e que, desta forma, pode realmente ser absorvida pelo organismo.

Os resultados obtidos permitiram verificar que durante os meses de Inverno a cavala apresenta um reduzido teor em gordura (cerca de 1,5%). Os ácidos gordos presentes em maior quantidade foram os polinsaturados (PUFA), especialmente os ómega-3. O músculo da cavala nesta época do ano apresentou um teor em EPA+DHA de cerca de 340 mg/100g. Este valor, apesar de ser muito inferior ao descrito para a cavala nos meses em que esta apresenta um teor em gordura mais elevado, constitui, mesmo assim, um valor considerável tendo em conta que a EFSA recomenda, para um adulto, uma dose de 250 mg/dia destes dois ácidos. Deste modo, a cavala, mesmo numa altura do ano em que se apresenta mais magra, continua a ser um alimento interessante do ponto de vista nutricional, por constituir uma boa fonte de EPA e DHA, e um elevado teor em ómega-3, que pode ajudar a equilibrar a razão n3/n6.

A análise realizada com o óleo de fígado de bacalhau permitiu concluir que os perfis de ácidos gordos bioacessíveis tinham semelhanças com os perfis iniciais de ácidos gordos. De um modo geral, a bioacessibilidade dos SFA foi sempre menor que a dos MUFA, e os PUFA apresentaram, geralmente, uma percentagem de bioacessibilidade entre a dos SFA e dos MUFA. Dentro dos PUFA, o ácido gordo mais bioacessível foi o DHA. Este resultado é particularmente importante dada a relevância nutricional deste ácido gordo. Relevante foi igualmente a elevada bioacessibilidade dos ácidos gordos ómega-3, uma vez que aumentar os níveis dietéticos destes ácidos pode constituir um dos motivos para a administração deste suplemento. Os resultados obtidos nos ensaios de bioacessibilidade sugerem que para se atingir a dose diária recomendada de EPA e DHA (250 mg/dia, EFSA, 2017) seja necessário tomar cerca de 2,5 g do suplemento, repartido em várias doses ao longo do dia.

A realização deste trabalho permitiu ainda verificar que o modelo utilizado parece não ser adequado para amostras com teores de gordura muito elevados. Assim, para qualquer amostra com 300 mg ou mais de gordura, pode ser necessária a otimização do tempo da análise ou das quantidades de

enzimas utilizadas, particularmente de lípase, de modo a ser possível a hidrólise total da amostra em estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afonso, C. I. M. A. (2009). Produtos da pesca capturados na costa Portuguesa: Benefícios e perigos associados ao seu consumo. Dissertação de Doutoramento em Farmácia. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, 243p.
- Afonso, C., Costa, C., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Batista, I., Coelho, I., Castanheira, I., & Nunes, L. M. (2015). Evaluation of the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked farmed meagre based on the bioaccessibility of selenium, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, total mercury, and methylmercury determined by an *in vitro* digestion model. *Food Chemistry*, 170, 249–256.
- Afonso, C., Cardoso, C., Freire, M., Silva, I. E., Linares, F., Villanueva, J. L. R., Valente, L. M. P., & Bandarra, N.M. (2017). The impact of alternative dietary lipids on the *in vitro* bioaccessibility of sole fillets for human consumption. *Aquaculture*, 474, 66–74.
- Akanbi, T. O., Sinclair, A. J., & Barrow, C. J. (2014). Pancreatic lipase selectively hydrolyses DPA over EPA and DHA due to location of double bonds in the fatty acid rather than regioselectivity. *Food Chemistry*, 160, 61–66.
- Almeida, M.D.V., Afonso, C.I.P.N. (1997). Princípios Básicos de Alimentação e Nutrição. Universidade Aberta, 268p., ISBN: 9789726742159.
- Alves, F. (2013). Bioacessibilidade de ácidos gordos ómega-3 dourada *versus* suplementos alimentares. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, 95p.
- Bae, J. H., & Lim, S. Y. (2012). Effect of season on heavy metal contents and chemical compositions of Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) muscle. *Journal of Food Science*, 77(2), 52–57.
- Bae, J. H., & Lim, S. Y. (2013). Comparative study of the concentration of mercury and lead and the chemical characteristics of Japanese and Korean chub mackerel (*Scomber japonicas* Houttuyn, 1782) in the East China Sea. *African Journal of Agricultural Research*, 8(3), 269–273.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., Empis, J. M., & Christie, W. W. (1997). Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science*, 62(1), 40–42.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., & Empis, J. M. (2001). Seasonal variation in the chemical composition of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology*, 212(5), 535–539.

- Bandarra, N. M., Calhau, M. A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M., Bartolo, H., Faria, M. R., Fonseca, M. C., Gonçalves, J., Batista, I., & Nunes, M. L. (2004). Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal. IPIMAR, Lisboa, Portugal, 103p.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2004). Food Chemistry. Springer-Verlag, Berlim, Alemanha, 989p. ISBN:9783540699330.
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37(21), 911–917.
- Cabañero, A. I., Madrid, Y., & Cámara, C. (2004). Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: An *in vitro* digestion method. Analytica Chimica Acta, 526(1), 51–61.
- Calvano, C. D., Zambonin, C. G., Foti, C., Cassamo, N., & Vena, G. A. (2008). A matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry investigation to assess the composition of cod liver oil based products which displayed a different *in vivo* allergenic power. Food and Chemical Toxicology, 46(12), 3580–3585.
- Campos, L. (2008) Entender a Bioquímica. Escolar Editora, Forte da Casa, Portugal, 684p. ISBN:9789725922316..
- Candela, G. C., López, B. L. M. & Kohen, L. V. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. Nutricion Hospitalaria, 26(2), 323–329.
- Castro-González, M. I., & Méndez-Armenta, M. (2008). Heavy metals: Implications associated to fish consumption. Environmental Toxicology and Pharmacology, 26 (3), 263-271.
- Castro-Hernández, J. J., & Santana Ortega, A. T. (2000). Synopsis of biological data on the chub marckerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782). FAO Fishery Synopsis, (157), 1–77.
- Christie, W. W. (1989) Gas chromatography and lipids: A practical guide. Oily Press, Universidade de Michigan, EUA, 307p.
- Cod liver oil vs fish oil (2019) Thera health vibrant living. Disponível em: <https://therahealth.com.au/cod-liver-oil-vs-fish-oil/> (Acedido: 24 de Janeiro de 2019).
- Costa, S., Afonso, C., Cardoso, C., Batista, I., Chaveiro, N., Nunes, M. L., & Bandarra, N. M. (2015). Fatty acids, mercury, and methylmercury bioaccessibility in salmon (*Salmo salar*) using an in vitro model: Effect of culinary treatment. Food Chemistry, 185, 268–276.
- Costa, S., Afonso, C., Cardoso, C., Oliveira, R., Alves, F., Nunes, M., & Bandarra, N. (2016). Towards a deeper understanding of fatty acid bioaccessibility and its dependence on culinary treatment and

lipid class: A case study of gilthead seabream (*Sparus aurata*). British Journal of Nutrition, 116(10) 1816-1823.

De Silva, S. S. & Anderson, T. A. (1995). Fish nutrition in aquaculture. Chapman & Hall, Londres, Reino Unido, 320p. ISBN: 9780412550300.

DGRM (2019) Artes de pesca. Disponível em: <https://www.dgrm.mm.gov.pt/web/guest/artes-de-pesca> (Acedido: 16 de Janeiro de 2019).

Doca Pesca (2011) Sector da pesca em Portugal. Disponível em: <https://sites.google.com/site/docapescacreative/sector-da-pesca-em-portugal> (Acedido: 25 de Outubro de 2018).

Duarte, D. R. S. (2010). Alimentos funcionais com microalgas: nova fonte de pigmentos, antioxidantes e ácidos gordos ómega-3. Dissertação de Mestrado em Biologia Humana e Ambiente. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 101p.

EFSA (2017). Overview on Dietary Reference Values for the EU population as derived by the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Summary of Dietary Reference Values – version 4 (September 2017). Disponível em https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/DRV_Summary_tables_jan_17.pdf. (Acedido: Março de 2018)

FAO (2010) Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. Food and nutrition paper 91. Roma, Itália, 189p.

FAO (2016) El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, Itália, 224p.

FAO (2019). The state of world fisheries and aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Roma, Itália, 227p. ISBN 9789251305621

FAO (2019) Food supply - Livestock and fish primary equivalent. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/CL> (Acedido: 24 de Janeiro de 2019).

Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. Nutrition Research, 29(11), 751–760.

Ferreira, J. (2017) O que deve saber sobre o ómeegas 3 e 6, Fundação Portuguesa de Cardiologia. Disponível em: <http://www.fpcardiologia.pt/omegas-3-e-6/> (Acedido: 24 de Janeiro de 2019).

Freeman, C. P. 1969. Properties of fatty acids in dispersions of emulsified lipid and bile salt and the significance of these properties in fat absorption in the pig and sheep. The British Journal of Nutrition, 23(2), 249-263.

Freire, M. S. (2015) Variação sazonal do perfil lipídico da corvina produzida em aquacultura. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 86p.

Fréon, P., Cury, P., Shannon L., & Roy C. (2005). Sustainable exploitation of small pelagic fish stocks challenged by environmental and ecosystem changes: A review. *Bulletin of Marine Science*, 76(2), 385–462.

Garaiova, I., Guschina, I. A., Plummer, S. F., Tang, J., Wang, D., & Plummer, N. T. (2007). A randomised cross-over trial in healthy adults indicating improved absorption of omega-3 fatty acids by pre-emulsification. *Nutrition Journal*, 6, 1–9.

Giang, T. M., Gaucel, S., Brestaz, P., Anton, M., Meynier, A., Treleac, I. C., & Le - Feunteun, S. (2016). Dynamic modeling of *in vitro* lipid digestion: Individual fatty acid release and bioaccessibility kinetics. *Food Chemistry*, 194, 1180–1188.

Gonçalves, J. M. S., Bentes, L., Rangel, M., Oliveira, F., Monteiro, P., Henriques, N. S., Sousa, I., Afonso, C., & Erzini, K. (2015) Valorização de recursos pesqueiros: Cavala algarvia. CCMAR, Universidade do Algarve, Faro, 105p.

Grundy, M. M. L., Edwards, C. H., Mackie, A. R., Gidley, M. J., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. *British Journal of Nutrition*, 116(5), 816-833.

Haug, I. J., Sagmo, L. B., Zeiss, D., Olsen, I. C., Draget, K. I., & Seternes, T. (2011). Bioavailability of EPA and DHA delivered by gelled emulsions and soft gel capsules. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(2), 137–145.

Hornero-Méndez, D., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2007). Bioaccessibility of carotenes from carrots: Effect of cooking and addition of oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(3), 407–412.

Huang, W.-B., Fan, Q., & Zhang, X.-L. (2011). Cod liver oil: a potential protective supplement for human glaucoma. *International Journal of Ophthalmology*, 4(6), 648–651.

Huss, H. H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348. Roma, Itália, 195p. ISBN 9251035075

INE (2017). Estatísticas da pesca 2016. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=277044096&PUBLICACOESmodo=2. (Acedido:16 de Janeiro).

INE (2018). Estatísticas da Pesca 2017. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=331311444&PUBLICACOESmodo=2&xlang=pt. (Acedido: 16 de Janeiro).

Keefe, S. F. O., & Ackman, R. G. (1986). Vitamins A, D3 and E in Nova Scotian cod liver oils. Proc. N. S. Inst. Sci., 37, 1–7.

Klapper, R., Carballeda-Sangiao, N., Kuhn, T., Jensen, H. M., Buchmann, K., Gonzalez-Muñoz, M., & Karl, H. (2018). Anisakid infection levels in fresh and canned cod liver: Significant reduction through liver surface layer removal. Food Control, 92, 17–24.

Kołodowska, A., Olley, J., & Dunstan, G. (2003). Fish lipids. Chemical and functional properties of food lipids. CRC Press, Nova Iorque, E. U. A., 221–264p.

Kołodowska, A., & Sikorski, Z. E. (2010). The role of lipids in food quality. Chemical and functional properties of food lipids. CRC Press, Washington, E. U. A., 512p.

Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., & Appel, L. J. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. Journal of the American Heart Association, 106(21), 2747–2757.

Lei, Q., Ba, S., Zhang, H., Wei, Y., Lee, J. Y., & Li, T. (2016). Enrichment of omega-3 fatty acids in cod liver oil via alternate solvent winterization and enzymatic interesterification. Food Chemistry, 199, 364–371.

Lepage, G., & Roy, C. C. (1986). Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. Journal of Lipid Research, 27, 114–120.

Lund, E. K. (2013). Health benefits of seafood; Is it just the fatty acids? Food Chemistry, 140(3), 413–420.

Martin, D., Nieto-Fuentes, J. A., Senóráns, F., Reglero, G., & Soler-Rivas, C. (2010). Intestinal digestion of fish oils and ω -3 concentrates under *in vitro* conditions. European Journal of Lipid Science and Technology, 112, 1315–1322.

Monfort, M. C. (2010). Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. Studies and Reviews N° 89. FAO, Roma, Itália, 28p. ISBN: 9789251066058.

Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A. A., Syed Muhamad, S. H.; & Che Man, Y. (2011). A Review on fish lipid: Composition and changes during cooking methods. Journal of Aquatic Food Product Technology, 20(4), 379–390.

NP 2282 (2009). Produtos da pesca e da aquacultura. Determinação da humidade. Método de referência.

- NP 2032 (2009). Produtos da pesca e da aquacultura. Determinação do teor de cinza total.
- Nogueira, N., Cordeiro, N., & Aveiro, M. J. (2013). Chemical Composition, fatty acids profile and cholesterol content of commercialized marine fishes captured in Northeastern Atlantic. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 7(7), 271–286.
- Nunes, M. L., Bandarra, N. M., & Batista, I. (2003). Fish products : Contribution for a healthy food. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2, 453–457.
- Nunes, M. L., Bandarra, N. M., & Batista, I. (2011). Health benefits associated with seafood consumption. *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell, pp. 369–379.
- Nunes, M. L., Batista, I., Bandarra, N. M., Morais, M. G., & Rodrigues, P. O. (2008). Produtos da pesca: Valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores. IPIMAR. Lisboa, Portugal.
- Piggott, G. M., & Tucker, B. W. (1990). *Seafood: effects of technology on nutrition*. Marcel Dekker, Inc., Nova Iorque, E. U. A., 221-228p.
- Rodrigues, H. (2012). Análise da evolução recente do sector das pescas em Portugal no contexto da Política Europeia das Pescas. Propostas de reestruturação. Dissertação de Mestrado em Economia e Gestão do Ambiente. Faculdade de Gestão, Universidade do Porto, 72p.
- Schram, L. B. Nielsen, C. J., Porsgaard, T., Nielsen, N. S., Holm, R., & Mu, H. (2007). Food matrices affect the bioavailability of (n - 3) polyunsaturated fatty acids in a single meal study in humans. *Food Research International*, 40(8), 1062–1068.
- Sidhu, K. S. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 336–344.
- Silva, P. S. e (2018). Ácidos gordos ómega-3. Disponível em: <http://www.fpcardiologia.pt/acidos-gordos-omega-3/> (Acedido: 5 de Novembro de 2018).
- Simopoulos, A. P., Leaf, A., & Salem, N. (1999). Workshop on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5), 487–489.
- Smith, M. E., & Morton, D. G. (2010). *The digestive system: systems of the body series*. 2a Edição. Elsevier Health Sciences, Londres, Reino Unido, 224p. ISBN:9780702048418.
- Tocher, D. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184.

- Vasconcelos, J., M. Afonso-Dias e G. Faria. 2012. Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) spawning season, size and age at first maturity in Madeira waters. *Arquipélago. Life Mar. Sci.* 29: 43-51.
- Vassilopoulou, E., Rigby, N., Moreno, F.J., Zuidmeer, L., Akkerdaas, J., Tassios, I., Ppadopoulos, N.G., Saxoni-Papageorgiou, P., Ree, R. V., & Mills, C. (2006). Effect of *in vitro* gastric and duodenal digestion on the allergenicity of grape lipid transfer protein. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 118(2), 473–480.
- Velasco, E. M., Arbol, J. D., Baro, J., & Sobrino, I. (2011). Age and growth of the Spanish chub mackerel *Scomber colias* off southern Spain: a comparison between samples from the NE Atlantic and the SW Mediterranean. *Revista de Biologia Marinha e Oceanografia*, 46, 27–34.
- Versantvoort, C. H. M., Oomen, A. G., Van De Kamp, E., Rompelberg, C. J.M., & Sips, A. J.A.M. (2005). Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43(1), 31–40.
- Wang, C., Harris, W. S., Chung, M., Lichtenstein, A. H., Balk, E. M., Kupelnick, B., Jordan, H. S., & Lau, J. (2006). n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not α -linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 5–17.
- Williams, C. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Annales De Zootechnie*, 49, 165–180.
- Zeng, Y. X., Araujo, P., Du, Z.Y., Nguyen, T. T., Frøyland, L., & Grung, B. (2010). Elucidation of triacylglycerols in cod liver oil by liquid chromatography electrospray tandem ion-trap mass spectrometry. *National Center for Biotechnology Information*, 82(4), 1261–1270.
- Zhang, R., Zhang, Z., Zhang, H., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Influence of lipid type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions: *In vitro* digestion study. *Food Research International*, 75, 71-78.

ANEXOS

Anexo I - Cromatograma da cavala

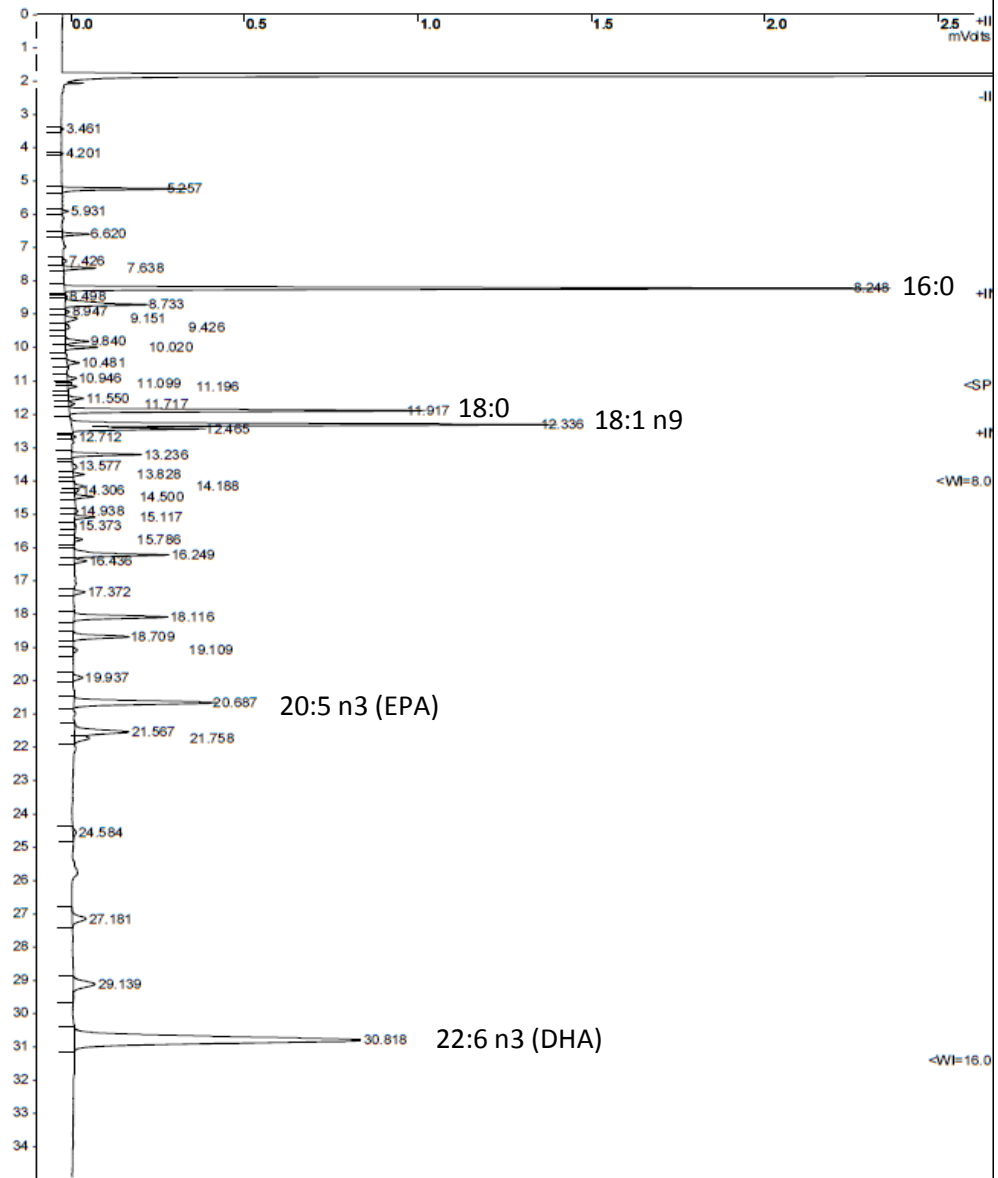
Title : LabLípidos - Área Laboratorial de Nutrição - DITVPP - IPIMAR
Run File : c:\star\data\júlia\amostra 2015\cavala pool 1.run
Method File : cavala pool 1-front.mth
Sample ID : cavala pool 1

Injection Date: 09-03-2015 11:41 Calculation Date: 18-03-2015 16:06

Operator : julia Detector Type: 3800 (1 Volt)
Workstation: Bus Address : 44
Instrument : GC-3800 Sample Rate : 10.00 Hz
Channel : Front = FID Run Time : 34.965 min

** GC Workstation Version 6.20 ** 03133-3790-826-0675 **

Chart Speed = 0.64 cm/min Attenuation = 11 Zero Offset = 3%
Start Time = 0.000 min End Time = 34.965 min Min / Tick = 1.00



Anexo II- Cromatograma do óleo de fígado de bacalhau antes da digestão

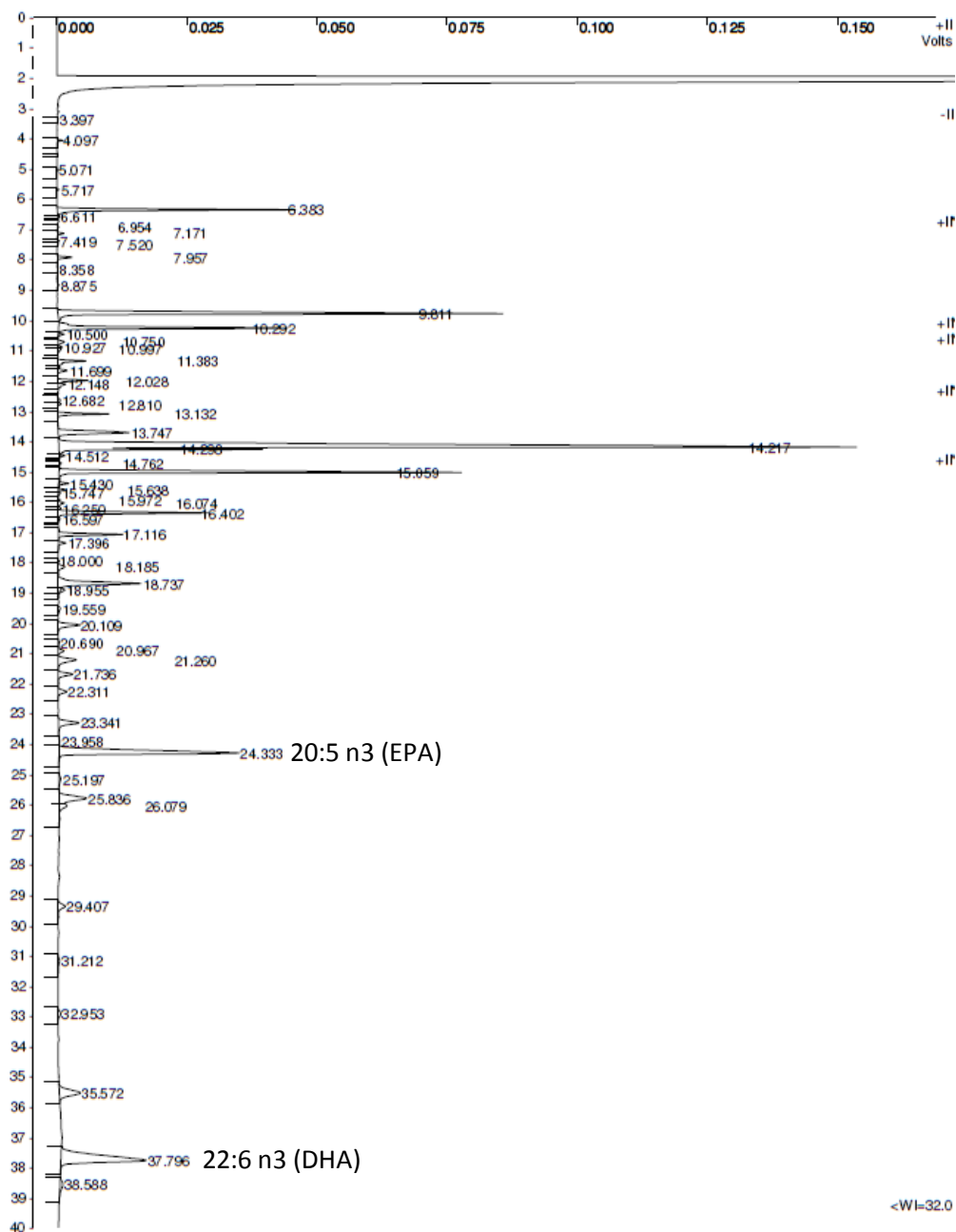
Title : Lab_Lípidos
 Run File : c:\brukerws\data\romina\oleo fig.bacalhau01.run
 Method File : oleo fig.bacalhau o-middle.mth
 Sample ID : Oleo fig.bacalhau01

Injection Date: 27-07-2018 05:22 Calculation Date: 13-08-2018 10:41

Operator : Julia Detector Type: 4XX-GC (10 Volts)
 Workstation: DIVAV017 Bus Address : 44
 Instrument : 456GC Sample Rate : 2.00 Hz
 Channel : Middle = FID Run Time : 40.000 min

** MSWS 8.0.1 for SCION Version 8.0.1 ** 01425-2611-BB0-444D **

Chart Speed = 0.56 cm/min Attenuation = 72 Zero Offset = 2%
 Start Time = 0.000 min End Time = 40.000 min Min / Tick = 1.00



<WI=32.0

Anexo III - Cromatograma da fração bioacessível do óleo de fígado de bacalhau

Title : Lablípidos - Área Laboratorial de Nutrição - DITVFP - IPIMAR
 Run File : c:\star\data\sara costa\aquacor\lipicor\novembro 2014\bioac 16.run
 Method File : bioac 16-front.mth
 Sample ID : Bioac 16

Injection Date: 19-03-2015 3:20 Calculation Date: 20-03-2015 12:04

Operator : julia Detector Type: 3800 (1 Volt)
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : GC-3800 Sample Rate : 10.00 Hz
 Channel : Front = FID Run Time : 34.965 min

** GC Workstation Version 6.20 ** 03133-3790-826-0675 **

Chart Speed = 0.64 cm/min Attenuation = 29 Zero Offset = 31
 Start Time = 0.000 min End Time = 34.965 min Min / Tick = 1.00

