

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**  
**PROGRAMA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA**

**PAULA BAGNO LEMOS**

**QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* EM ALIMENTOS**  
**CONSUMIDOS PELA POPULAÇÃO ADULTA DO DF.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**BRASÍLIA**

**2008**

**PAULA BAGNO LEMOS**

**QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* EM ALIMENTOS  
CONSUMIDOS PELA POPULAÇÃO ADULTA DO DF.**

**Dissertação apresentada como  
requisito parcial à obtenção do grau de  
Mestre em Nutrição Humana, Curso  
de Pós-graduação em Nutrição  
Humana, Departamento de Nutrição,  
Faculdade de Ciências da Saúde,  
Universidade de Brasília.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Marina  
Kiyomi Ito**

**Brasília**

**2008**

## **BANCA EXAMINADORA**

**Presidente da Banca:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Marina Kiyomi Ito

Departamento de Nutrição – Faculdade de Ciências da Saúde – UnB

**Membro:** Dr. Marcelo Buzzi

Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação – Laboratório de Bioquímica Analítica

**Membro:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Wilma Maria Coelho Araújo

Departamento de Nutrição – Faculdade de Ciências da Saúde – UnB

**Suplente:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Egle Machado de Almeida Siqueira

Departamento de Nutrição – Faculdade de Ciências da Saúde – UnB

**À Deus, pela minha vida,  
pela minha família e  
pelas oportunidades concedidas.**

**Aos meus pais, Paulo e Marília,  
por todo amor e apoio,  
pelo esforço para minha formação,  
pela oportunidade de crescimento  
e pela minha felicidade.**

## AGRADECIMENTOS

À professora Marina, minha orientadora e admirável pesquisadora, pela oportunidade de trabalhar e aprender com ela, pela confiança em mim depositada e pelo incentivo nos momentos de desafio.

À Thaís, ex-aluna do PIC, por seu companheirismo, pela companhia tão agradável no laboratório e pela dedicação e valiosa contribuição no desenvolvimento das análises.

À Renata e à Tatiana Vasconcelos, colegas de equipe, pela cordialidade, pela troca de conhecimentos e pela competência na realização do nosso projeto.

À Tatiana Evangelista, colega de mestrado, por sua amizade e pelos momentos descontraídos em laboratório e nas aulas.

Ao Dr. Marcelo Buzzi, pela participação como membro da banca examinadora e, principalmente, pela atenção e imensa colaboração para o desenvolvimento técnico das análises.

Às professoras Egle e Wilma, pela participação na banca examinadora.

Aos meus avós, por terem me concedido pais maravilhosos.

À minha irmã Aline, adorável companheira, pelo carinho e estímulo.

Às minhas amigas queridas pelo apoio e pelos momentos de descontração e de desabafo.

Aos demais amigos e familiares, pelo carinho e pela torcida.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – e à CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo financiamento do projeto e pela bolsa de mestrado concedidos, respectivamente.

## SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
APRESENTAÇÃO.....	1
RESUMO.....	3
ABSTRACT.....	4
<b>PARTE I</b>	
<b>1. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>6</b>
<b>2. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
2.1. Definição e propriedades dos ácidos graxos <i>trans</i> .....	8
2.2. Ocorrência de ácidos graxos <i>trans</i> em alimentos e fontes na dieta.....	9
2.3. Produção industrial de óleos vegetais parcialmente hidrogenados e o surgimento dos ácidos graxos <i>trans</i> .....	14
2.4. Consumo de ácidos graxos <i>trans</i> .....	16
2.4.1. Estimativas do consumo de ácidos graxos <i>trans</i> nos países .....	16
2.4.2. Limitações na estimativa de consumo de ácidos graxos <i>trans</i> .....	18
2.4.3. Análise de ácidos graxos <i>trans</i> .....	19
2.5. Metabolismo e efeitos biológicos dos ácidos graxos <i>trans</i> .....	20
2.6. Implicações na saúde decorrente da ingestão de ácidos graxos <i>trans</i> .....	22
2.6.1. Histórico dos ácidos graxos <i>trans</i> na saúde.....	22
2.6.2. Ácidos graxos <i>trans</i> e fatores de risco para doenças cardiovasculares.....	23
2.6.3. Efeitos dos ácidos graxos <i>trans</i> nas inflamações e função celular endotelial.....	28

2.6.4. Ácidos graxos <i>trans</i> e diabetes.....	29
2.6.5. Efeitos dos ácidos graxos <i>trans</i> sobre a saúde materno-infantil.....	30
2.6.5. Ácidos graxos <i>trans</i> e câncer.....	31
2.6.6. Mecanismos moleculares dos ácidos graxos <i>trans</i> .....	31
2.7. Ácidos graxos <i>trans</i> de ruminantes.....	33
2.8. Redução dos ácidos graxos <i>trans</i> na dieta.....	35
2.8.1. Estratégias para reduzir o consumo de ácidos graxos <i>trans</i> .....	35
2.8.2. Alternativas para a hidrogenação parcial de óleos vegetais.....	36
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>40</b>
3.1. Objetivos gerais.....	40
3.2. Objetivos específicos.....	40
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1. Tipo do estudo.....	41
4.2. Processo de identificação e escolha dos alimentos analisados.....	41
4.3. Análise de ácidos graxos nos alimentos.....	44
4.3.1. Reagentes e padrões.....	44
4.3.2. Homogeneização das amostras.....	44
4.3.3. Extração lipídica.....	48
4.3.4. Quantificação do teor de lipídios.....	49
4.3.5. Esterificação de ácidos graxos a partir de lipídios totais.....	49
4.3.6. Análise cromatográfica dos ácidos graxos esterificados.....	50
4.3.7. Quantificação do conteúdo de ácidos graxos dos alimentos.....	51
4.4. Análise estatística.....	52
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>53</b>

## **PARTE II**

### **6. CAPÍTULO 1: CONTEÚDO DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* DOS ALIMENTOS CONSUMIDOS POR ADULTOS NO DISTRITO FEDERAL.....64**

Resumo.....	65
Abstract.....	66
6.1. Introdução.....	67
6.2. Materiais e métodos.....	69
6.2.1. Plano de amostragem.....	69
6.2.2. Extração dos lipídios e análise dos ácidos graxos.....	70
6.2.3. Análises estatísticas.....	71
6.3. Resultados e discussão.....	72
6.4. Conclusão.....	84
6.5. Referências bibliográficas.....	85

### **7. CAPÍTULO 2: A ROTULAGEM OBRIGATÓRIA E A VARIABILIDADE NO CONTEÚDO DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* DE PRODUTOS ALIMENTÍCIOS CONSUMIDOS NO DISTRITO FEDERAL.....90**

Resumo.....	91
Abstract.....	92
7.1. Introdução.....	93
7.2. Materiais e métodos.....	95
7.2.1. Plano de amostragem.....	95
7.2.2. Extração dos lipídios e análise dos ácidos graxos.....	96
7.2.3. Análises estatísticas.....	97
7.3. Resultados e discussão.....	98

7.4. Conclusão.....	110
7.5. Referências bibliográficas.....	111
<b>PARTE III</b>	
<b>8. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>115</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>117</b>
9.1. CAPÍTULO 3: COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE MARGARINAS À BASE DE GORDURA HIDROGENADA OU INTERESTERIFICADA.....	118
Resumo.....	119
Abstract.....	119
1. Introdução.....	120
2. Materiais e métodos.....	121
3. Resultados e discussão.....	122
4. Conclusão.....	126
5. Referências bibliográficas.....	126
6. Agradecimentos.....	128

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AG – ácidos graxos

AGE – ácidos graxos essenciais

AGI – ácidos graxos insaturados

AGM – ácidos graxos monoinsaturados

AGP – ácidos graxos poliinsaturados

AGS – ácidos graxos saturados

AGT – ácidos graxos *trans*

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOCS – *The American Oil Chemists Society*

Apo - apolipoproteína

ARA – ácido araquidônico

BHT – hidróxi-tolueno butilado

CETP – proteína colesterol-éster transferase – *cholesteryl ester transfer protein*

CLA – ácidos linoléicos conjugados

DF – Distrito Federal

DCNT – doenças crônicas não transmissíveis

DCV – doenças cardiovasculares

DHA – ácido docosahexaenóico

EUA – Estados Unidos da América – *United States of America (USA)*

FAME – ácidos graxos metilados ou metil-éster de ácido graxo – *fatty acid methyl ester*

FAO – *Food and Agriculture Organization*

FDA – *Food and Drug Administration*

GVH – gordura vegetal parcialmente hidrogenada

HDL – lipoproteína de alta densidade

IMC – índice de massa corporal

IOM – *Institute of Medicine*

KCl – cloreto de potássio

KHCO<sub>3</sub> – bicarbonato de potássio

LDL – lipoproteína de baixa densidade

N<sub>2</sub> - nitrogênio

NaCl – cloreto de sódio

NHS – *The Nurses' Health Study*

OMS – Organização Mundial de Saúde – *World Health Organization* (WHO)

OPAS – Organização Pan-americana de Saúde

R24 – recordatório de 24 horas

TACO – Tabela brasileira de composição de alimentos

TAG – triacilglicerol

TNF – fator de necrose tumoral

UnB – Universidade de Brasília

USDA – *United States Department of Agriculture*

VET – valor energético total

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### PARTE 1

#### Materiais e métodos

- Tabela 1: Alimentos citados nos R24 que contribuíram com cerca de 95% da ingestão de ácidos graxos *trans* na população do DF, segundo base de dados do USDA (1999).....42
- Tabela 2: Número de produtos e total de amostras analisados para cada alimento.....44
- Quadro 1: Descrição dos procedimentos para homogeneização dos alimentos analisados.....46

### PARTE II

#### Capítulo 1

- Tabela 1: Composição de ácidos graxos (g/100g alimento) dos alimentos contendo ácidos graxos *trans* produzidos industrialmente por hidrogenação ou interesterificação.....75
- Tabela 2: Composição de ácidos graxos (g/100g alimento) dos alimentos contendo ácidos graxos *trans* por biohidrogenação ou outras fontes.....79
- Tabela 3: Índices nutricionais dos alimentos. ....81

#### Capítulo 2

- Tabela 1: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos de biscoitos recheados e cream cracker contendo gordura vegetal hidrogenada ou interesterificada (g/100g de alimento).....99
- Tabela 2: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos nos alimentos de origem animal e derivados (g/100g de alimento).....103
- Tabela 3: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos dos azeites (g/100g de alimento).....105

### PARTE III

#### Anexos – Capítulo 3:

- Tabela 1: Composição de ácidos graxos das margarinas à base de gordura vegetal hidrogenada ou interesterificada, Distrito Federal, 2007. Valores percentuais em 100g de produto. ....123

## LISTA DE FIGURAS

### PARTE I

#### Introdução

- Figura 1: Estrutura química do ácido graxo *cis*-monoinsaturado (oléico), o ácido graxo *trans*-monoinsaturado correspondente (elaídico) e ácido graxo saturado correspondente (esteárico).....9
- Figura 2: Distribuição dos ácidos graxos *trans* em óleos vegetais parcialmente hidrogenados e ácidos graxos *trans* da gordura de ruminantes da Dinamarca.....12
- Figura 3: Cromatograma de margarina analisada em coluna capilar SP-2560 (Iso @ 180°C @ 1.0 mL/min (19 cm/s); He; 1:100) pelo método oficial da AOCS Ce 1h-05 (painel A) com região dos isômeros do 18:1, 18:2 e 18:3 ampliada (painel B).....20
- Figura 4: Risco relativo ajustado a multivariáveis de doença cardiovascular associado com a ingestão de ácidos graxos *trans*. Baseado em meta-análise realizada por Mozaffarian e colaboradores (2006).....25
- Figura 5: Mudanças na razão de colesterol total para HDL e níveis de LDL e HDL resultantes da substituição de ácidos graxos saturados ou *cis* insaturados por ácidos graxos *trans*. Baseadas em meta-análise realizada por Mozaffarian e colaboradores (2006).....26
- Figura 6: Efeitos fisiológicos potenciais dos ácidos graxos *trans*.....33

### PARTE II

#### Capítulo 2

- Figura 1: Conteúdo de AGT nas respectivas porções dos alimentos de acordo com os rótulos e nas análises em laboratório.....107

### PARTE III

#### Anexos - Capítulo 3:

- Figura 1: Teores de AGT apresentados nos rótulos das margarinas e análise laboratorial (g/porção de 10g).....125

## APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido como parte do projeto de pesquisa denominado “Estudo de validação e reprodutibilidade de um questionário de frequência alimentar, com enfoque em ácidos graxos dietéticos, para uso em população adulta”, aprovado pelo edital MCT-CNPq/MS-DAB/SAS – N° 51/2005.

O projeto teve como objetivo desenvolver, validar e testar a reprodutibilidade de um questionário de frequência alimentar indicador do consumo dietético da população adulta do Distrito Federal (DF), com ênfase na gordura e ácidos graxos dos alimentos.

A presente dissertação, que abrange o estabelecimento do conteúdo de ácidos graxos *trans* de alimentos consumidos pela população do DF, foi estruturada no formato de artigo, de acordo com as normas desta pós-graduação, de forma a contemplar a seguinte divisão:

- Na parte I, foram apresentadas a justificativa, a introdução, contendo uma revisão bibliográfica do tema, os objetivos, os materiais e métodos, e as referências bibliográficas citadas ao longo desta primeira parte;
- Na parte II, encontram-se dois artigos, apresentados em capítulos, referentes aos resultados obtidos neste trabalho e as respectivas discussões:
  - Capítulo 1: é referente ao artigo “Conteúdo de ácidos graxos *trans* dos alimentos consumidos por adultos no Distrito Federal”, apresentado na formatação exigida pelo periódico *Journal of Food Composition and Analysis*, ao qual será submetido;
  - Capítulo 2: é referente ao artigo “A rotulagem obrigatória e a variabilidade no conteúdo de ácidos graxos *trans* de produtos alimentícios consumidos no Distrito Federal”, apresentado na formatação exigida pelo periódico *Food Chemistry*, ao qual será submetido;

- Na parte III, foram apresentadas as conclusões gerais deste trabalho, obtidas a partir dos resultados expostos nos artigos produzidos;
- Por último, encontram-se os anexos. Nestes, está contido o Capítulo 3, referente ao artigo “Composição de ácidos graxos de margarinas à base de gordura hidrogenada ou interesterificada” produzido em conjunto com a ex-aluna Thaís Cavendish (primeira autora) como trabalho final do Projeto de Iniciação Científica – PIC. O artigo está apresentado na formatação exigida pelo periódico *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, ao qual foi submetido no mês de março deste ano, mas ainda sem resposta.

As referências bibliográficas de toda a dissertação, incluindo as citadas nos artigos, foram mantidas em extenso no corpo do texto para facilitar a leitura deste trabalho.

## RESUMO

Este estudo investigou a composição de ácidos graxos de 11 alimentos fontes de AGT consumidos por indivíduos adultos moradores do Distrito Federal e a contribuição dos diferentes isômeros *trans* na composição destes alimentos. Avaliou também a variabilidade inter-produtos em relação ao conteúdo de AGT. Todos os alimentos apresentaram AGT, sendo os isômeros *trans* do 18:1 os principais. Dentre os alimentos analisados, margarina hidrogenada (8,85g/100g de alimento), biscoito recheado (4,13g/100g de alimento) e mistura para bolo (1,88g/100g de alimento) apresentaram maiores conteúdos de AGT, enquanto pão de hambúrguer (0,12g/100g de alimento), leite (0,14g/100g de alimento) e batata frita de serviços de alimentação (0,26g/100g de alimento) apresentaram conteúdos menores. Índices nutricionais indicaram baixo valor nutricional em relação à composição lipídica da mistura para bolo, biscoito recheado, requeijão e leite, e melhor valor nutricional dos azeites, margarina interesterificada e batata frita. Os alimentos contendo gordura vegetal parcialmente hidrogenada (GVH) apresentaram maior teor de AGT, 18:1,9t e 18:1,10t que os alimentos contendo gordura animal de ruminantes ( $p \leq 0,02$ ). A salsicha foi o único alimento que apresentou variação inter-produto no conteúdo de AGT ( $p \leq 0,02$ ). Cerca de 60% dos itens analisados apresentaram conteúdos maiores de AGT nas análises que os declarados nos rótulos. Os resultados deste trabalho indicaram baixa variação inter-produtos no conteúdo de AGT dos produtos analisados. Os produtos à base de GVH continuam sendo fontes importantes de *trans*.

**Palavras-chave:** ácidos graxos, ácidos graxos *trans*, composição de ácidos graxos, composição de alimentos, hidrogenação parcial, gordura vegetal parcialmente hidrogenada, biohidrogenação, variabilidade, rotulagem de alimentos.

## ABSTRACT

This study investigated the fatty acid composition of 11 foods sources of *trans* fatty acids (TFA) consumed by the adult population of Federal District and the contribution of the different *trans* isomers in the composition of these foods. This study also evaluated the inter-product variability of the TFA levels. All food showed TFA, with the 18:1 *trans* being the major isomers. Hydrogenated margarine (8.85g/100g food), sandwich cookies (4.13g/100g), and cake mixture (1.88g/100g) showed the highest levels of TFA, while hamburger bread (0.12g/100g), cow's milk (0.14g/100g) and french fries (0.26g/100g) showed the lowest amounts. Nutritional ratios indicated low nutritional values related to lipid composition of cake mixture, sandwich cookies, milk and cream cheese, and better nutritional values of olive oils, interesterified margarine and french fries. The foods containing partially hydrogenated vegetable fats (HVF) had higher levels of 18:1,9t and 18:1,10t than foods containing ruminant fats ( $p \leq 0.02$ ). The hot dog sausages were the only food with inter-product variability in the TFA content ( $p \leq 0.02$ ). About 60% of the items analyzed showed higher TFA contents than that in the labels. The results indicated low inter-product variability of the content of TFA among the food analyzed. The products using HVF continues to be the principal sources of TFA.

**Keywords:** fatty acids, *trans* fatty acids, fatty acid composition, food composition, partial hydrogenation, partially hydrogenated vegetable fat, biohydrogenation, variability, food labeling.

# **PARTE I**

## 1. JUSTIFICATIVA

O presente projeto se propôs a analisar o teor de ácidos graxos (AG) dos principais alimentos fontes de AG *trans* (AGT) consumidos pela população adulta do DF, identificados no estudo de validação e reprodutibilidade de um questionário de frequência alimentar específico para esta população. A realização de análises quantitativas dos AG nos alimentos tipicamente consumidos no DF auxiliaria no desenvolvimento de um instrumento que reflita a ingestão habitual de gorduras e AG, possibilitando a investigação do teor de lipídios da dieta desta população, por método de avaliação validado.

O consumo de AG tem sido associado ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como *diabetes mellitus*, câncer e doenças cardiovasculares (DCV) (STENDER e DYERBERG, 2004). Entre os tipos de AG, os ácidos graxos saturados (AGS) e os ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e poliinsaturados (AGP) de configuração *trans* são considerados os mais prejudiciais à saúde, por elevarem o colesterol total e a fração da lipoproteína de baixa densidade (LDL) no sangue, além de reduzirem os níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL), no caso dos AGT (IOM, 2002; MENSINK et al, 2003).

O relatório técnico da OMS/FAO de 2002 sobre Dieta, Nutrição e Prevenção de Doenças Crônicas (*WHO Technical Report Series*, 916) concluiu haver prova convincente de que a ingestão de AGT aumenta efetivamente o risco de DCV. A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza a ingestão de AGT inferior a 1% do valor energético total da dieta (VET) para prevenção e tratamento de DCNT (WHO, 2003).

Apesar destas recomendações existentes para a ingestão de AG, o padrão de consumo brasileiro ainda é desconhecido. Existem poucos estudos representativos no país sobre o padrão de consumo alimentar e dos diferentes tipos de AG, particularmente dos *trans*. Por isso,

informações deste padrão, bem como outras referentes à identificação dos principais alimentos representativos deste padrão, seriam de grande utilidade em estudos relacionados ao controle dos fatores dietéticos de risco para DCNT.

A existência de poucas tabelas de composição de alimentos incluindo valores de AG tem sido o fator limitante para se estimar a ingestão destes componentes em estudos dietéticos no Brasil (CHIARA et al, 2003). No país, atualmente, dispõe-se da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) que fornece a composição de AG de 282 alimentos nacionais.

A rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de AGT em produtos alimentícios tornou-se obrigatória no Brasil em 2003 e diversos desses produtos vêm diminuindo o conteúdo de gorduras *trans*, de acordo com informações dos seus rótulos (Resolução n.360. ANVISA, 2003). Entretanto, estudos confirmando o seu conteúdo são válidos considerando que investigação anterior à vigência da resolução da ANVISA revelou que o relato da composição de alguns produtos brasileiros (rótulos) não coincidia com os teores encontrados nas análises, destacando-se teores elevados de AGT em amostras de biscoitos, sorvetes e batatas fritas (CHIARA et al, 2003).

A determinação do conteúdo de AG nos alimentos fontes de AGT usualmente consumidos pelas populações possibilita estimativas fidedignas da ingestão diária destes nutrientes. Não foi encontrado nenhum trabalho na literatura que avaliasse o consumo alimentar de AG e seus efeitos na população adulta do DF, ou que possibilitasse o estabelecimento de um padrão alimentar regional. A realização de maiores estudos nesse sentido é importante para guiar futuras estratégias e programas de combate e prevenção de DCNT.

## 2. INTRODUÇÃO

### 2.1. Definição e propriedades dos ácidos graxos *trans*

Segundo o Comitê do *Codex Alimentarius*, AGT são definidos como todos os isômeros geométricos de AGM e AGP, contendo dupla ligação carbono-carbono na configuração *trans*, não-conjugada e interrompida por pelo menos um grupo metileno (FAO/WHO, 2005). “Gordura *trans*” é o termo coletivo utilizado como referência para esses vários AG contendo duplas ligações *trans* que ocorrem nos alimentos (KORVER e KATAN, 2006).

Nos reinos animal e vegetal, os AG geralmente possuem insaturações na forma *cis*, quando os hidrogênios ligados à dupla ligação de carbonos estão no mesmo lado da cadeia carbônica (CHRISTIE, 2003; MARTIN et al, 2007). Na dupla ligação *trans*, os dois átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono que formam a dupla ligação estão localizados em lados opostos da cadeia carbônica, formando uma molécula linear, que se assemelha a de um AGS (figura 1). A conformação linear é o estado de menor energia e permite um melhor empacotamento das moléculas, ficando mais próximas umas das outras e aumentando a interação entre elas. Como consequência do aumento das forças intermoleculares, os AGS e AGT possuem pontos de fusão mais altos que os ácidos graxos insaturados (AGI) *cis* (CURI, 2002). Por exemplo, o ponto de fusão do ácido oléico (18:1,9c) é de 13°C, enquanto o de seu isômero *trans* correspondente, o ácido elaídico (18:1,9t), é de 44°C (JONES e KUBOW, 2000). Os AGI na configuração *cis* contêm dobramentos rígidos em suas cadeias carbônicas, pois as duplas ligações não giram e uma angulação de 30 graus é produzida para cada dupla ligação presente. Essa conformação não permite um empacotamento tão eficiente das moléculas e, logo, a interação entre elas é menor, apresentando pontos de fusão mais baixos. Assim, pela conformação espacial e pela menor densidade eletrônica, os AGT são termodinamicamente mais estáveis, sendo menos

reativos e apresentando maior resistência aos processos do que a sua forma *cis* correspondente (CURI, 2002).

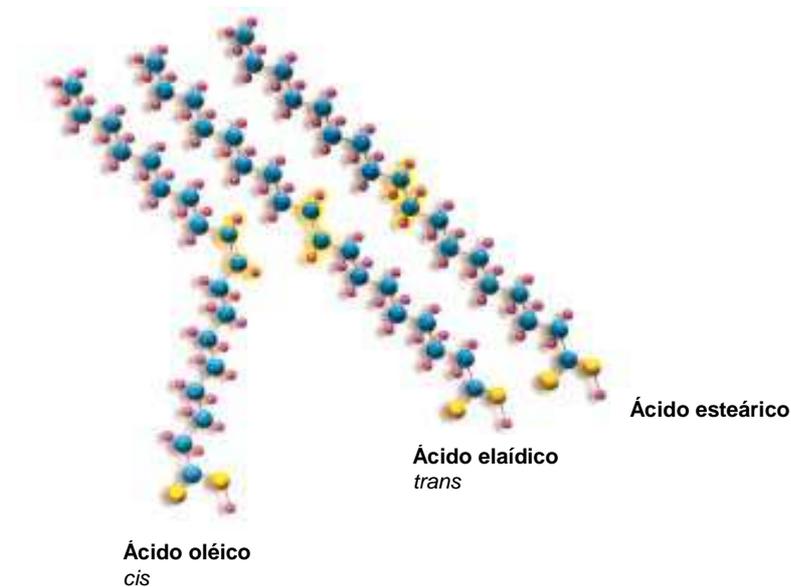


Figura 1: Estrutura química do ácido graxo *cis*-monoinsaturado (oléico), o ácido graxo *trans*-monoinsaturado correspondente (elaídico) e ácido graxo saturado correspondente (esteárico) (STENDER e DYERBERG, 2003; retirado do *J Amer Diet Assoc*, 2002; no. 1 - David Zweirz).

## 2.2. Ocorrência de ácidos graxos *trans* em alimentos e fontes na dieta

Os AGT podem ser produzidos industrialmente ou ocorrerem naturalmente. Industrialmente, eles são formados durante a hidrogenação parcial de óleos vegetais, um processo que converte óleos vegetais líquidos em gorduras semi-sólidas (MOZAFFARIAN et al, 2006), denominadas gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas (GVH), e usadas em frituras comerciais e na formulação de produtos industrializados. Naturalmente, os AGT estão presentes na carne e leite de animais ruminantes e produtos derivados e são originados pela biohidrogenação no rúmem desses animais (JAKOBSEN et al, 2006).

O processo de hidrogenação parcial concede aos óleos vegetais algumas propriedades físicas das gorduras saturadas, como consistência mais firme, maior ponto de fusão e estado físico semi-sólido à temperatura ambiente. A indústria utiliza esse processo para conferir

plasticidade aos alimentos, pelo aumento da solidez e maleabilidade, e aumentar a estabilidade oxidativa destes óleos, aumentando a resistência quanto à deterioração do sabor e aroma de óleos e gorduras, melhorando a estabilidade das gorduras durante a fritura e prolongando a vida de prateleira dos alimentos (CURI, 2002; TARRAGO-TRANI et al, 2006; ECKEL et al, 2007).

A hidrogenação parcial de óleos vegetais é obtida a partir da adição de moléculas de hidrogênio às duplas ligações, na presença de um metal catalisador, causando a saturação de algumas duplas ligações enquanto outras sofrem isomerismo geométrico ou isomerismo posicional, e resultando na redução da quantidade de AG essenciais e formação de isômeros *trans* (ASCHERIO e WILLETT, 1997; KARABULUT e TURAN, 2006; TARRAGO-TRANI et al, 2006). O processo de hidrogenação é controlado pelo ajuste de parâmetros da reação como a temperatura, pressão do hidrogênio, tempo da reação, tipo e concentração do catalisador empregado, que podem modular a produção de duplas ligações *trans* para que se obtenha um produto final de composição e propriedades funcionais desejadas (MARTIN et al, 2005; TARRAGO-TRANI et al, 2006). De acordo com as condições do processo, a hidrogenação é classificada tanto em parcial ou total, como em seletiva ou não-seletiva. A seletividade refere-se à hidrogenação preferencial dos AG mais insaturados, que resulta na menor formação possível de AGS (MARTIN et al, 2007). A saturação completa das duplas ligações resulta em produtos com pontos de fusão muito altos, normalmente inadequados para uso alimentício, e por isso, a hidrogenação parcial é mais empregada (CURI, 2002).

Existe grande variabilidade no conteúdo de AGT presente em alimentos, até mesmo dentro de uma mesma categoria (INNIS et al, 1999; MARTIN et al, 2005). A utilização de GVH é uma das explicações para esta variabilidade, já que ela pode conter cerca de 1 a 65% de AGT (CHARDIGNY et al, 2008), uma vez que é possível a produção de diferentes gorduras, alterando-se as condições da hidrogenação, cuja extensão dependerá das características finais

desejadas (KARABULUT et al, 2003; RUIZ-JIMÉNEZ et al, 2004). O uso de diferentes tecnologias desenvolvidas e usadas pelas indústrias de alimentos e óleos comestíveis para minimizar o conteúdo de AGT também contribui para a variação do conteúdo de AGT dos alimentos (TARRAGO-TRANI et al, 2006). Os produtores podem ainda usar várias combinações possíveis de óleos e gorduras hidrogenados ou não-hidrogenados para atingir as características desejadas do produto final. Além disso, o uso de óleos e gorduras hidrogenados ou não-hidrogenados em produtos alimentícios pode variar com seus custos e os custos dos processos envolvidos e com a disponibilidade regional ou nacional (INNIS et al, 1999; NIELSEN, 2006).

O ácido elaídico e o isômero 18:1,10t são os AGT mais comuns na GVH (CHARDIGNY et al, 2008). Os alimentos elaborados com essa gordura, como margarinas, cremes vegetais, biscoitos, produtos de panificação e confeitaria, massas, sorvetes, bolos e salgadinhos chips, constituem fontes importantes de AGT e contribuem com cerca de 80 a 90% dos AGT provenientes da dieta (VICARIO et al, 2003; BERTOLINO et al, 2006).

Em animais ruminantes, os AGT são produzidos como intermediários durante a biohidrogenação de AGP, provenientes do capim e plantas ingeridos pelos animais, por bactérias anaeróbicas no rumem. A dessaturação bacteriana produz duplas ligações *trans* em toda a molécula dos AG, mas com preferência pela dupla ligação na posição 11 dos AG de 18 carbonos, como o ácido vacênico (18:1,11t), que é o principal isômero presente na gordura de ruminantes (figura 2) (CHARDIGNY et al, 2008; STENDER et al, 2008). Os microrganismos *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Megasphaera esdenii* comandam a isomerização dos AGP, resultando nos AG 18:2,9c,11t e 18:2,10t,12c, a partir do ácido linoléico (18:2c n-6). Estes AG podem ser absorvidos pelo animal ou biohidrogenados para formar os ácidos vacênico e 18:1,10t, que também podem ser obtidos dos ácidos alfa ( $\alpha$ ) e gama ( $\gamma$ ) linolênicos (18:3c n-3 e n-6). Em seguida, esses *trans*-AGM podem ser também absorvidos ou hidrogenados para formar ácido

esteárico (18:0). Quando absorvidos esses ácidos podem ser incorporados no tecido adiposo e músculos desses animais. O ácido oléico também é convertido em ácido esteárico pela biohidrogenação. O isômero 18:2,9c,11t, chamado ácido rumênico, também pode ser formado pelo ácido vacênico por ação da enzima delta-9-desaturase. Este isômero e o 18:2,10t,12c são chamados de ácidos linolêicos conjugados (CLA) e parecem ter efeitos distintos dos outros AGT no organismo humano (MARTIN et al, 2007).

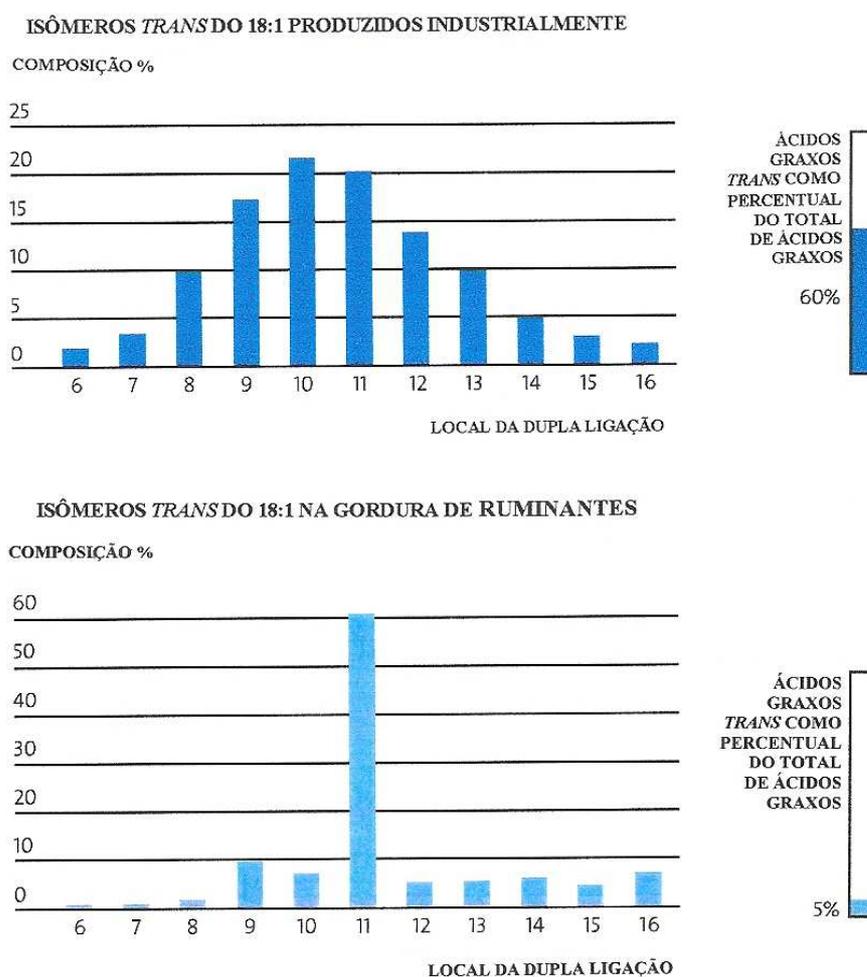


Figura 2: Distribuição dos ácidos graxos *trans* em óleos vegetais parcialmente hidrogenados e ácidos graxos *trans* da gordura de ruminantes da Dinamarca (STENDER e DYERBERG, 2003).

O conteúdo máximo de AGT na gordura de ruminantes é de cerca de 1 a 8% e varia com a alimentação dos animais e, conseqüentemente, com as estações do ano (MOZAFFARIAN et al, 2006; STENDER et al, 2008; CHARDIGNY et al, 2008). Os AGT de ruminantes são consumidos em quantidades menores que os AGT produzidos industrialmente (CANTWELL et al, 2005; MOZAFFARIAN et al, 2006), e sua ingestão é determinada principalmente pelo consumo de laticínios ricos em gordura (STENDER et al, 2008).

Pequenas quantidades de AGT também são encontradas em óleos vegetais refinados. Os óleos são refinados para remover substâncias, como AG livres, que podem ocorrer nos óleos vegetais *in natura* e contribuir para mudanças na cor, sabor e aroma, restringindo sua aplicação e reduzindo sua vida útil (MARTIN et al, 2007). Durante o processo de refino, especialmente durante a etapa de desodorização, que tem como objetivos melhorar as características organolépticas pela remoção do solvente usado no processo de extração do óleo e baixar o peso molecular dos componentes, são necessárias altas temperaturas, entre 180 e 270°C, que podem modificar duplas ligações *cis* ocorridas naturalmente nestes óleos em duplas ligações *trans* (WAGNER et al, 2000; TARRAGO-TRANI et al, 2006; MARTIN et al, 2007).

Gorduras utilizadas em frituras também são fontes de AGT na dieta. A formação de AGT durante a fritura de alimentos, assim como no refino dos óleos e no processo de hidrogenação, ocorre por mecanismo induzido termicamente e está relacionada à temperatura do processo e tempo de uso do óleo. Há controvérsias se os alimentos fritos podem ser considerados uma fonte importante de AGT, já que estes AG seriam constituintes em quantidades irrelevantes nestes alimentos. No entanto, a reutilização de óleos refinados no preparo de alimentos fritos pode tornar significativa a formação de isômeros *trans*, contribuindo na ingestão diária de AGT, pois durante o processo de fritura, a gordura ou óleo utilizados são absorvidos pelo alimento, representando cerca de 30% do conteúdo lipídico destes. Quando GVH são usadas na fritura, a

formação de AGT é geralmente menor, mas o elevado conteúdo inicial desses AG resulta em uma concentração maior de isômeros *trans* nos alimentos fritos (WAGNER et al, 2000; SANIBAL e MANCINI FILHO, 2004; MARTIN et al, 2004; MARTIN et al, 2007).

### **2.3. Produção industrial de óleos vegetais parcialmente hidrogenados e o surgimento dos ácidos graxos *trans***

Em 1897, os químicos franceses Sabatier e Senderens descobriram que a diferença na consistência entre óleos vegetais e manteiga e entre gordura bovina e banha de porco era devida às quantidades de átomos de hidrogênio presentes (MARTIN et al, 2007). Baseado nos trabalhos de Sabatier na hidrogenação catalisada por metal em componentes orgânicos insaturados, o químico alemão Normann desenvolveu, em 1903, o método para hidrogenação de óleos vegetais. Quimicamente, a hidrogenação de óleos é a redução das duplas ligações de AGI para ligações simples saturadas, pela reação do gás hidrogênio na presença de um metal catalisador. O metal catalisador usado na época era o níquel e permaneceu sendo utilizado nos procedimentos de hidrogenação atuais (TARRAGO-TRANI et al, 2006).

Ainda em 1903, o processo de hidrogenação foi aplicado industrialmente pela primeira vez na Inglaterra (MARTIN et al, 2007). A patente da tecnologia para produzir GVH foi adquirida pela companhia inglesa *Joseph Crossfield and Sons*, estabelecendo a manufatura de GVH na Europa por volta de 1906 (TARRAGO-TRANI et al, 2006). As GVH foram introduzidas nos produtos alimentícios dos EUA em 1911, quando uma empresa americana *Procter and Gamble*, após a obtenção dos direitos da patente, lançou a *Crisco*, uma gordura hidrogenada feita de óleo de algodão parcialmente hidrogenado, por interesse dos EUA em dar vazão à grande produção deste óleo (CURI, 2002; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

De 1930 em diante, a indústria de hidrogenação teve um crescimento relevante resultante do consumo de margarinas e gorduras hidrogenadas durante a Segunda Guerra Mundial. Entretanto, até 1940, a margarina era considerada um substituto inferior da manteiga. Em 1941, o *Food and Drug Administration* (FDA) publicou um relatório nos Estados Unidos da América (EUA) dando à margarina o *status* de alimento básico. No final da década de 1950, pesquisadores do *Northern Regional Research Center* descobriram que o ácido  $\alpha$ -linolênico estava relacionado à formação de odores desagradáveis quando alimentos eram fritos em óleo de soja. Foi proposto, então, o desenvolvimento da hidrogenação seletiva como uma alternativa para diminuir a quantidade deste AG no óleo de soja. Esta estratégia levou a uma hidrogenação mais leve, processo que reduzia a quantidade de ácido  $\alpha$ -linolênico para 3% do total de AG no óleo, e aumentava a possibilidade da produção de gorduras com características específicas (MARTIN et al, 2007).

No Brasil, a indústria de hidrogenação apareceu por volta de 1950, inicialmente produzindo gorduras hidrogenadas e margarinas duras. De 1970 em diante, começou a produção de margarinas cremosas pela mistura de gorduras hidrogenadas com diferentes pontos de fusão. A melhora no processo de hidrogenação pelo desenvolvimento da hidrogenação seletiva possibilitou a produção de gorduras cada vez mais específicas e o aumento de seu uso na produção de alimentos, o que resultou na substituição quase total das gorduras animais na dieta da população brasileira (MARTIN et al, 2007).

Desde seu desenvolvimento, as GVH foram usadas como alternativa ao uso de banha e manteiga no processamento de alimentos. Fatores como maior ponto de fusão e estabilidade, baixo custo, possibilidade de desenvolver uma gama de produtos que apresentassem outras aplicações comerciais, além de uma suposta ação benéfica à saúde, acreditando-se que os AGI na forma *trans* não apresentariam os mesmos efeitos dos AGS, aumentaram o interesse na utilização

dos óleos vegetais hidrogenados para fabricação e processamento de alimentos, fazendo com que o consumo de AGT atingisse valores significativos (CURI, 2002; SANIBAL e MANCINI FILHO, 2004; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

## **2.4. Consumo de ácidos graxos *trans***

### **2.4.1. Estimativas do consumo de ácidos graxos *trans* nos países**

No “*The Minnesota Heart Survey*”, um estudo epidemiológico observacional sobre tendências dos fatores de risco e a morbidade e mortalidade por DCV, Harnack e colaboradores (2003) estimaram que o consumo de AGT nos EUA, expresso em percentual da energia total ingerida, caiu de 3%, entre 1980-1982, para 2,2% entre 1995-1997. Baseado num estudo prospectivo, o “*The Nurses’ Health Study*”, Oh e colaboradores (2005) relataram que o consumo de AGT diminuiu de 2,2% para 1,6% de 1980 para 1998.

O consumo de AGT em países europeus varia consideravelmente, segundo o TRANSFAIR Study (VAN POPPEL, 1998). Valores menores foram observados na Grécia, Portugal, Itália e Espanha (variando de 1,4 a 2,1g/dia; ou entre 0,6 e 0,7% da energia), valores intermediários na Finlândia, Alemanha, França, Suécia, Dinamarca e Reino Unido (de 2,1 a 2,8g/dia; ou de 0,9 a 1,3% da energia), e valores maiores na Noruega, Bélgica, Holanda e Islândia (de 4,0 a 5,4g/dia; ou de 1,5 a 2,0% da energia) (VAN POPPEL, 1998).

Desde 1996, a ingestão de AGT diminuiu consideravelmente na Dinamarca, assim como em outros países da Europa Ocidental, devido a pressão social sobre os produtores de alimentos para reduzir o conteúdo de *trans*. A partir de 2004, após legislação limitando os AGT produzidos industrialmente naquele país, a ingestão desses isômeros foi virtualmente eliminada. Dessa

forma, os AGT ingeridos na Dinamarca são predominantemente produzidos por ruminantes (STENDER et al, 2008).

Na Holanda, pelo “*The Zutphen Elderly Study*”, Oomen e colaboradores (2001) observaram uma diminuição na ingestão de AGT de 4,3 para 1,9% (ou de 10,9 para 4,4g/dia), entre 1985 e 1995, devido a diminuição do consumo de GVH.

No Canadá, também foi observada uma redução no consumo de AGT. Chen e colaboradores (1995) estimaram uma ingestão de AGT de 3,9% da energia (10,1g/dia) em mulheres canadenses. Mais recentemente, estimativas de Friesen e Innis (2006) verificaram ingestão decrescente de *trans* entre 1998 e 2006, sendo de 2,2g/pessoa/dia ao final desse período.

Segundo Saunders e colaboradores (2008), na Nova Zelândia, a diminuição do conteúdo de AGT em alimentos industrializados verificada recentemente indica que a ingestão de AGT também teria diminuído neste país. De acordo com esses autores, estudos prévios estimaram a ingestão de AGT entre 2,7 e 5,1g/dia na Nova Zelândia e Austrália. Clifton e colaboradores (2004), observaram ingestão de AGT entre 1,55 e 5,46g/dia na Austrália.

Na Costa Rica, entre 1994 e 1999, a ingestão de AGT era de 4,1g/dia e diminuiu para 2,9g/dia nos últimos anos, devido a redução do conteúdo de *trans* nos produtos alimentícios (CÓLON-RAMOS et al, 2006).

Mozaffarian e colaboradores (2007) observaram que os AGT explicavam 4,2% das calorias *per capita* (12,3g/dia) consumidas em lares do Irã. Conforme relato de Craig-Schmidt (2006), as dietas na Korea e no Japão possuem pequenas quantidades de AGT, com estimativas de 0,6g/pessoa/dia e 0,1-0,3g/pessoa/dia, respectivamente.

Cantwell e colaboradores (2005) verificaram valores médios de AGT de 1,9% do VET (5,4g/dia) de adultos irlandeses. Em seguida, Cantwell e mais colaboradores (2005) verificaram que as margarinas e produtos de panificação contribuíam com grande proporção da ingestão de

AGT (57%), enquanto as carnes de ruminantes, leites e laticínios tinham menor contribuição (30%) na dieta dos irlandeses.

No Brasil, até o presente momento, não existem registros da ingestão de AGT de abrangência nacional que permitam estimar modificações no padrão de consumo desses AG pela população brasileira. Dispõe-se somente do estudo de Bertolino e colaboradores (2006) que observaram uma redução do consumo de AGT por nipo-brasileiros de São Paulo entre 1993 (5,1% VET para mulheres e 4,7% VET para homens) e 2000 (3,4% VET para mulheres e 3,3% VET para homens). Todavia, nas últimas três décadas, houve aumentos significativos no consumo de alimentos industrializados no Brasil (LEVY-COSTA et al, 2005) e análises de produtos brasileiros indicam a presença importante de AGT (CHIARA et al, 2003; AUED-PIMENTEL et al, 2003; MARTIN et al, 2005).

#### **2.4.2. Limitações na estimativa de consumo de ácidos graxos *trans***

O conteúdo de AGT de alimentos similares varia consideravelmente entre os países (STENDER et al, 2008). Logo, estimativas da ingestão de AGT na dieta variam com os hábitos alimentares e produtos alimentícios das populações (CRAIG-SCHMIDT, 2006). Adicionalmente, como mostrado no estudo de Innis e colaboradores (1999), o conteúdo de AGT varia consideravelmente em um mesmo alimento, refletindo diferentes técnicas de manufatura e processamentos. Esta variação pode levar a erros na estimativa da ingestão individual de AGT e, potencialmente, de grupos.

Portanto, estimativas da ingestão de AGT devem ser obtidas usando tabelas de composição de alimentos nacionais e atualizadas com valores de alimentos específicos, por marca ou tipo de óleo utilizado (INNIS et al, 1999). Idealmente, dados dietéticos devem ser analisados utilizando-se valores da composição dos alimentos que tenham sido coletados durante o mesmo

período de referência. Por sua vez, a obtenção de dados de ingestão detalhada de AG pode necessitar de análises diretas de alimentos (CANTWELL et al, 2005).

A falta de padronização das técnicas de coleta de informação da ingestão pode gerar estimativas de consumo controvertidas (LARQUÈ et al, 2001). Diferentes métodos usados em muitos países são: estimativas baseadas em análises de dados de consumo de população representativa (como recordatório alimentar, registro alimentar e questionário de frequência alimentar), baseadas no conteúdo de AGT de tecidos biológicos (como leite humano, tecido adiposo e membranas de eritrócitos), baseadas em análises laboratoriais de porções duplicatas de dietas ou dietas compostas e baseadas em dados do mercado alimentício. Cada método possui suas vantagens e desvantagens (CRAIG-SCHMIDT, 2006). Outro fator que também exerce influência sobre as estimativas de consumo é a falta de padronização das técnicas de análises dos alimentos.

#### **2.4.3. Análise de ácidos graxos *trans***

Os procedimentos para análises de AGT são baseados em técnicas de cromatografia gasosa, cromatografia de camada delgada impregnada com nitrato de prata, cromatografia líquida com íons de prata, espectroscopia no infravermelho e espectrometria de massa (RATNAYAKE, 2004). Entre esses métodos, a cromatografia gasosa tem sido predominantemente usada devido a sua precisão e conveniência (SHIRASAWA et al, 2007). Nesta, colunas capilares de sílica fundida com 100 metros de comprimento, como a SP-2560 (Supelco<sup>®</sup>), são praticamente obrigatórias para a análise de isômeros *cis-trans*, provendo a melhor resolução desses isômeros geométricos e posicionais (RATNAYAKE, 2004).

Apesar das metodologias desenvolvidas, são necessários métodos oficiais de análises para atender as propostas de regulamentação do conteúdo de AGT dos alimentos (DELMONTE e

RADER, 2007). O FDA, por exemplo, aprova a cromatografia gasosa e espectroscopia no infravermelho como métodos de mensuração da composição de AG para a declaração do conteúdo de AGT nos rótulos dos alimentos (ECKEL et al, 2007). A “*The American Oil Chemists Society* (AOCS)” desenvolveu o método oficial Ce 1h-05 da para determinação da composição de AG, incluindo AGT, que recomenda o uso das colunas SP-2560 ou CP-Sil 88, ambas de 100 metros de comprimento, como adequadas para sua aplicação (figura 3) (AOCS, 2005).

A tabela brasileira TACO utilizou cromatografia gasosa com coluna capilar para a determinação dos AG dos alimentos (TACO, 2006).

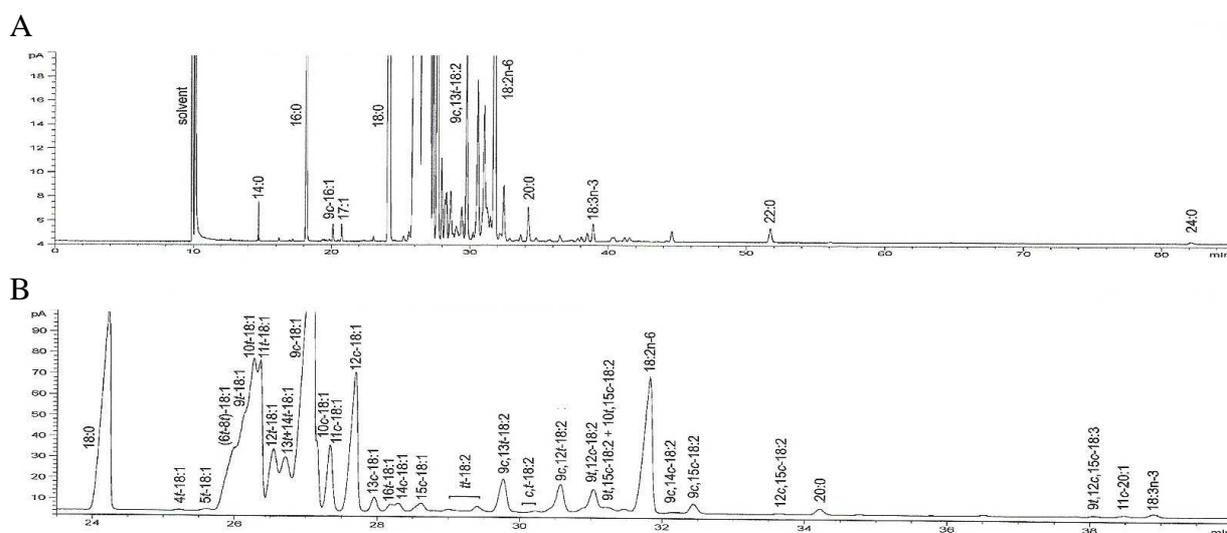


Figura 3: Cromatograma de margarina analisada em coluna capilar SP-2560 (Iso @ 180°C @ 1.0 mL/min (19 cm/s); He; 1:100) pelo método oficial da AOCS Ce 1h-05 (painel A) com região dos isômeros do 18:1, 18:2 e 18:3 ampliada (painel B) (AOCS, 2005).

## 2.5. Metabolismo e efeitos biológicos dos ácidos graxos *trans*

Os AGT provenientes da dieta são absorvidos e transportados até as células, onde são utilizados como fonte de energia ou depositados nos tecidos para utilização futura (CURI, 2002).

Nos tecidos humanos, a absorção, o transporte, a incorporação e a excreção dos AGT ocorrem de forma similar a outros AG dietéticos (IOM, 2002). No entanto, o grau de incorporação de isômeros *cis* e *trans* difere num mesmo tecido ou em tecidos diferentes. Aparentemente, as concentrações de AGT incorporadas aos tecidos refletem seu consumo. Estudos investigando a incorporação dos AGT em tecidos de ratos concluíram que os teores de isômeros *trans* adicionados às dietas foram suficientemente incorporados e metabolizados, alterando o perfil de AG em tecidos desses animais (LOÏ et al, 2000; SABARENSE e MANCINI-FILHO, 2003).

A incorporação de AGT aos tecidos pode ser influenciada pelos níveis de ingestão diária de AG essenciais (AGE). Os AGT interagem de forma competitiva no metabolismo dos AGE, inibindo sua incorporação aos fosfolipídios de membrana e reduzindo sua conversão a eicosanóides nas células. Todavia, esse efeito dos AGT ocorrerá se as concentrações de AGE estiverem baixas, ou seja, ingestões inadequadas dos AGE permitem maior incorporação dos isômeros *trans*. A incorporação dos AGT aos fosfolipídios de membrana pode, ainda, influenciar as propriedades físicas da membrana, assim como a atividade de enzimas associadas a esta (VELENZUELA e MORGADO, 1999).

Em função de sua semelhança estrutural aos AGS, os AGT podem alterar a fluidez das membranas celulares, tornando-as mais rígidas. Conseqüentemente, esses isômeros podem aumentar a fragilidade dos eritrócitos, a dilatação das mitocôndrias pela redução do consumo de oxigênio e síntese de adenosina trifosfato – ATP, e causar alterações na contração dos cardiomiócitos (VELENZUELA e MORGADO, 1999). Devido aos seus efeitos sobre o metabolismo dos AG  $\gamma$ -linolênico e araquidônico (ARA – 20:4 n-6), os AGT também podem afetar o metabolismo das prostaglandinas e de outros eicosanóides e alterar a agregação plaquetária e a função vascular (VELENZUELA e MORGADO, 1999).

Os AGT exercem efeitos sobre os níveis de lipídios séricos, elevando os níveis de LDL e reduzindo os de HDL. Em comparação a ingestão de outras gorduras, os AGT também aumentam os níveis sanguíneos de triacilglicerídeos (TAG), aumentam os níveis de lipoproteína Lp(a), e reduzem o tamanho das partículas de LDL (MOZAFFARIAN et al, 2006; ASCHERIO, 2006). Alguns possíveis mecanismos pelos quais os AGT exercem estes e outros efeitos sobre a saúde humana já foram descritos, mas ainda estão sendo investigados pela comunidade científica.

## **2.6. Implicações na saúde decorrente da ingestão de ácidos graxos *trans***

### **2.6.1. Histórico dos ácidos graxos *trans* na saúde**

O uso de GVH acelerou nos anos 60, 70 e 80 como resposta dos produtores de alimentos às recomendações de saúde pública para remover as gorduras animais e óleos tropicais (como os óleos de coco, de palma e palmiste). Até os anos 90, dados sobre os efeitos dos AGT à saúde eram limitados e contraditórios (ECKEL et al, 2007).

Em 1957, os primeiros dados sobre efeitos dos vários AG à saúde foram publicados por Keys e colaboradores, e nas duas décadas seguintes, tornou-se claro que os AGS aumentavam e os AGP diminuían as concentrações séricas de colesterol e o risco para DCV (KORVER e KATAN, 2006). Nos anos 60 e 70, estudos de Keys e colaboradores e do laboratório de pesquisa da indústria Unilever mostraram um efeito de elevação moderada do colesterol pelas gorduras parcialmente hidrogenadas ricas em AGT, enquanto um estudo dos laboratórios de *Procter and Gamble* não mostraram efeito algum. Nesta época, não havia informações dos efeitos sobre LDL e HDL separadamente. No início dos anos 80, foi solicitada uma investigação sobre a composição das gorduras comestíveis holandesas pela *Netherlands Heart Foundation*, que permitiu que Katan e colaboradores advertissem quanto às grandes quantidades de AGT

presentes nestes alimentos e percebessem a ausência de conhecimentos sobre os AGT (KORVER e KATAN, 2006). Então, em 1990, Mensink e Katan conduziram um estudo de intervenção em humanos e verificaram que os AGT não apenas aumentavam os níveis de LDL tanto quanto os AGS, como também diminuía as concentrações de HDL (MENSINK e KATAN, 1990). Nos anos seguintes, vários outros estudos continuaram a mostrar efeitos similares dos AGT sobre os níveis plasmáticos de LDL e HDL.

### **2.6.2. Ácidos graxos *trans* e fatores de risco para doenças cardiovasculares**

Evidências epidemiológicas têm relacionado a ingestão de AGT ao risco de DCV (ASCHERIO e WILLETT, 1997; WILLETT, 2006). Testes controlados de curta duração em conjunto a estudos observacionais também têm permitido avaliações dos efeitos dos AGT sobre a saúde cardiovascular (MOZAFFARIAN et al, 2006).

Dentre as evidências epidemiológicas, três grandes estudos de coorte relataram a relação entre a ingestão de AGT e o risco de DCV, o “*The Health Professionals Follow-up Study*” (ASCHERIO et al, 1996), o “*The Alpha-Tocoferol Beta-Carotene Study*” (PIETINEN et al, 1997) e o “*The Nurses’ Health Study*” (NHS) (HU et al, 1997). Associação mais forte foi apresentada pelo NHS, devido a repetidas medições das dietas, reduzindo erros na avaliação do consumo de AGT (WILLETT, 2006).

O NHS foi iniciado em 1976, mas os dados sobre ingestão dietética começaram a ser coletados em 1980 (WILLETT, 2006). Os resultados baseados em 10 anos de seguimento do NHS, publicados em 1993, mostraram cerca de 80% de aumento no risco de infarto ou morte por DCV entre mulheres que consumiam as maiores quantidades de AGT (em quintis), e esta associação foi atribuída em quase 70% ao consumo de margarinas em quatro ou mais porções diárias (WILLETT et al, 1993). Posteriormente, em 1997, foram publicadas análises baseadas em

14 anos de seguimento do NHS que verificaram que os AGT foram mais fortemente associados ao risco de DCV que os AGS, quando comparados em dietas com mesmo valor calórico proveniente dos carboidratos (HU et al, 1997). Mais recentemente, publicação em 2005, as análises do NHS baseadas em 20 anos de seguimento encontraram novamente uma alta associação positiva de DCV com AGT (OH et al, 2005). Os resultados desses estudos prospectivos possibilitaram estimar cerca de 25% de aumento do risco de DCV para um aumento de 2% de energia proveniente de AGT (WILLETT, 2006).

Oomen e colaboradores (2001) também verificaram que uma alta ingestão de AGT contribuiu para o risco de DCV em homens do “*The Zutphen Elderly Study*” após 10 anos de seguimento desse estudo.

Uma meta-análise realizada por Mozaffarian e colaboradores (2006) envolvendo esses quatro estudos de coorte confirmou a relação entre os AGT e o risco de DCV, encontrando aumento de 23% na incidência de DCV para um aumento de 2% na ingestão de energia proveniente de AGT, associação tão forte como a do NHS (WILLETT, 2006). Segundo os autores, a adição de outros três estudos caso-controle a esta meta-análise aumentou ainda mais a magnitude desta associação (figura 4).

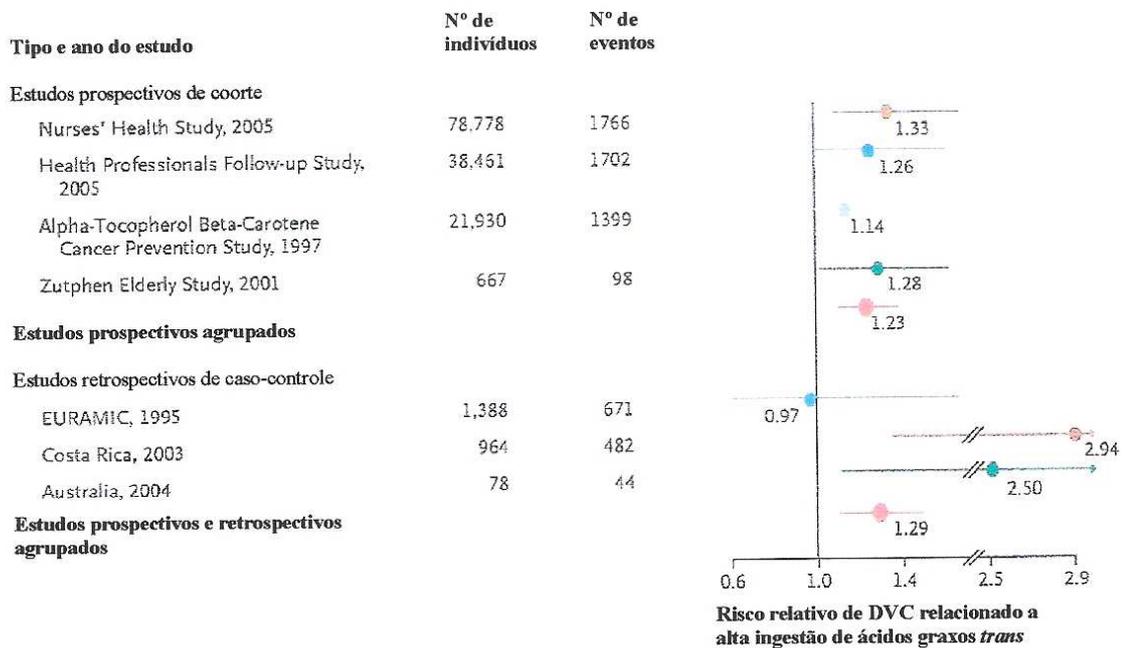


Figura 4: Risco relativo ajustado a multivariáveis de doença cardiovascular associado com a ingestão de ácidos graxos *trans*. Baseado em meta-análise realizada por Mozaffarian e colaboradores (2006).

Em um destes estudos caso-controle, Baylin e colaboradores (2003) relataram que os níveis totais de AGT foram positivamente associados com risco de infarto não fatal do miocárdio. Após ajuste para fatores de risco e outros confundidores, a razão de chances para os indivíduos no quintil 5 foi de 2,94 (intervalo de confiança entre 1,36 e 6,37, e  $p < 0,004$ ) entre o total de AGT do tecido adiposo e o risco para infarto do miocárdio. Essa associação foi atribuída principalmente aos isômeros 18:2 *trans*. Segundo os autores, considerando os baixos níveis de 18:2 *trans* no tecido adiposo (cerca de 1% da gordura total), os dados sugeriam que os isômeros 18:2 *trans* poderiam ser mais aterogênicos que os 18:1 *trans*. Posteriormente, Cólón-Ramos e colaboradores (2006) verificaram que a ingestão de AGT na Costa Rica diminuiu e também os níveis de AGT no tecido adiposo da população. Conseqüentemente, nestes níveis mais baixos de ingestão, os AGT não foram associados ao risco de infarto do miocárdio.

Estudo caso-controle de Clifton e colaboradores (2004) mostrou associação positiva entre os níveis de AGT e o risco de infarto do miocárdio e ainda, que esta associação diminuiu para os pacientes caso e controle com a remoção dos AGT das margarinas comercializadas na Austrália, pois os AGT rapidamente desapareceram do tecido adiposo.

Em meta-análise de doze estudos controlados, Mozaffarian e colaboradores (2006) verificaram que, em comparação com consumo isocalórico de energia proveniente de AGS ou AGI *cis*, o consumo de AGT eleva os níveis de LDL, reduzem os de HDL e aumentam a razão de colesterol total para HDL, um potente preditor de risco para DCV (figura 5).

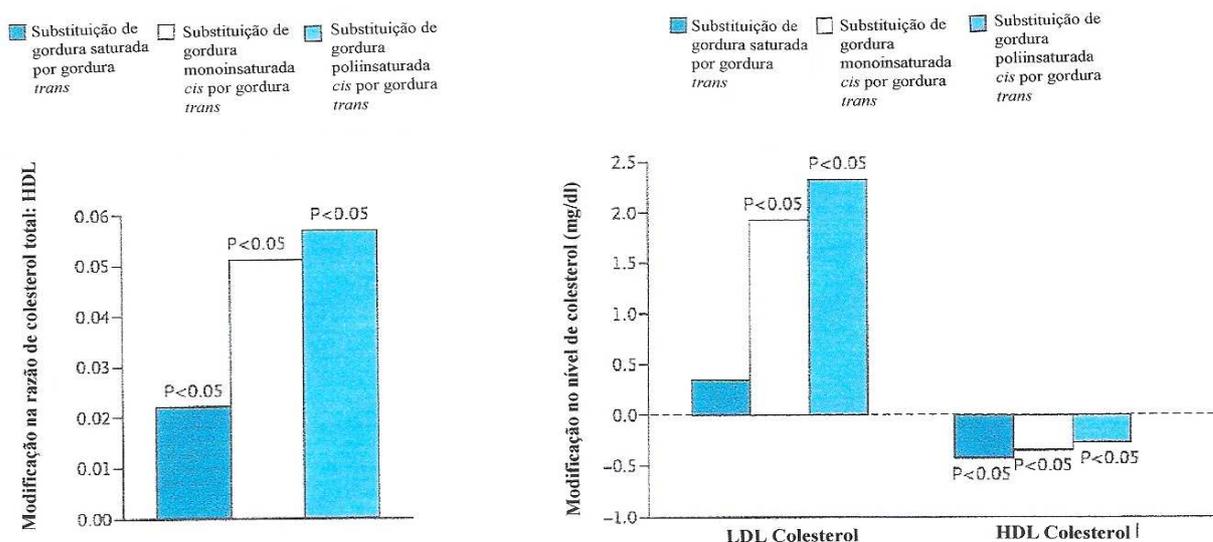


Figura 5: Mudanças na razão de colesterol total para HDL (painel A) e níveis de LDL e HDL (painel B) resultantes da substituição de ácidos graxos saturados ou *cis* insaturados por ácidos graxos *trans*. Baseadas em meta-análise realizada por Mozaffarian e colaboradores (2006).

Em meta-análise de 60 estudos controlados, Mensink e colaboradores (2003) mostraram que quando uma mistura de carboidratos e AGI *cis* era isoenergeticamente substituída por AGT, a razão de colesterol total para HDL aumentava, e este efeito foi duas vezes maior que o efeito causado quando a substituição era feita por AGS. Os autores concluíram que a substituição de

AGT por AGI provenientes de óleos não hidrogenados seria a única forma efetiva de melhorar o perfil de lipídios sanguíneos.

Considerando que o aumento das concentrações plasmáticas de LDL e apoB, a maior apolipoproteína em LDL, e níveis reduzidos de HDL e apoA-I, a principal apolipoproteína em HDL, contribuem grandemente para o risco de DCV, Dashti e colaboradores (2002) desenvolveram um estudo *in vitro* e verificaram que em relação aos AGS e AGP *cis*, os *trans* afetam de forma mais adversa a concentração e a composição de lipoproteínas contendo apoA-I e apoB e, conseqüentemente, seriam mais aterogênicos.

Em estudo caso-controle sobre AGT de membranas celulares e a ocorrência de morte súbita cardíaca, Lemaitre e colaboradores (2002) sugeriram forte associação entre os isômeros 18:2 *trans* e estas mortes, enquanto a associação modesta dos 18:1 *trans* a morte súbita cardíaca foi devida apenas à associação destes isômeros aos 18:2 *trans*.

Dyerberg e colaboradores (2004) examinaram os efeitos sobre marcadores do risco de DCV causados por dietas enriquecidas com AGT, e seus resultados indicaram associação modesta entre o risco de DCV e a ingestão de AGT.

Mozaffarian e colaboradores (2007) também observaram que a ingestão de 12g de AGT/dia no Irã (cerca de 4% do VET) contribui para proporção significativa dos eventos de DCV naquele país.

Sun e colaboradores (2007) verificaram associações positivas entre o conteúdo de AGT de eritrócitos e o risco de DCV em mulheres, sendo que o risco de mulheres com ingestão mais alta de AGT era três vezes maior que o risco de mulheres com ingestão mais baixa (em quartis). Neste estudo, o alto conteúdo de AGT em eritrócitos foi associado a redução significativa das concentrações plasmáticas de HDL, aumento significativo da razão de LDL para HDL, e ao aumento de LDL, mas este não foi significativo ( $p=0,06$ ).

Estes estudos apontam para uma capacidade dos AGT em modular o perfil lipídico das lipoproteínas séricas e contribuir para a gênese das DCV. Todavia, ainda há necessidade de mais estudos que elucidem os mecanismos pelos quais os AGT alteram o metabolismo lipídico. Algumas propostas serão abordadas à diante.

### **2.6.3. Efeitos dos ácidos graxos *trans* nas inflamações e função celular endotelial**

Evidências recentes indicam que os AGT promovem inflamação. A inflamação é um fator de risco independente para aterosclerose, morte cardíaca súbita e diabetes e, portanto, os efeitos inflamatórios dos AGT podem explicar em parte seus efeitos sobre a saúde cardiovascular (MOZAFFARIAN et al, 2006). Vários estudos sugerem que os AGT também podem causar disfunção endotelial (MOZAFFARIAN et al, 2006). Por sua vez, a disfunção celular endotelial tem papel importante no desenvolvimento e progressão da aterosclerose e outras DCV (LOPEZ-GARCIA et al, 2005; ZAPOLSKA-DOWNAR et al, 2005).

Mozaffarian e colaboradores (2004) verificaram associação positiva entre a ingestão de AGT e concentrações de marcadores de inflamação em mulheres. A maior ingestão de AGT foi associada ao aumento da atividade do sistema de fator de necrose tumoral (TNF) e, entre as mulheres com maior índice de massa corporal (IMC), a maior ingestão de AGT também foi associada ao aumento dos níveis de interleucina-6 e proteína-C reativa. Em outro estudo com pacientes cardíacos, Mozaffarian e colaboradores (2004) também verificaram associação entre os níveis de AGT das membranas de eritrócitos e níveis elevados de interleucina-6, de TNF- $\alpha$ , de receptores de TNF e de proteína quimioatrativa de monócito 1.

No estudo de Baer e colaboradores (2004), a ingestão de dieta com 8% de energia proveniente de AGT em comparação a o mesmo teor de ácido oléico, durante cinco semanas, aumentou os níveis plasmáticos de interleucina-6 e proteína-C reativa. Os efeitos inflamatórios

dos AGT não diferiram significativamente dos efeitos dos AGS. As concentrações de E-selectina, um marcador da disfunção endotelial, foram maiores após o consumo de AGT do que o consumo isocalórico de carboidratos, AGS e ácido oléico.

Lopez-Garcia e colaboradores (2005) também associaram positivamente alta ingestão de AGT e o aumento da atividade do sistema TNF e aumento dos níveis de interleucina-6 e proteína-C reativa. Neste estudo, alta ingestão de AGT foi associada com níveis aumentados de marcadores da disfunção endotelial, como E-selectina, sendo estes efeitos dos AGT independentes do IMC. Logo, os autores sugeriram que uma alta ingestão de AGT pode afetar adversamente a função celular endotelial.

#### **2.6.4. Ácidos graxos *trans* e diabetes**

Estudos de Salmerón e colaboradores (2001) e de Hu e colaboradores (2001) mostraram associação positiva entre a ingestão de AGT e os riscos para diabetes. Entretanto, os AGT não foram significativamente associados aos riscos de diabetes nos estudos de Van Dam e colaboradores (2001) e de Meyer e colaboradores (2001).

Segundo Odegaard e Pereira (2006), a literatura sobre associações entre os AGT e a diabetes e a resistência à insulina é conflitante e limitada. Como ilustrado, os estudos observacionais são contraditórios e existem poucos estudos clínicos sobre esta associação, sendo também equívocos. No entanto, estudos em animais, como os de Axen e colaboradores (2003), de Natarajan e colaboradores (2005) e de Kavanagh e colaboradores (2007), têm indicado efeitos negativos dos AGT sobre os potenciais mecanismos biológicos relacionados a diabetes.

Os mecanismos moleculares que podem contribuir para um efeito dos AGT sobre a incidência de diabetes não são bem estabelecidos, mas podem estar relacionados aos efeitos dos *trans* sobre o metabolismo nos adipócitos e sobre a inflamação (MOZAFFARIAN et al, 2006).

### 2.6.5. Efeitos dos ácidos graxos *trans* sobre a saúde materno-infantil

Tanto o feto quanto o lactente são expostos aos AGT em consequência da ingestão materna. Os AGT provenientes da dieta da gestante são transferidos para o feto por via placentária (ELIAS e INNIS, 2001). Também podem ser transferidos para a criança durante a amamentação, pois os *trans* da dieta da mãe são incorporados ao leite materno (SZABÓ et al, 2007; TINOCO et al, 2008).

Níveis de AGT inversamente relacionados à duração da gestação e ao peso e comprimento ao nascer foram encontrados por Elias e Innis (2001). Os isômeros *trans* podem prejudicar o crescimento e desenvolvimento pela inibição da dessaturação dos ácidos linoléico e  $\alpha$ -linolênico para o ARA e ácido docosahexaenóico (DHA), bem como pelo favorecimento do metabolismo de AGT monoênicos e de AG n-6 ou n-3 em isômeros incomuns que são incorporados pelos tecidos e alteram a função das membranas ou dos eicosanóides (INNIS e KING, 1999; INNIS, 2006). O ARA e o DHA são importantes para o crescimento e desenvolvimento pré e pós-natal, pois um é importante precursor de eicosanóides e o outro está envolvido nas funções neural e visual, respectivamente (INNIS, 2006).

Em revisão sobre os efeitos dos AGT sobre a saúde materno infantil, Chiara e colaboradores (2002) consideraram que o consumo de *trans* no período gestacional pode contribuir para que o processo de aterogênese tenha início ainda na fase intra-uterina. Relação inversa entre os AGT e os AGP de cadeia longa nos lipídios sanguíneos do cordão umbilical de recém-nascidos a termo foi demonstrada pelos estudos de Decsi e colaboradores (2001) e de Elias e Innis (2001), também sugerindo que os efeitos deletérios dos AGT podem iniciar-se na fase intra-uterina.

Williams e colaboradores (1998) relataram que os AGT podem ocasionar maiores riscos de pré-eclâmpsia, mas a explicação para esse processo ainda não é conclusiva. Todavia, apesar

desse e de outros dados apontarem para efeitos negativos dos AGT sobre a saúde materno-infantil, estudos comprobatórios ainda são necessários (LARQUÉ et al, 2001).

#### **2.6.5. Ácidos graxos *trans* e câncer**

Embora seja sugerido que o aumento de risco de câncer é causado pelos AGT, seus efeitos sobre o câncer ainda são contraditórios (STENDER e DYERBERG, 2004). O “*The EURAMIC Study*” investigou a associação entre os AGT no tecido adiposo e a incidência de cânceres de mama, próstata e cólon, e demonstrou uma associação positiva entre os AGT e os cânceres de mama e cólon, mas não de próstata (BAKKER et al, 1997; KOHLMEIER et al, 1997). Estudo caso-controle de Slattery e colaboradores (2001) também sugeriu relação entre os AGT e risco aumentado de câncer de cólon. Entretanto, os estudos de McKelvey e colaboradores (1999) e de Holmes e colaboradores (1999) não encontraram associações entre a ingestão de AGT e os diferentes cânceres investigados.

#### **2.6.6. Mecanismos moleculares dos ácidos graxos *trans***

Os AG são capazes de modular a função celular, alterando a fluidez de membrana e as respostas dos receptores de membrana, pela sua incorporação aos fosfolipídios das membranas celulares (GURR e HARWOOD, 1991; ROACH et al, 2004). Em uma revisão sobre possíveis mecanismos moleculares dos AGT, Mozaffarian e colaboradores (2006) colocaram que os AG também se ligam e modulam receptores nucleares que regulam a transcrição de genes. Segundo estes autores, por estes e outros efeitos dos AG, os AGT poderiam afetar as funções e respostas de muitos tipos de células (figura 6).

*In vitro*, os AGT alteram a secreção, composição lipídica e tamanho das partículas de apolipoproteína B-100 (apoB-100) produzidas por células hepáticas. Estas alterações são

paralelas em estudos em humanos pela diminuição das taxas de catabolismo de LDL apoB-100, redução do tamanho de partículas de colesterol LDL, aumento das taxas de catabolismo de apoA-I, e mudanças nos níveis de lipídios séricos. Os AGT também aumentam o acúmulo celular e a secreção de colesterol livre e ésteres de colesterol pelos hepatócitos *in vitro*. Em humanos, o consumo de AGT aumenta a atividade plasmática da proteína colesteril-éster transferase (CETP), a principal enzima responsável pela transferência de ésteres de colesterol das HDL para LDL e lipoproteínas muito baixa densidade (VLDL). Esta atividade aumentada poderia explicar as diminuições nos níveis de HDL e aumentos dos níveis de LDL e VLDL observadas com a ingestão de AGT (MOZAFFARIAN et al, 2006).

A relação entre os AGT e os mecanismos inflamatórios e outros mecanismos não-lipídicos não são bem estabelecidos. Os AGT modulariam as respostas de macrófagos e monócitos em humanos, aumentando a produção de TNF- $\alpha$  e interleucina-6 pelos monócitos e, possivelmente, também os níveis de proteína quimioatrativa de monócito 1. Os AGT também afetariam a função vascular, pois têm mostrado aumentar a circulação de biomarcadores de disfunção endotelial. Os AGT também poderiam influenciar o metabolismo de AG dos adipócitos (MOZAFFARIAN et al, 2006).

Portanto, existem vários mecanismos possíveis pelos quais os AGT podem afetar os fatores de risco lipídicos e não-lipídicos para DCV. Como colocado por Mozaffarian e colaboradores (2006), cada mecanismo precisa de investigações adicionais, particularmente a potencial influência dos AGT nos receptores nucleares, receptores de membrana, e fluidez das membranas.

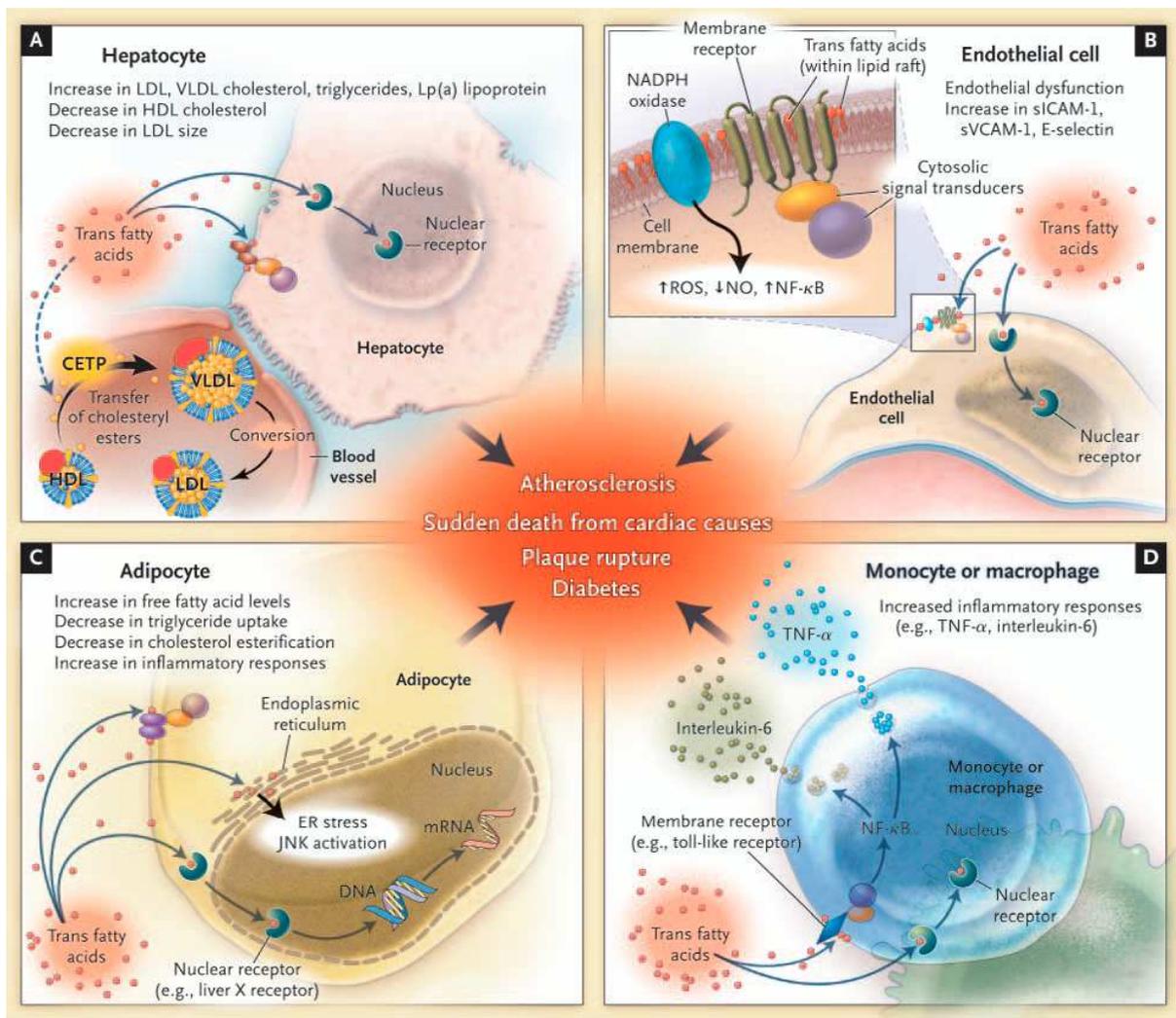


Figura 6: Efeitos fisiológicos potenciais dos ácidos graxos *trans* (MOZAFFARIAN et al, 2006).

## 2.7. Ácidos graxos *trans* de ruminantes

Não há certeza se os AGT de ruminantes também estão associados a DCV, já que são desconhecidas as bases metabólicas para diferentes efeitos das duas fontes primárias de AGT (MOZAFFARIAN et al, 2006; WILLETT, 2006). Estudos epidemiológicos têm mostrado que a ingestão de AGT de ruminantes é inócua ou até protetora contra DCV (JAKOBSEN et al, 2006). Em humanos, o ácido vacênico presente na gordura dos ruminantes é precursor do ácido

rumênico (18:2,9c,11t), um CLA, que teria efeitos metabólicos positivos à saúde humana, mas as evidências são contraditórias e inconclusivas (STENDER et al, 2008).

Evidências epidemiológicas indicam que o total de AGT de fontes naturais, nas quantidades consumidas usualmente nas dietas, não contribuem de maneira importante para riscos de DCV, mas também não apóiam um efeito benéfico dos AGT de ruminantes ou CLA (WILLETT e MOZAFFARIAN, 2008).

Recentemente, dois grupos de pesquisadores realizaram estudos controlados comparando os efeitos de AGT produzidos industrialmente e de ruminantes nos lipídios sanguíneos. Chardigny e colaboradores (2008) mostraram que os AGT produzidos industrialmente e de ruminantes (representando aproximadamente 5% da energia da dieta) exerceram efeitos diferentes nos fatores de risco para DCV apenas em mulheres, já que nelas os AGT produzidos industrialmente diminuíram as concentrações de HDL e LDL comparados ao AGT de ruminantes, e observaram que a propriedade de diminuir o HDL parece ser específica dos AGT produzidos industrialmente. Motard-Bélanger e colaboradores (2008) verificaram que uma alta ingestão de AGT de ruminantes (3,7% da energia) afetou adversamente a homeostase do colesterol, enquanto que uma ingestão moderada deste (1,5% da energia) teve efeitos neutros nos lipídios plasmáticos e em outros fatores de risco para DCV.

Embora relevantes, como colocado por Willett e Mozaffarian (2008), estes resultados não apóiam totalmente um efeito benéfico dos AGT de ruminantes, mas permanece a possibilidade de efeitos metabólicos diferentes destes AGT e dos produzidos industrialmente, pelo menos para a ingestão de pequenas quantidades usualmente consumidas. Isso porque, em ambos estudos, a quantidade de AGT de ruminantes usada excedeu a ingestão destes componentes nas dietas usuais, que para a maioria das pessoas é menor que 1% da energia.

## **2.8. Redução dos ácidos graxos *trans* na dieta**

### **2.8.1. Estratégias para reduzir o consumo de ácidos graxos *trans***

Considerando os efeitos adversos à saúde associados à ingestão de AGT, principalmente o aumento de risco para DCV, vários países têm se esforçado para eliminar as gorduras *trans* dos alimentos e, conseqüentemente, da dieta de suas populações. Para tanto, vários governos adotaram ou estão considerando adotar ações de regulamentação, com estabelecimento de legislações, para eliminar essas gorduras produzidas industrialmente (OPAS/OMS, 2007).

Na Dinamarca, desde 2004, foi aprovada legislação limitando o uso de gorduras *trans* a não mais que 2% da quantidade total de gordura nos produtos alimentícios, incluindo os importados e os servidos em restaurantes (STENDER et al, 2006). No Canadá, em 2005, a rotulagem nutricional obrigatória do conteúdo de AGT em produtos industrializados foi regulamentada. Ainda sim, desde 2006, este país tem considerado a adoção de legislação para também limitar o conteúdo de AGT nos alimentos, de forma que os *trans* não excedam 2% da gordura total em óleos vegetais e margarinas e 5% em todos os outros alimentos (*TRANSforming the food supply*, 2006). Nos EUA, em 2006, foi determinada a inclusão obrigatória de gorduras *trans* nos rótulos dos produtos americanos (FDA, 2005). Em Comitê multissetorial sobre gorduras e óleos da Costa Rica foi recentemente defendida proposta de redução da ingestão de AGT e inclusão de gorduras *trans* na rotulagem nutricional nos países Centro-americanos (OPAS/OMS, 2007). No Brasil, em 2003, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de AGT nos produtos alimentícios, cujo prazo concedido para adequação das indústrias encerrou-se em 2006 (Resolução n. 360, 2003). Na Argentina, Paraguai e Uruguai, acompanhando a legislação

brasileira, a rotulagem obrigatória de alimentos com declaração do conteúdo de AGT foi proposta em 2006 (OPAS/OMS, 2007).

A indústria alimentícia também tem adotado medidas para eliminar as gorduras trans de seus produtos. Segundo relatório “Américas livres de gordura *trans*” da OPAS/OMS (2007), empresas multinacionais como Unilever e Kraft Foods, têm feito declarações sobre metas para eliminar as gorduras trans de todos os seus produtos. Também na Costa Rica, a maior indústria local de óleo vegetal e margarina voluntariamente reduziu de forma progressiva o conteúdo de gordura *trans* dos seus produtos. Uma rede internacional de lanchonetes *fast food* praticamente eliminou as gorduras *trans* de seus produtos em países como Dinamarca e China (STENDER et al, 2006). Entretanto, muitas indústrias alimentícias e serviços de alimentação ainda não adotaram medidas para eliminar as gorduras trans dos alimentos produzidos ou servidos (OPAS/OMS, 2007).

Em países como a Holanda, os AGT produzidos industrialmente foram eliminados como resultado de iniciativas das indústrias, iniciadas em 1995, sem interferência governamental (KATAN, 2006). Na Austrália e na Nova Zelândia, não há regulamentações, mas os governos estão trabalhando juntos para reduzir os AGT nos produtos alimentícios, advertindo os consumidores e estimulando iniciativas industriais (GLADDING e BENATAR, 2007).

Essas ações governamentais juntamente aos esforços das indústrias têm causado rápidas adaptações na composição dos produtos comercializados para redução dos AGT. A introdução de novas matérias primas substitutas a GVH tem possibilitado tais modificações.

### **2.8.2. Alternativas para a hidrogenação parcial de óleos vegetais**

No intuito de minimizar o conteúdo de AGT de seus produtos, diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas e usadas pelas indústrias de óleos comestíveis e alimentos, como

modificações no processo da hidrogenação, a produção de sementes com composições de AG modificadas, o uso e fracionamento de óleos tropicais e a interesterificação (TARRAGO-TRANI et al, 2006).

Como exposto anteriormente, modificações nas condições do processo de hidrogenação afetam a composição de AG do óleo resultante, incluindo a quantidade de AGT (HUNTER, 2005; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

A manipulação da composição de AG de sementes de óleos comestíveis pode ser realizada utilizando técnicas de melhoramento genético tradicional e de engenharia genética. Estas ferramentas possibilitam, por exemplo, a produção de sementes de soja mutantes com menor quantidade de ácido linolênico e maior quantidade de oléico, aumentando sua estabilidade à oxidação. Ou ainda, a produção de sementes de soja com maior ou menor conteúdo de AGS para, respectivamente, evitar a necessidade de hidrogenação ou aumentar seu valor nutricional (HUNTER, 2005; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

Óleos tropicais, como o de palma, palmiste e de coco, têm sido considerados principais candidatos para substituir as GVH, especialmente em produtos de panificação e confeitaria. O fracionamento desses óleos por métodos físicos permite o isolamento de frações (sólida e líquida) com diferentes pontos de fusão favoráveis a numerosas aplicações. Por exemplo, produtos típicos do fracionamento do óleo de palma são oleína de palma, usada como ingredientes em óleos de salada e cocção (fração líquida), e estearina de palma, usada em margarinas e gorduras vegetais para fritura (fração sólida) (HUNTER, 2005; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

A interesterificação é a hidrólise da ligação éster entre o AG e o glicerol e a reformação subsequente da ligação éster entre a mistura de AG livres e glicerol. Em outras palavras, esse processo envolve o rearranjo dos AG na estrutura do glicerol da gordura (TAG) na presença de um catalisador químico ou de uma enzima. Logo, a interesterificação pode ser química ou

enzimática. Ambas modificam o ponto de fusão e comportamento de cristalização da gordura, mantendo as propriedades físicas, sabor e estabilidade, mas possibilitam a produção de gorduras livres ou com teor muito baixo de AGT. A interesterificação é usualmente feita pela mistura de gorduras ricas em AGS com óleos líquidos comestíveis para produzir gorduras com características intermediárias (HUNTER, 2005; TARRAGO-TRANI et al, 2006).

Atenção deve ser dada aos produtos reformulados com as técnicas descritas, visto que, em geral, quando o conteúdo de AGT é reduzido, o conteúdo de AGS aumenta (NIELSEN, 2006). Entretanto, as substituições das GVH tradicionalmente ricas em AGT têm sido feitas sem efeitos adversos ao consumidor (NIELSEN, 2006). Como exemplo, na Dinamarca, contrariando a preocupação com o aumento do consumo de AGS em consequência da diminuição das GVH, evidências sugerem que a legislação desse país não resultou num maior consumo total de AGS. Ainda, as indústrias parecem tirar vantagens dos custos e esforços para reformulação de produtos, de forma a torná-los mais saudáveis e evitar a substituição de um problema por outro (STENDER et al, 2006; WILLETT e MOZAFFARIAN, 2008).

Considerando as tecnologias existentes, nota-se que, para muitas aplicações, a reformulação dos produtos alimentícios para reduzir os AGT é mais uma decisão econômica do que um desafio técnico (ECKEL et al, 2007). Os custos e a capacidade do processo afetam o valor (preço) dos ingredientes baseados em óleos e gorduras, assim como a disponibilidade e custos da matéria-prima utilizada (NIELSEN, 2006). Todavia, segundo Nielsen (2006), o mercado de matérias-primas (como óleo de palma, palmiste e óleo de coco) tem sido capaz de absorver as mudanças na demanda desses materiais, e os custos de processos como a interesterificação e o fracionamento não são maiores que os da hidrogenação tradicional.

Diante da problemática exposta nesta revisão relacionada aos efeitos à saúde causados pela ingestão de AGT e as dificuldades para estimativas desta ingestão, verifica-se, portanto, a necessidade de análises quantitativas do conteúdo de AGT em alimentos, a fim de se avaliar as diversas fontes da dieta. Estas análises auxiliarão no desenvolvimento de instrumentos que reflitam o consumo habitual de AGT e, por sua vez, possibilitarão estimar sua ingestão diária na população do DF e, futuramente, na população brasileira em geral.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral:

Estabelecer o perfil e o conteúdo de ácidos graxos de alimentos fontes de ácidos graxos *trans* na população adulta do Distrito Federal.

#### 3.2. Objetivos específicos:

- Determinar o conteúdo de ácidos graxos dos alimentos fontes de ácidos graxos *trans* consumidos pela população adulta do Distrito Federal;
- Comparar os conteúdos de ácidos graxos *trans* dos alimentos analisados obtidos em laboratório aos valores apresentados nos respectivos rótulos e na tabela de composição de alimentos;
- Avaliar a variabilidade no conteúdo de ácidos graxos *trans* de um alimento, em função dos diferentes produtos comercializados e fabricantes.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Tipo do estudo**

O presente trabalho é uma pesquisa de natureza quantitativa que trata da identificação e quantificação de AG de alimentos fontes de AGT, como parte de um estudo maior de validação de um instrumento de consumo alimentar da população adulta do DF. Este trabalho contou com a participação de 106 indivíduos adultos de uma amostra aleatória de 240 moradores de duas regiões administrativas do DF, selecionadas para investigar fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT no DF, conforme detalhado em publicação anterior (YOKOTA et al, 2007).

### **4.2. Processo de identificação e escolha dos alimentos analisados**

Foi aplicado um recordatório de 24 horas (R24) na população em estudo e, então, obtida uma listagem de todos os alimentos citados em cada recordatório. Neste, o consumo dos alimentos foi obtido em medidas caseiras e, posteriormente, convertido em grama com auxílio do software NUTWIN (versão 1.5, 2002). Todos os alimentos citados foram ordenados pela sua contribuição percentual relativa à ingestão total de AGT, e aqueles que contribuíram com até 95% da ingestão desse nutriente foram considerados representativos de seu consumo (BLOCK et al, 1986). A contribuição percentual relativa foi estimada pela somatória do nutriente em todas as refeições de todos os participantes e de todos os alimentos registrados no R24. Foram excluídos desta lista alimentos com baixa frequência de consumo (citados menos de duas vezes). A análise nutricional também foi realizada no NUTWIN, que utiliza a base de dados do *United States Department of Agriculture – USDA* (1999).

De acordo com a base de dados utilizada, 6 alimentos, listados na tabela 1, contribuíram com cerca de 95% da ingestão de AGT. Todavia, um pequeno total de 11 alimentos foram citados nos R24 e optou-se por analisar todos eles: biscoito recheado (sabor chocolate), biscoito cream crackers, margarina, leite integral, requeijão cremoso, mistura para bolo (sabor baunilha), pão de hambúrguer, azeite de oliva, salsicha tipo *hot dog*, batata frita de serviços de alimentação e carne bovina para bife (coxão mole).

Tabela 1: Alimentos citados nos R24 que contribuíram com cerca de 95% da ingestão de ácidos graxos *trans* na população do DF, segundo base de dados do USDA (1999).

ALIMENTOS	CONTRIBUIÇÃO PERCENTUAL RELATIVA (%)
Biscoito recheado	33,61
Biscoito cream cracker	27,15
Carne bovina para bife	15,38
Margarina	14,02
Leite integral fluido	3,26
Mistura para bolo	2,67
	<b>96,12 %</b>

Na aplicação do R24, foram colhidas informações sobre produtos e marcas mais consumidas dos alimentos fontes de AGT e informações sobre os locais de compras desses (se supermercados, padarias e outros).

Para todos os alimentos fontes de AGT, os produtos relatados em maior frequência foram adquiridos para análise quanto ao seu conteúdo de AG. Para cada alimento (exemplos: biscoito recheado e margarina), foi analisado mais de um produto (exemplos: Bono chocolate e Qualy cremosa), de mesma ou de diferentes marcas (exemplos: Nestlé e Sadia), conforme a diversidade e a frequência com que foram citados nos R24. Ou seja, quanto maior foi número de diferentes produtos citados pela população, maior foi o número de diferentes produtos analisados daquele

alimento. Para melhor entendimento do plano de amostragem dos alimentos, as seguintes denominações foram utilizadas:

- Alimento ou categoria: nome genérico do alimento, em função de suas características peculiares (exemplos: biscoitos, margarina, etc).
- Marca: elemento que identifica um ou vários produtos do mesmo fabricante e que os distingue de produtos de outros fabricantes, segundo a legislação de propriedade industrial.
- Produto: nome comercial dado para designação do alimento, no intuito de distingui-lo de outros, ainda que da mesma categoria (natureza) ou do mesmo fabricante ou marca.
- Lote: conjunto de produtos de um mesmo tipo, processados pelo mesmo fabricante, em um espaço de tempo determinado, sob condições essencialmente iguais.

Os produtos alimentícios foram coletados em quatro supermercados e dois serviços de alimentação (lanchonetes) referidos pelos participantes como locais de suas compras e lanches. Informações nutricionais trazidas nos rótulos dos produtos analisados, sempre que presentes, foram anotadas para posterior comparação com os resultados das análises.

Os produtos mais citados de cada alimento foram adquiridos em três lotes diferentes e analisados separadamente, totalizando 85 amostras (tabela 2). Dos azeites, apenas um lote de cada produto foi analisado por não ser um alimento considerado fonte comum de AGT, mas ter sido identificado como tal segundo a base de dados do USDA (1999). O coxão mole também foi analisado como amostra única, sendo a peça de carne adquirida em um supermercado comum à população do estudo. Todas as amostras foram analisadas no Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade de Brasília (UnB).

Tabela 2: Número de produtos e total de amostras analisados para cada alimento.

ALIMENTOS	NÚMERO DE PRODUTOS	NÚMERO DE LOTES	TOTAL DE AMOSTRAS
Biscoito recheado	4	3	12
Biscoito cream cracker	4	3	12
Margarina	4	3	12
Leite integral fluido	4	3	12
Requeijão cremoso	3	3	9
Salsicha	3	3	9
Mistura para bolo	2	3	6
Batata frita	2	3	6
Pão de hambúrguer	1	3	3
Azeite de oliva	3	1	3
Coxão mole	1	1	1

### 4.3. Análise de ácidos graxos nos alimentos

#### 4.3.1. Reagentes e padrões

Para realização deste estudo foram utilizados vários solventes orgânicos, reagentes sólidos e padrões comerciais de metil ésteres de AG. Clorofórmio, éter dietílico, hexano, isoctano e o ácido sulfúrico eram da marca Vetec (Vetec<sup>®</sup> Química Fina LTDA, Brasil). Metanol e tolueno eram da marca Cromoline (Cromoline<sup>®</sup> Química Fina, Brasil). Os reagentes sólidos KCl e NaCl também pertenciam à marca Cromoline, e o KHCO<sub>3</sub> utilizado era da marca Vetec. Foram utilizados os padrões externos de AG *Supelco 37 component FAME mix* (Supelco<sup>®</sup>, USA) e *Methyl trans-9-hexadecenoate* (AccuStandard<sup>®</sup>, USA) e o padrão interno *Methyl Undecanoate* (Sigma<sup>®</sup>, Germany).

#### 4.3.2. Homogeneização das amostras

A homogeneização das amostras para análise foi realizada imediatamente após abertura das embalagens dos alimentos à temperatura ambiente. Porções dos alimentos sólidos foram

homogeneizadas em solução salina a 0,9% utilizando um mini-processador HC31 (Black & Decker<sup>®</sup>, Brasil) por tempo determinado, conforme procedimentos descritos no quadro 1 abaixo. Alimentos líquidos ou cremosos como os azeites, leites, margarinas e requeijões foram agitados em suas próprias embalagens ou diretamente acondicionados em tubos de vidro junto à solução salina 0,9%, sem auxílio do mini-processador.

Quadro 1: Descrição dos procedimentos para homogeneização dos alimentos analisados.

ALIMENTOS	PROCEDIMENTOS PARA HOMOGENEIZAÇÃO
Margarina	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Retirar a quantidade de uma colher de sobremesa do meio do pote;</li><li>2) Pesar 100mg da amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>3) Adicionar 3ml de solução salina 0,9% ao tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Azeite de oliva	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Agitar a lata;</li><li>2) Acondicionar cerca de 2ml em tubo de ensaio;</li><li>3) Pesar 100mg da amostra em tubo de vidro 18x150mm, utilizando pipeta Pasteur;</li><li>4) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Leite integral fluido	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Agitar a caixa;</li><li>2) Medir 100ml em um becker de vidro;</li><li>3) Pipetar 2ml da amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de pipeta de vidro milimetrada e pêra de sucção (não adicionar solução salina).</li></ol>
Requeijão cremoso	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Retirar a quantidade de uma colher de sobremesa do meio do pote;</li><li>2) Pesar 200mg da amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>3) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Mistura para bolo de baunilha	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Pesar 500mg do pó da amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>2) Adicionar 4ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Pão de hambúrguer	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Picar e pesar 1 pão inteiro em pedaços menores;</li><li>2) Triturar no mini-processador por 1 minuto e 30 segundos e pesar o pó triturado;</li><li>3) Liquidificar o pó com 50ml de solução salina 0,9% no mini-processador por 2 minutos;</li><li>4) Pesar a pasta total obtida;</li><li>5) Pesar 1,1g de pasta como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>6) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>

Quadro 1 (continuação)

---

Biscoito recheado de chocolate	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Picar e pesar 4 biscoitos inteiros do meio do pacote em pedaços menores (sem separar biscoito e recheio);</li><li>2) Triturar no mini-processador por 1 minuto e 30 segundos e pesar o pó triturado;</li><li>3) Liquidificar o pó com 40ml de solução salina 0,9% no mini-processador por 2 minutos;</li><li>4) Pesar a pasta total obtida;</li><li>5) Pesar cerca de 1g de pasta como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>6) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Biscoito cream cracker	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Picar e pesar 4 biscoitos inteiros do meio do pacote em pedaços menores;</li><li>2) Triturar no mini-processador por 1 minuto e 30 segundos e pesar o pó triturado;</li><li>3) Liquidificar o pó com 40ml de solução salina 0,9% no mini-processador por 2 minutos;</li><li>4) Pesar a pasta total obtida;</li><li>5) Pesar 1,2g de pasta como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>6) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Batata frita	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Picar e pesar 50g de batata frita em pedaços menores;</li><li>2) Triturar no mini-processador por 1 minuto e 30 segundos e pesar o pó triturado;</li><li>3) Liquidificar o pó com 60ml de solução salina 0,9% no mini-processador por 2 minutos;</li><li>4) Pesar a pasta total obtida;</li><li>5) Pesar 1g de pasta como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>6) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>
Salsicha	<ol style="list-style-type: none"><li>1) Picar e pesar 2 salsichas em pedaços menores;</li><li>2) Triturar no mini-processador por 1 minuto e 30 segundos e pesar o pó triturado;</li><li>3) Liquidificar o pó com 20ml de solução salina 0,9% no mini-processador por 2 minutos;</li><li>4) Pesar a pasta total obtida;</li><li>5) Pesar 450mg de pasta como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço;</li><li>6) Adicionar 2ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.</li></ol>

---

#### Quadro 1 (continuação)

---

Coxão mole	1) Retirar camada externa visível de gordura; 2) Pesar 100g de carne crua; 3) Triturar por 2 minutos e pesar o triturado; 4) Pesar 1g do triturado como amostra em tubo de vidro 18x150mm com auxílio de espátula de aço; 5) Adicionar 3ml de solução salina 0,9% no tubo e agitar por 20 segundos.
------------	---

---

#### 4.3.3. Extração lipídica

Para cada amostra, quantidades dos alimentos descritas no quadro 1 foram pesadas em tubos de vidro de 18x150mm com tampas rosqueáveis (Roni Alzi, Brasil), em duplicata, em balança eletrônica CG-Libror EL-200 (Instrumentos Científicos CG, Brasil). As quantidades de cada alimento foram definidas de forma a se obter, por amostra, cerca de 50mg de lipídios extraídos.

A extração da gordura dos alimentos foi realizada de acordo com o método de Folch e colaboradores (1957). Os lipídios totais foram extraídos utilizando 15ml de solução de clorofórmio:metanol (2:1, v/v) com 0,02% de hidroxitolueno butilado (BHT) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, USA) acrescentados à amostra homogeneizada de cada alimento e agitada por 1 minuto em agitador de tubos AP56 (Phoenix, Brasil). Foi adicionado 1ml de uma solução KCl 0,88% e novamente agitada por 30 segundos. A amostra foi centrifugada em centrífuga International Centrifuge UV (International Equipments Company Co, USA) por 5 minutos a 2500 rpm. A fase inferior contendo os lipídios foi aspirada, usando pipeta *Pasteur* (Corning<sup>®</sup>, USA) e pêra de sucção, transferida para um tubo de vidro 16x100mm com tampa rosqueável e septo de teflon (Pyrex<sup>®</sup>, USA), utilizando papel filtro nº1 (Whatman<sup>®</sup> International Ltd, England) para reter o conteúdo não lipídico, e reservada. Ao tubo contendo a fase de metanol e o resíduo de alimento,

mais 1ml de clorofórmio foi adicionado, agitado por 30 segundos e novamente centrifugado por 5 minutos a 2500 rpm. A nova fase inferior de clorofórmio formada foi transferida com pipeta *Pasteur* e filtrada em papel filtro nº1 para o mesmo tubo contendo a primeira fase orgânica retirada. O solvente foi evaporado utilizando gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) (White Martins, Brasil) e o extrato seco contendo o total de lipídios extraídos foi pesado em seguida.

#### **4.3.4. Quantificação do teor de lipídios**

O conteúdo lipídico total foi quantificado por gravimetria. Previamente, identificou-se e pesou-se em balança eletrônica o tubo de vidro 16x100mm para o qual a fase orgânica extraída da amostra foi transferida e seca sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Em seguida, o lipídio extraído contido neste tubo foi desidratado em dessecador de vidro (Pyrobras<sup>®</sup>, Brasil) contendo sílica gel por um período de 24 horas. Decorrido este tempo, o tubo foi pesado e o peso seco estimado calculando-se a diferença entre as pesagens realizadas. A amostra foi reeluída em tolueno de modo a obter uma concentração de 10mg/ml.

#### **4.3.5. Esterificação de ácidos graxos a partir de lipídios totais**

Os AG foram transesterificados de acordo com o método de Hamilton e Hamilton (1992). Da amostra contendo a fração lipídica total eluída em tolueno, 1ml desta foi transferida para outro tubo de vidro 16x100mm com tampa rosqueável e septo de teflon (Pyrex<sup>®</sup>, USA). Foram adicionados 3ml de solução metanólica a 1% de ácido sulfúrico e o tubo foi aquecido a 50°C em banho-maria 316/1DN (Nova Ética, Brasil) por um período de 12 horas.

Após este tempo para a re-esterificação dos AG, o tubo foi resfriado em água corrente, foi adicionado 1ml de solução padrão interno de ácido undecanóico (11:0) em tolueno a 100µg/ml e, em seguida, a reação foi interrompida adicionando-se 1ml de água purificada em deionizador de

água Milli-Q Académic (Millipore, USA). Ao tubo foram acrescentados 3ml de solução de hexano-éter (1:1, v/v), agitou-se em agitador por 30 segundos e centrifugou-se por 5 minutos a 2500 rpm. A fase orgânica superior contendo os ácidos graxos metilados (FAME) foi transferida para um segundo tubo de vidro de mesmas dimensões e reservada. A operação foi repetida, adicionando-se mais 3ml de solução de hexano-éter (1:1, v/v) à fase inferior aquosa restante no tubo, e a fase orgânica superior formada foi transferida para o mesmo tubo de vidro contendo a primeira fase retirada.

À fase orgânica foram adicionados 2ml de solução de  $\text{KHCO}_3$  a 2%, sendo a mistura agitada e centrifugada por 5 minutos a 2500 rpm. A fase orgânica superior foi transferida para um terceiro tubo de vidro de mesmas dimensões para ser evaporada por  $\text{N}_2$ . Após secagem, o extrato foi quantificado por gravimetria de forma a assegurar a concentração desejada para aplicação em cromatografia gasosa. A amostra contendo os FAME foi reeluída em isoctano de modo a obter uma concentração de 10mg/ml.

#### **4.3.6. Análise cromatográfica dos ácidos graxos esterificados**

Foi injetado o volume de 1  $\mu\text{L}$  da amostra de FAME e a análise foi realizada no cromatógrafo a gás GC-17A (Shimadzu<sup>®</sup>), utilizando coluna capilar de sílica fundida SP<sup>TM</sup>2560 (Supelco<sup>®</sup>, USA), 100m x 0,25mm x 0,20 $\mu\text{m}$ .

As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor a 250°C; temperatura do detector a 250°C; temperatura inicial da coluna de 125°C durante 3 minutos, aumento de 10°C/min até 170°C (5 minutos), 3°C/min até 176°C (1 minuto), 2°C/min até 185°C (2 minutos), 1°C/min até 190°C (1 minuto), 5°C/min até 240°C (8 minutos) e temperatura final de 250°C. Cada análise durou um total de 46 minutos. O detector utilizado foi o de ionização de chamas e o

injetor usado em modo *split* (1:50). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio e os gases responsáveis pela manutenção da chama foram oxigênio e nitrogênio.

Os AG foram identificados por comparação com o tempo de retenção de padrões comerciais externos e padrão interno de FAME e foi também utilizada a identificação proposta por RATNAYAKE e colaboradores (2006) para identificação de isômeros *cis* e *trans* dos AG 18:1 e 18:2 [(18:1,9t), (18:1,10t), (18:1,11t), (18:1,10c+15t), (18:1,16t), (18:1,11c), (18:1,12c), (18:1,13c), (18:1,14c), (18:1,15c), (18:2,9t,12t), (18:2,9c,13t), (18:2,c,t,t,c), (18:2,9c,12t), (18:2,9t,12c), (18:2,c,c)]. Os resultados foram integralizados através do CBM101 e programa CLASS-GC10 (Shimadzu®).

#### **4.3.7. Quantificação do conteúdo de ácidos graxos dos alimentos**

Os resultados de AG dos alimentos foram quantificados para gramas(g) por 100g de alimento (g/100g) e representam a média aritmética das duplicatas nos três lotes de cada produto. A quantificação dos AG foi feita expressando-se o resultado em percentual (%) de área de cada AG sobre a área total de AG. A transformação das porcentagens da área para g/100g de alimento foi feita multiplicando os valores percentuais pelos teores de lipídios e por fatores de conversão sugeridos por Holland (HOLLAND et al, 1993). O fator 0,916, indicado para carnes magras, foi utilizado para o coxão mole e para as salsichas; o fator 0,945, aplicado para leite e derivados, foi usado para os leites e requeijões, e o fator 0,956, utilizado para óleos e gorduras, foi aplicado para as margarinas e os azeites, e também para os biscoitos cream crackers e recheados, pães, misturas para bolos e batatas fritas pois a gordura obtida desses alimentos provém de óleos vegetais utilizados em sua produção (HOLLAND et al, 1993).

Os valores finais de AGT obtidos foram comparados aos dados dos respectivos rótulos dos produtos e da tabela de composição de alimentos TACO (2006), quando existentes.

#### **4.4. Análise estatística**

Um banco de dados foi construído no programa Excel<sup>®</sup> do pacote Microsoft Office 2000 Premium (Microsoft Corporation, USA), onde os dados de AG foram compilados e quantificados.

As análises descritivas como médias e desvios-padrão dos valores de AG para cada alimento analisado foram realizados no programa estatístico SAS v. 8.2. Para comparação dos resultados de AG, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e ao teste de *Tukey*, para identificação das diferenças, com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). O teste *t* pareado foi aplicado para avaliar a igualdade entre rótulos e resultados das análises dos produtos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOCS Official Method Ce 1h-05 – Determination of *cis*-, *trans*-, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in vegetable ou non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC. Sampling and analysis of commercial fats and oils. Approved 2005, revised 2005.

ARO A, KARDINAAL AF, SALMINEN I, KARK JD, RIEMERSMA RA, DELGADO-RODRIGUEZ M, GOMEZ-ARACENA J, HUTTUNEN JK, KOHLMEIER L, MARTIN BC, et al. Adipose tissue isomeric *trans* fatty acids and risk of myocardial infarction in nine countries: the EURAMIC study. *Lancet*, 1995; 345: 273-278.

ASCHERIO A, RIMM EB, GIOVANNUCI EL, SPIEGELMAN D, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow up study in the United States. *British Medical Journal*, 1996; 313: 84-90.

ASCHERIO A, WILLETT WC. Health effects of *trans* fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1997; 66 (suppl): 1006S – 1010S.

ASCHERIO A. *Trans* fatty acids and blood lipids. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 25-27.

AUED-PIMENTEL S, CARUSO MSF, CRUZ JMM, KUMAGAI EE, CORRÊA DUO. Ácidos graxos saturados *versus* ácidos graxos *trans* em biscoitos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2003; 62 (2): 131-137.

AXEN KV, DIKEAKOS A, SCLAFANI A. High dietary fat promotes syndrome X in nonobese rats. *The Journal of Nutrition*, 2003; 133: 2244-2249.

BAER DJ, JUDD JT, CLEVIDENCE BA, TRACY RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79: 969-973.

BAKKER N, VAN'T VEER P, ZOCK PL, the Euramic Study Group. Adipose fatty acids and cancers of the breast, prostate and colon: An ecological study. *Int J Cancer*, 1997; 72: 587-597.

BAYLIN A, KABAGAMBE EK, ASCHERIO A, SPIEGELMAN D, CAMPOS H. High 18:2 *Trans*-Fatty Acids in Adipose Tissue Are Associated with Increased Risk of Nonfatal Acute Myocardial Infarction in Costa Rican Adults. *The Journal of Nutrition*, 2003; 133: 1186-1191.

BERTOLINO CN, CASTRO TG, SARTORELLI DS, FERREIRA SRG, CARDOSO MA. Influência do consumo alimentar de ácidos graxos *trans* no perfil de lipídios séricos em nipo-brasileiros de Bauru, São Paulo, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 2006; 22 (2): 357-364.

BLOCK G, HARTMAN AM, DRESSER CM, CARROLL MD, GANNON J, GARDNER L. A data-based approach to diet questionnaire design and testing. *American Journal of Epidemiology*, 1986; 124 (3): 453-69.

BRASIL ANVISA. Resolução n. 360, de 23/12/2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.

CANTWELL MM, GIBNEY MJ, CRONIN D, YOUNGER KM, O'NEIL JP, HOGAN L, FLYNN MAT. Development and validation of a food frequency questionnaire for the determination of detailed fatty acid intakes. *Public Health Nutrition*, 2005; 8 (1): 97-107.

CANTWELL MM, FLYNN MAT, CRONIN D, O'NEILL JP, GIBNEY MJ. Contribution of foods to *trans* unsaturated fatty acid intake in a group of Irish adults. *J. Hum. Nutr. Dietet.*, 2005; 18: 377-385.

CHARDIGNY J-M, DESTAILLATS F, MALPUECH-BRUGÈRE C, MOULIN J, BAUMAN DE, LOCK AL, BARBANO DM, MENSINK RP, BEZELGUES J-B, CHAUMONT P, COMBE N, CRISTIANI I, JOFFRE F, GERMAN JB, DIONISI F, BOIRIE Y, SÉBÉDIO J-L. Do *trans* fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects? Results of the *trans* Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008; 87 (3): 558-566.

CHEN ZY, PELLETIER G, HOLLYWOOD R, RATNAYAKE WMN. *Trans* fatty acid isomers in Canadian human milk. *Lipids*, 1995; 30: 15-21.

CHIARA VL, SILVA R, JORGE R, BRASIL AP. Ácidos graxos *trans*: doenças cardiovasculares e saúde materno-infantil. *Rev Nutr*, 2002; 15: 341-349.

CHIARA VL, SICHIERI R, CARVALHO TSF. Teores de ácidos graxos *trans* de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição*, 2003. 16 (2): 227-233.

CHRISTIE WW. Lipid analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. 3<sup>a</sup> ed., The Oily Press, volume 15 in *The Oily Press Lipid Library*, Bridgwater, England,; 2003.

CLIFTON PM, KEOGH JB, NOAKES M. *Trans* fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *The Journal of Nutrition*, 2004; 134: 874-879.

CÓLON-RAMOS U, BAYLIN A, CAMPOS H. The relation between *trans* fatty acid levels and increased risk of myocardial infarction does not hold at lower levels of *trans* fatty acids in the Costa Rican food supply. *The Journal of Nutrition*, 2006; 136: 2887-2892.

CRAIG-SCHMIDT MC. World-wide consumption of *trans* fatty acids. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 1-4.

CURI R, POMPEIA C, MIYASAKA CK, PROCOPIO J. Entendendo a gordura – os ácidos graxos. 1ª ed., Ed. Manole, São Paulo, 2002.

DASHTI N, FENG Q, FREEMAN MR, GANDHI M, FRANKLIN FA. *Trans* polyunsaturated fatty acids have more adverse effects than saturated fatty acids on the concentration and composition of lipoproteins secreted by human hepatoma HepG2 cells. *The Journal of Nutrition*, 2002; 132: 2651-2659.

DECSI T, BURUS I, MOLNÁR S, MINDA H, VEITL V. Inverse association between *trans* isomeric and long-chain polyunsaturated fatty acids in cord blood lipids of full-term infants. *Am J Clin Nutr*, 2001; 74:364-368.

DELMONTE P, RADER JJ. Evaluation of gas chromatographic methods for the determination of *trans* fat. *Anal Bioanal Chem*, 2007; 389: 77-85.

DYERBERG J, ESKESEN DC, ANDERSEN PW, ASTRUP A, BUEMANN B, CHRISTENSEN JH, CLAUSEN P, RASMUSSEN BF, SCHMIDT EB, THOLSTRUP T, TOFT E, TOUBRO S, STENDER S. Effects of *trans*- and n-3 unsaturated fatty acids on cardiovascular risk markers in healthy males. An 8 weeks dietary intervention study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2004; 58: 1062-1070.

ECKEL RH, BORRA S, LICHTENSTEIN AH, YIN-PIAZZA SY. Understanding the complexity of *trans* fatty acid reduction in the American diet. *Circulation*, 2007; 115: 2231-2246.

ELIAS SL, INNIS SM. Infant plasma *trans*, n-6 and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation and birth weight and length. *Am J Clin Nutr*, 2001; 73: 807-814.

FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission. Twenty-eighth Session. Joint FAO/WHO Food Standards Programme; Rome, 2005.

*Food and Drug Administration*. FDA acts to provide better information to consumers on trans fats, 2005. (Acessado em 22 de abril de 2008, em <http://www.fda.gov/oc/initiatives/transfat/>)

FOLCH J, LEES M, STANLEY GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Of Biol. Chem.**, v. 226, n. 1, p. 497-509. 1957.

FRIESEN R, INNIS SM. *Trans* fatty acids in human milk in Canada declined with the introduction of *trans* fat food labeling. *The Journal of Nutrition*, 2006; 136: 2558-2561.

GLADDING P, BENATAR JR. *Trans* fats in New Zealand: time for labelling regulations? *Journal of the New Zealand Medical Association*, 2007; 120 No 1265. (Acessado em 22 de abril de 2008, em <http://www.nzma.org.nz/journal/120-1265/2801/>)

GURR MI, HARWOOD JL. Lipid Biochemistry – an introduction. 4ª ed., Great Britain, Chapman & Hall, 1991.

- HAMILTON RJ, HAMILTON S. Lipid Analysis: a practical approach. **IRL PRESS**, 1992.
- HARNACK L, LEE S, SCHAKEL SF, DUVAL S, LUEPKER RV, ARNETT DK. Trends in the *trans*-fatty acid composition of the diet in a metropolitan area: The Minnesota Heart Survey. *J Am Diet Assoc*, 2003; 103: 1160-1166.
- HOLLAND B, WELCH AA, UNWIN ID, BUSS DH, PAUL AA, SOUTHGATE DAT. McCance and Widdowson's: The composition of foods. 5<sup>a</sup> Ed. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1993.
- HOLMES MD, HUNTER DJ, COLDITZ GA, STAMPFER MJ, HANKINSON SE, SPEIZER FE, ROSNER B, WILLETT WC. Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. *JAMA*, 1999; 281: 914-920.
- HU FB, STAMPFER MJ, MANSON JE, RIMM E, COLDITZ GA, ROSNER BA, HENNEKENS CH, WILLETT WC. Dietary fat intake and the risk of coronary Heart disease in women. *N Engl J Med*, 1997; 337: 1491-1499.
- HU FB, MANSON JE, STAMPFER MJ. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*, 2001; 345: 790-797.
- HUNTER JE. Dietary levels of *trans*-fatty acids: basis for health concerns and industry efforts to limit use. *Nutrition Research*, 2005; 25: 499-513.
- INNIS SM, KING DJ. *Trans* fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-*cis* n-6 and n-3 fatty acids and determined *trans*, but not n-6 and n-3 fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr*, 1999; 70: 383-390.
- INNIS SM, GREEN TJ, HALSEY TK. Variability in the *trans* fatty acid content of foods within a food category: implications for estimation of dietary *trans* fatty acid intakes. *Journal of the American College of Nutrition*, 1999; 18 (3): 255-260.
- INNIS SM. *Trans* fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 17-20.
- IOM – *Institute of Medicine*. Letter report on dietary reference intakes for *trans* fatty acids. Food Nutrition Board, 2002. Disponível em <http://www.nap.edu>. Acessado em 12/09/2005.
- JAKOBSEN MU, BYSTED A, ANDERSEN NL, HEITMANN BL, HARTKOPP HB, LETH T, OVERVAD K, DYERBERG J. Intake of ruminant *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease – An overview. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 9-11.
- JONES PJH, KUBOW S. Lipids, Sterols, and Their Metabolites. In: SHILS ME. **Modern nutrition in health and disease**. Part A. Major dietary constituents and energy needs. 9.ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000. p.67-93.

KARABULUT I, TURAN S. Some properties of margarines and shortenings marketed in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006; 19: 55-58.

KARABULUT I, KAYAHAN M, YAPRAK S. Determination of changes in some physical and chemical properties of soybean oil during hydrogenation. *Food Chemistry*, 2003; 81: 453-456.

KATAN MB. Regulation of *trans* fats: the gap, the polder, and McDonald's French fries. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 63-66.

KAVANAGH K, JONES KL, SAWYER J, KELLEY K, CARR JJ, WAGNER JD, RUDEL LL. *Trans* fat diet induces abdominal obesity and changes in insulin sensitivity in monkeys. *Obesity*, 2007; 15 (7): 1675-1684.

KOHLMEIER L, SIMONSEN N, VAN'T VEER P, STRAIN JJ, MARTÍN-MORENO JM, MARGOLIN B, HUTTERUNEN JK, FERNANDEZ-CREHUET NAVAJAS J, MARTIN BC, THAMM M, KARDINAAL AFM, KOK FJ. Adipose tissue *trans* fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on antioxidants, myocardial infarction, and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1997; 6: 705-710.

KORVER O, KATAN MB. The elimination of *trans* fats from spreads: How science helped to turn an industry around. *Nutrition Reviews*<sup>®</sup>, 2006; 64 (6): 275-279.

LARQUÉ E, ZAMORA S, GIL A. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Hum Dev*, 2001; 65 Suppl: S31-S41.

LEMAITRE RN, KING IB, RAGHUNATHAN TE, PEARCE RM, WEINMANN S, KNOPP RH, COPAS MK, COBB LA, SISCOVICK DS. Cell membrane *trans*-fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *Circulation*, 2002; 105: 697-701.

LEVY-COSTA RB, SICHERI R, PONTES NS, MONTEIRO CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Revista de Saúde Pública*, 2005; 39 (4): 530-540.

LOÏ C, CHARDIGNY JM, ALMANZA S, LECLERE L, GINIES C, SÉBÉDIO JL. Incorporation and metabolism of dietary *trans* isomers of linolenic acid alter the fatty acid profile of rat tissues. *J Nutr*, 2000; 130: 2550-2555.

LOPEZ-GARCIA E, SCHULZE MB, MEIGS JB, MANSON JE, RIFAI N, STAMPFER MJ, WILLETT WC, HU FB. Consumption of *trans* fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *The Journal of Nutrition*, 2005; 135: 562-566.

MARTIN CA, MATSUSHITA M, SOUZA NE. Ácidos graxos *trans*: implicações nutricionais e fontes na dieta. *Revista de Nutrição*, 2004; 17 (3): 361-368.

MARTIN CA, CARAPELLI R, VISANTAINER JV, MATSUSHITA M, SOUZA NE. *Trans* fatty acid content of Brazilian biscuits. *Food Chemistry*, 2005; 93: 445-448.

MARTIN CA, MILISK MC, VISENTAINER JV, MATSUSHITA M, DE-SOUZA NE. *Trans* fatty acid-forming processes in food: a review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2007; 79 (2): 343-350.

MCKELVEY W, GREENLAND S, CHEN M-J, LONGNECKER MP, FRANKL HD, LEE ER, HAILE RW. A case-control study of colorectal adenomatous polyps and consumption of foods containing partially hydrogenated oils. *Cancer Epidemiol*, 1999; 8: 519-524.

MENSINK RP, KATAN MB. Effect of dietary *trans* fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol in healthy subjects. *New Engl J Med*, 1990; 323: 439-445.

MENSINK RP, ZOCK PL, KESTER ADM, KATAN MB. Effects of dietary acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2003; 77: 1146-1155.

MEYER KA, KUSHI LH, JACOBS DR, FOLSOM AR. Dietary fat and incidence of type 2 diabetes in older Iowa women. *Diabetes Care*, 2001; 24: 1528-1535.

MOTARD-BÉLANGER A, CHAREST A, GRENIER G, PAQUIN P, CHOUINARD Y, LEMIEUX S, COUTURE P, LAMARCHE B. Study of the effect of *trans* fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 2008; 87 (3): 593-599.

MOZAFFARIAN D, PISCHON T, HANKINSON SE, RIFAI N, JOSHIPURA K, WILLETT WC, RIMM EB. Dietary intake of *trans* fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79: 606-612.

MOZAFFARIAN D, RIMM EC, KING IB, LAWLER RL, MCDONALD GB, LEVY WC. *Trans* fatty acids and systemic inflammation in heart failure. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80: 1521-1525.

MOZAFFARIAN D, KATAN MB, ASCHERIO A, STAMPFER MJ, WILLETT WC. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 2006; 354 (15): 1601-1613.

MOZAFFARIAN D, ABDOLLAHI M, CAMPOS H, HOUSHIARRAD A, WILLETT WC. Consumption of *trans* fats and estimated effects on coronary heart in Iran. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2007; 61: 1004-1010.

NATARAJAN S, IBRAHIM A, GHAFOORUNISSA. Dietary *trans* fatty acids alter diaphragm phospholipid fatty acid composition, triacylglycerol content and glucose transport in rats. *British Journal of Nutrition*, 2005; 93: 829-833.

NIELSEN K. Is the quality and cost of food affected if industrially produced *trans* fatty acids are removed? *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 61-62.

ODEGAARD AO, PEREIRA MA. *Trans* fatty acids, insulin resistance, and type 2 diabetes. *Nutrition Reviews*<sup>®</sup>, 2006; 64 (8): 364-372.

OH K, HU FB, MANSON JE, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Dietary fat intake and risk of coronary disease in women: 20 years of follow-up of the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol*, 2005; 161: 672-679.

OOMEN CM, OCKÉ MC, FESKENS EJM, VAN ERP-BAART M-AJ, KOK FJ, KROMHOUT D. Association between *trans* fatty acid intake and 10-year risk of coronary heart in the Zutphen Elderly Study: a prospective population-based study. *Lancet*, 2001; 357: 746-751.

PIETINEN P, ASCHERIO A, KORHONEN P, HARTMAN AM, WILLETT WC, ALBANES D, VIRTAMO J. Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men: The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Epidemiol*, 1997; 154: 876-887.

RATNAYAKE WMN, HANSEN SL, KENNEDY MP. Evaluation of the CP-Sil 88 and SP-2560 GC columns used in the recently approved AOCS Official Method Ce 1h-05: determination of *cis*-, *trans*-, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary CLC method. *JAOAC*, 2006; 83 (6): 475-488.

RATNAYAKE WMN. Overview of methods for the determination of *trans* fatty acids by gas chromatography, silver-ion thin layer chromatography, silver-ion liquid chromatography, and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 2004; 87 (2): 523-538.

Relatório do Grupo de trabalho da OPAS/OMS "Américas livres de gorduras *trans*" – Conclusões e recomendações. 26 e 27 de abril de 2007, Washington, D.C.

ROACH C, FELLER SE, WARD JA, SHAIKH SR, ZEROUGA M, STILLWELL W. Comparison of *cis* and *trans* fatty acid containing phosphatidylcholines on membrane properties. *Biochemistry*, 2004; 43: 6344-6351.

RUIZ-JIMÉNEZ J, PRIEGO-CAPOTE F, LUQUE DE CASTRO MD. Identification and quantification of *trans* fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after dynamic ultrasound-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 2004; 1045: 203-210.

SABARENSE CM, MANCINI-FILHO J. Efeito da gordura vegetal parcialmente hidrogenada sobre a incorporação de ácidos graxos *trans* em tecidos de ratos. *Rev Nutr*, 2003; 16 (4): 399-407.

SALMERÓN J, HU FBF, MANSON JE, STAMPFER MJ, COLDRITZ GA, RIMM EB, WILLETT WC. Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr*, 2001; 73: 1019-1026.

SANIBAL EAA, MANCINI FILHO J. Perfil de ácidos graxos *trans* de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2004; 24 (1): 27-31.

SAUNDERS D, JONES S, DEVANE GL, SCHOLES P, LAKE RJ, PAULIN SM. *Trans* fatty acids in the New Zealand food supply. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008. Article in press.

SHIRASAWA S, SASAKI A, SAIDA YASUE, SATOH CHIEMI. A rapid method for *trans*-fatty acid determination using a single capillary GC. *Journal of oleo science*, 2007; 56 (2): 53-58.

SLATTERY ML, BENSON J, MA KN, SCHAFFER D, POTTER JD. *Trans*-fatty acids and colon cancer. *Nutr Cancer*, 2001; 39: 170-175.

STENDER S, DYERBERG J. The influence of *trans* fatty acids on health. 4<sup>a</sup> ed., A report from the Danish Nutrition Council. Publ. n<sup>o</sup>. 34, Copenhagen, 2003.

STENDER S, DYERBERG J. Influence of *trans* fatty acids on health. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 2004; 48: 61-66.

STENDER S, DYERBERG J, BYSTED A, LETH T, ASTRUP A. A *trans* world journey. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 47-52.

STENDER S, ASTRUP A, DYERBERG J. Ruminant and industrially produced *trans* fatty acids: health aspects. *Food & Nutrition Research*, 2008; 52: 1651.

SUN Q, MA J, CAMPOS H, HANKINSON SE, MANSON JE, STAMPFER MJ, REXRODE KM, WILLETT WC, HU F. A prospective study of *trans* fatty acids in erythrocytes and risk of coronary heart disease. *Circulation*, 2007; 115: 1858-1865.

SZABÓ É, BOEHM G, BEERMANN C, WEYERMANN M, BRENNER H, ROTHENBACHER D, DECSI T. *Trans* octadecenoic acid and *trans* octadecadienoic acid are inversely related to long-chain polyunsaturateds in human milk: results of a large birth cohort study. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85: 1320-1326.

**Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**, versão 2, segunda edição. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.

TARRAGO-TRANI M, PHILLIPS KM, LEMAR LE, HOLDEN JM. New and existing oils and fats used in products with reduced *trans*-fatty acid content. *Journal of the American Dietetic Association*, 2006; 106: 867-880.

TINOCO SMB, SICHIERI R, SETTA CL, MOURA AS, CARMO MGT. *Trans* fatty acids from milk of Brazilian mothers of premature infants. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 2008; 44: 50-56.

*TRANSforming the food supply* – Report of the *Trans* Fat Task Force, 2006. (Acessado em 22 de abril de 2008, em [http://www.hcsc.gc.ca/fn-an/alt\\_formats/hpfb-dgpsa/pdf/nutrition/tfgt\\_rep-rap\\_e.pdf](http://www.hcsc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/nutrition/tfgt_rep-rap_e.pdf).)

USDA –US Department of Agriculture. Composition of foods raw, processed, prepared in USDA Nutrient database for standard reference. Release 13. Beltsville, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center, Nutrient data laboratory, 1999.

VAN DAM RM, WILLETT WC, RIMM EB, STAMPFER MJ, HU FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care*, 2001; 25: 417-424.

VAN POPPEL G. Intake of *trans* fatty acids in Western Europe: The TRANSFAIR Study. *Lancet*, 1998; 351: 1099-1106.

VELENZUELA A, MORGADO N. *Trans* fatty acid isomers in human health and in the food industry. *Biol Res*, 1999; 32 (4): 273-287.

VICARIO IM, GRIGUOL V, LEÓN-CAMACHO M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of Spanish cookies and bakery products. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51: 134-139.

WAGNER K-H, AUER E, ELMADFA I. Content of *trans* fatty acid in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000; 210: 237-241.

*World Health Organization*. WHO Technical Report Series 916. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint FAO/WHO Expert Consultation, World Health Organization, Geneva, 2003.

WILLETT WC, STAMPFER MJ, MANSON JE, COLDITZ GA, SPEIZER FE, ROSNER BA, SAMPSON LA, HENNEKENS CH. Intake of *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet*, 1993; 341: 581-585.

WILLETT W, MOZAFFARIAN D. Ruminant or industrial sources of *trans* fatty acids: public health issue or food label skirmish? *Am J Clin Nutr*, 2008; 87: 515-516.

WILLETT WC. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease – epidemiological data. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 5-8.

WILLIAMS MA, KING IB, SORENSE TK, ZINGHEIM RW, TROYER BL, ZEBELMAN AM. Risk of preeclampsia in relation to elaidic acids (*trans* fatty acid) in maternal erythrocytes. *Gynecol Obstet Invest*, 1998; 46 (2): 84-87.

YOKOTA RT, VASCONCELOS TF, ITO M K, DUTRA ES, BAIOCCHI KC, MERCHÁN-HAMANN E, LOPES EB, BARBOSA RB. Prevalência de fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis em duas regiões do Distrito Federal. *Com. Ciências Saúde*, 2007; 18 (4): 289-296.

ZAPOLSKA-DOWNAR D, KOSMIDER A, NARUSZEWICZ M. *Trans* fatty acids induce apoptosis in human endothelial cells. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2005; 56 (4): 611-625.

## **PARTE II**

## **6. CAPÍTULO 1:**

Conteúdo de ácidos graxos *trans* dos alimentos  
consumidos por adultos no Distrito Federal

**Revista pretendida:**

*Journal of Food Composition and Analysis*

## Resumo

A composição de ácidos graxos de 11 alimentos foi analisada com enfoque no conteúdo de ácidos graxos *trans* (AGT). Todos os alimentos apresentaram AGT, sendo os isômeros *trans* do 18:1 os principais. Margarina hidrogenada (8,85g/100g de alimento), biscoito recheado (4,13g/100g de alimento) e mistura para bolo (1,88g/100g de alimento) apresentaram conteúdos mais elevados de AGT, enquanto pão de hambúrguer (0,12g/100g de alimento), leite (0,14g/100g de alimento) e batata frita de serviços de alimentação (0,26g/100g de alimento) apresentaram conteúdos menores. Índices nutricionais indicaram baixo valor nutricional em relação à composição lipídica da mistura para bolo, biscoito recheado, requeijão e leite, e melhor valor dos azeites, margarina interesterificada e batata frita. O biscoito cream cracker e a batata frita mostraram menor conteúdo de AGT em relação a análises nacionais anteriores. Os alimentos contendo gordura vegetal parcialmente hidrogenada (GVH) apresentaram maior teor de AGT, 18:1,9t e 18:1,10t que os alimentos contendo gordura animal de ruminantes ( $p \leq 0,02$ ), mas não houve diferença para o conteúdo de 18:1,11t entre esses alimentos analisados. Os produtos à base de GVH continuam sendo fontes importantes de AGT. A diminuição do conteúdo de AGT de alguns alimentos sugere diminuição da ingestão de *trans* na população estudada.

Palavras-chave: ácidos graxos *trans*, composição de ácidos graxos, hidrogenação parcial, gordura vegetal parcialmente hidrogenada, biohidrogenação.

## Abstract

The fatty acids composition of 11 foods was analyzed with focus in the *trans* fatty acids content (TFA). All food showed AGT, with the 18:1 *trans* being the major *trans* isomers. Hydrogenated margarine (8.85g/100g of food), sandwich biscuits (4.13g/100g of food), and cake mixture (1.88g/100g of food) showed the highest levels of TFA, while hamburger bread (0.12g/100g of food), cow's milk (0.14g/100g of food) and *fast food* French fries (0.26g/100g of food) showed the lowest amounts. Nutritional indices indicated low nutritional values related to lipid composition of cake mixture, sandwich biscuits, milk and cheese curds, and better nutritional value of olive oils, interesterified margarine and French fries. Cream cracker and French fries showed lower TFA contents in comparison with previous national analyzes. The foods containing partially hydrogenated vegetable fats (HVF) had higher levels of TFA, 18:1,9t and 18:1,10t than foods containing ruminant fats ( $p \leq 0.02$ ), but no differences were found in 18:1,11t content among the foods analyzed. The products using HVF continues to be the principal sources of TFA. The decrease in the TFA content of some analyzed foods suggests a decrease in the *trans* intake by the study population.

Keywords: *trans* fatty acids, fatty acid composition, partial hydrogenation, partially hydrogenated vegetable fat, biohydrogenation.

## 6.1. Introdução

O consumo de ácidos graxos *trans* (AGT) tem sido associado ao aumento efetivo do risco de doenças cardiovasculares (DCV) (IOM, 2002; WHO, 2003; MENSINK et al, 2003). Os AGT elevam o colesterol total e a fração da lipoproteína de baixa densidade (LDL) no sangue, reduzem os níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL), e ainda elevam os níveis sanguíneos de triacilglicerídeos e de lipoproteína Lp(a) (MOZAFFARIAN et al, 2006). Esses isômeros também são associados a outros efeitos adversos à saúde como a incidência de diabetes e o envolvimento na promoção de inflamações e disfunção endotelial (HU et al, 2001; LOPEZ-GARCIA et al, 2005).

As principais fontes de AGT são as produzidas industrialmente pela hidrogenação parcial de óleos vegetais (ECKEL et al, 2007). A hidrogenação é realizada para minimizar a deterioração destes óleos, concedendo a eles propriedades das gorduras saturadas, como consistência mais firme, maior ponto de fusão e estado físico semi-sólido à temperatura ambiente, que conferem plasticidade aos alimentos e aumentam sua vida de prateleira (TARRAGO-TRANI et al, 2006; ECKEL et al, 2007; PRIEGO-CAPOTE et al, 2007). A gordura vegetal parcialmente hidrogenada (GVH) pode conter cerca de 1 a 65% de AGT, sendo o ácido elaídico (18:1,9t) o isômero mais comum (CHARDIGNY et al, 2008). Os alimentos elaborados com essa gordura, como margarinas, cremes vegetais, produtos de panificação e confeitaria, sorvetes e batatas fritas preparadas em serviços de alimentação, constituem fontes importantes desses ácidos graxos (AG) e contribuem com cerca de 80 a 90% dos AGT provenientes da dieta (VICARIO et al, 2003; BERTOLINO et al, 2006). Carne, leite e outros produtos derivados de animais ruminantes contêm naturalmente AGT produzidos pela biohidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) no rumem desses animais. O conteúdo de AGT na gordura de ruminantes é de cerca de 6% (STENDER et al, 2008) e o principal isômero presente é o ácido vacênico (18:1,11t)

(CHARDIGNY et al, 2008). Na maioria dos países, os AGT provenientes destas fontes representam menor porção de consumo (CANTWELL et al, 2005; MOZAFFARIAN et al, 2006; STENDER et al, 2008).

A ingestão de AGT inferior a 1% do valor energético total da dieta é a orientação atual para prevenção e tratamento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (WHO, 2003). Entretanto, os teores de grande parte dos alimentos e sua contribuição para o consumo de AGT ainda são desconhecidos em muitos países. No Brasil, a existência de poucas tabelas de composição de alimentos com valores de AG tem sido o fator limitante para se estimar a ingestão destes componentes em estudos dietéticos (CHIARA et al, 2003). No país, atualmente, dispõe-se da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) que fornece a composição de AG de 282 alimentos nacionais. A partir da resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Resolução n. 360, 2003) que estabeleceu a obrigatoriedade da declaração do conteúdo de AGT nos produtos alimentícios, observam-se modificações na composição dos produtos comercializados com redução dos AGT e a introdução de novas matérias primas, como a gordura interesterificada, substitutas à GVH. Desta forma, este estudo teve como objetivos avaliar a composição de AG em alimentos consumidos por adultos moradores do Distrito Federal (DF), avaliar a contribuição dos diferentes isômeros *trans* na composição destes alimentos e discutir seu conteúdo em relação aos dados da TACO.

## 6.2. Materiais e Métodos

### 6.2.1. Plano de amostragem

Foram analisados 11 alimentos contendo AGT: biscoito recheado (sabor chocolate), biscoito cream cracker, margarina, leite integral, requeijão cremoso, mistura para bolo (sabor baunilha), pão de hambúrguer, azeite de oliva, salsicha *hot dog*, batatas fritas preparadas em serviços de alimentação (*fast food*) e carne para bife (coxão mole). A escolha desses alimentos deu-se a partir da aplicação de um recordatório de 24 horas (R24) em uma amostra de adultos selecionada aleatoriamente em duas regiões administrativas do DF para investigar fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT no DF, conforme detalhado em publicação anterior (YOKOTA et al, 2007). Deste R24, listaram-se todos os alimentos citados e foram selecionados para análise aqueles relatados em maior frequência de consumo e que continham AGT, de acordo com o software NUTWIN<sup>®</sup> (versão 1.5, 2002), que utiliza a base de dados do *United States Department of Agriculture – USDA* (1999).

Para todos os alimentos fontes de AGT, foram questionados os produtos (nomes comerciais) mais consumidos e aqueles relatados em maior frequência foram adquiridos para análise. Os produtos poderiam ser de marcas diferentes ou pertencer à uma mesma marca. A quantidade de produtos analisados foi definida pela variedade e frequência com que foram citados, de forma que 4 produtos diferentes de biscoitos recheados, cream crackers, margarinas e leites (alguns pertencentes à uma mesma marca); 3 marcas de requeijões cremosos, azeites e salsichas; 2 marcas de misturas para bolo e batatas fritas, e 1 marca de pão foram analisados.

Três lotes de cada produto foram adquiridos em mercados locais e serviços de alimentação (lanchonetes), entre fevereiro e outubro de 2007, totalizando 85 amostras que foram analisadas separadamente em duplicatas. Dos azeites, apenas um lote de cada produto foi

analisado. Para a carne para bife, uma amostra de coxão mole bovino foi adquirida em um supermercado localizado próximo à população do estudo. Todos os alimentos foram analisados no Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade de Brasília (UnB).

#### 6.2.2. Extração dos lipídios e análise dos ácidos graxos

Amostras dos alimentos sólidos foram homogeneizadas em solução salina a 0,9% utilizando um mini-processador (Black & Decker®). Os lipídios foram extraídos pelo método de Folch et al (1957) e as respectivas massas aferidas por gravimetria. Dez miligramas de AG foram transmetilados em tolueno (1ml) e solução metanólica de ácido sulfúrico a 1% (3ml), à temperatura de 50°C por 12 horas (HAMILTON e HAMILTON, 1992). Os metil ésteres de AG foram ressuspensos em isoctano a uma concentração de 10mg/ml e 1 µL foi injetado em coluna capilar SP 2560 (Supelco®, 100m x 0,25mm x 0,20µm) acoplada ao cromatógrafo a gás modelo GC 17 A (Shimadzu®) com detector de ionização de chamas. As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor a 250°C; temperatura do detector a 250°C; temperatura inicial da coluna de 125°C durante 3 min, aumento de 10°C/min até 170°C, 3°C/min até 176°C, 2°C/min até 185°C, 1°C/min até 190°C, 5°C/min até 240°C e temperatura final de 250°C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio.

Os AG foram identificados por comparação com o tempo de retenção de padrões comerciais externos (Supelco® e AccuStandard®). Os AG sem padrões específicos, como alguns isômeros *cis* e *trans* do 18:1 e 18:2, foram identificados de acordo com a identificação feita por Ratnayake e colaboradores (2006) [(18:1,9t), (18:1,10t), (18:1,11t), (18:1,10c+15t), (18:1,16t), (18:1,11c), (18:1,12c), (18:1,13c), (18:1,14c), (18:1,15c), (18:2,9t,12t), (18:2,9c,13t), (18:2,c,t;t,c), (18:2,9c,12t), (18:2,9t,12c), (18:2,c,c)]. A quantificação dos AG foi feita

expressando-se o resultado em g/100g de alimento, e utilizando os fatores de conversão de Holland (HOLLAND et al, 1993). Os resultados de AG representam a média aritmética de duplicatas dos três lotes de cada produto analisado.

### 6.2.3. *Análises estatísticas*

O programa estatístico SAS v. 8.2 foi utilizado para comparação dos resultados, aplicando-se análise de variância (ANOVA) com nível de significância para  $p < 0,05$  e teste Tukey para identificar as diferenças entre as médias.

### 6.3. Resultados e discussão

Os valores médios dos AG dos alimentos contendo GVH encontram-se na tabela 1. A margarina hidrogenada, o biscoito recheado e a mistura para bolo apresentaram os conteúdos mais elevados de AGT em 100g de alimento, justificados pela presença de GVH em sua formulação. Esta gordura ainda é muito utilizada na fabricação de alimentos industrializados, como pôde ser observado nos ingredientes dos produtos analisados. O teor mais baixo de AGT foi encontrado no pão de hambúrguer.

Dentre as margarinas analisadas, a interesterificada apresentou teor reduzido de AGT e maior quantidade de AGS que a margarina hidrogenada ( $p \leq 0,01$ ). Entretanto, o conteúdo de AGP da margarina interesterificada também foi maior ( $p < 0,01$ ) que o da hidrogenada. Este achado foi contrário à preocupação com o aumento significativo do conteúdo de gorduras saturadas em consequência da redução de gorduras *trans* nos produtos alimentícios (NIELSEN, 2006). O ácido vacênico e o 18:1,10t foram os principais AGT encontrados na margarina hidrogenada, enquanto que, nas interesterificadas, o teor de AGT se distribuiu entre os diferentes isômeros *trans*. O conteúdo de AGT obtido nas margarinas interesterificadas foi aparentemente maior que o valor apresentado na tabela TACO (0,12g/100g), ao passo que, para a margarina hidrogenada, os valores de AGT das análises e dessa tabela (8,69g/100g) foram mais semelhantes e menores que o teor de AGT da base de dados do USDA (11,29g/100g). Em outros estudos, Torres e colaboradores (2002) e Larqué e colaboradores (2003) encontraram 2,5% de AGT em relação ao total de AG em margarinas portuguesas e espanholas, respectivamente. Já Huang e colaboradores (2006) e Baylin e colaboradores (2007) verificaram teores maiores de AGT, sendo de 19,13% em margarinas consumidas em comunidades afroamericanas, e entre 10,83 e 14,30% em margarinas da Costa Rica, respectivamente. Considerados em percentuais de AGT, os resultados deste

estudo, para a margarina interesterificada (2,24%), foi próximo aos dos primeiros estudos, e para a margarina hidrogenada (15,79%), foi comparável aos valores obtidos nos dois últimos.

Os biscoitos dos tipos cream cracker e recheado apresentaram teores elevados de AGS, sendo que o biscoito recheado ainda mostrou alto conteúdo de AGT. O ácido elaídico (18:1,9t) foi o principal AGT encontrado nos dois tipos de biscoitos. Na tabela TACO, os conteúdos de AGT dos biscoitos recheados (4,21g/100g) e dos cream cracker (1,80g/100g) foram semelhantes aos verificados neste trabalho, enquanto que no USDA, os teores de AGT de ambos biscoitos (recheados: 6,28g/100g; cream cracker: 8,41g/100g) foram maiores que os resultados das análises. Provavelmente, os valores do USDA foram mais elevados devido a este banco de dados ser antigo (1999), quando a declaração do conteúdo de AGT ainda não era obrigatória na rotulagem nutricional de alimentos nos Estados Unidos (EUA), ao passo que a TACO, já traz dados mais atuais (2006) da composição destes alimentos. Em análises anteriores de biscoitos brasileiros, Chiara e colaboradores (2003) encontraram teores menores de AGT em biscoitos recheados (2,81g/100g) e maiores em biscoitos cream crackers (5,60g/100g). Já Aued-Pimentel e colaboradores (2003) verificaram resultados mais próximos aos deste estudo, com teor médio de AGT de 3g/100g de biscoito recheado e de 2,54g/100g de cream cracker. Martin e colaboradores (2005) relataram conteúdo médio de AGT de 20,1% do total de AG, superior ao dos cream crackers analisados (12,39%).

Nas misturas para bolo, foi observado elevado teor de AGT, diferente do conteúdo nulo apresentado pela tabela TACO. O resultado deste estudo esteve entre os valores do USDA (1,06g/100g) e de misturas para bolo canadenses analisadas por Innis e colaboradores (1999) (2,3g de AGT/100g de alimento) e por Elias e Innis (2002) (30g de AGT/100g de gordura). Van Erp-Baart e colaboradores (1998) encontraram conteúdo menor de AGT em misturas para bolo alemãs (15,11% do total de AG) que o das misturas analisadas (23,5%). Por outro lado, o pão de

hambúguer apresentou baixo teor de AGT. Ressalta-se que este conteúdo foi em maior parte de 18:1,10c+15t, impossibilitando atribuí-lo totalmente a presença do isômero *cis* (18:1,10c) ou do *trans* (18:1,15t), devido a uma limitação do método de análise dos AG, pois apesar da coluna capilar de 100m e do programa de temperatura utilizados, houve baixa resolução na separação dos picos destes AG. No USDA, o conteúdo de isômeros *trans* do 18:1 de pães brancos (0,75g/100g) foi mais alto que o deste estudo. Tavella e colaboradores (2000) também obtiveram maior teor de AGT em pães de forma na Argentina (9,73% de ácido eláidico em relação ao total de AG) em comparação ao pão analisado (1,95%). Já Van Erp-Baart e colaboradores (1998) verificaram conteúdo de AGT em pães para sanduíche na Grécia (1,50% do total de AG) comparável ao encontrado neste estudo.

Tabela 1: Composição de ácidos graxos (g/100g alimento) dos alimentos contendo ácidos graxos *trans* produzidos industrialmente por hidrogenação ou interesterificação.

Alimentos	Margarina (n=12)		Cream cracker (n=12)	Biscoito recheado (n=12)	Mistura para bolo (n=6)	Pão de hambúrguer (n=3)
	Hydrogenada (n=3)	Inter-esterificada (n=9)				
	Média±DP <sup>f</sup>	Média±DP				
Lipídios (%)	56,02±1,64	63,34±5,88	11,05±1,88	14,57±1,99	8,00±0,81	6,14±0,24
12:0	0,05±0,01	0,93±0,25	tr <sup>g</sup>	0,04±0,05	tr	tr
14:0	0,09±0,01	0,61±0,10	0,04±0,02	0,06±0,06	0,03±0,01	0,03±0,005
16:0	6,46±0,57	7,79±1,36	2,34±1,33	2,39±1,06	1,11±0,13	1,54±0,05
17:0	0,05±0,00	0,05±0,005	tr	tr	0,02±0,005	tr
18:0	5,36±0,45	6,23±0,60	0,74±0,27	1,93±0,68	1,51±0,24	0,47±0,01
20:0	0,29±0,03	0,30±0,02	0,04±0,006	0,07±0,01	0,03±0,004	tr
22:0	0,39±0,08	0,35±0,05	0,02±0,01	0,05±0,01	0,03±0,006	tr
23:0	0,03±0,005	0,03±0,007	nd <sup>h</sup>	tr	nd	nd
24:0	0,11±0,02	0,11±0,02	tr	tr	tr	nd
<b>AGS<sup>a</sup></b>	<b>12,91±0,52</b>	<b>16,52±0,92</b>	<b>3,24±1,21</b>	<b>4,60±1,35</b>	<b>2,76±0,31</b>	<b>2,09±0,06</b>
16:1	0,05±0,005	0,05±0,007	tr	tr	tr	0,08±0,005
18:1,9c	14,50±0,27	13,41±1,83	3,32±0,80	3,03±1,44	1,85±0,60	2,21±0,08
18:1,11c–15c <sup>b</sup>	2,04±0,10	0,08±0,04	0,34±0,31	0,93±0,41	0,53±0,09	tr
<b>AGM<sup>a</sup></b>	<b>16,62±0,29</b>	<b>13,57±1,83</b>	<b>3,68±0,58</b>	<b>3,98±1,31</b>	<b>2,40±0,61</b>	<b>2,30±0,09</b>
18:2,n6	14,31±1,06	26,85±2,80	2,51±1,32	1,66±0,70	0,79±0,18	1,39±0,06
18:2,c,c	0,10±0,01	tr	0,02±0,01	0,03±0,01	0,02±0,01	nd
18:3,n6	0,11±0,02	0,23±0,09	tr	tr	tr	nd
20:1+18:3,n3 <sup>c</sup>	1,33±0,12	2,69±0,33	0,12±0,07	0,11±0,03	0,05±0,01	0,09±0,005
20:3,n3	1,75±0,18	1,86±0,40	0,06±0,09	nd	0,06±0,09	tr
<b>AGP<sup>a</sup></b>	<b>17,62±1,01</b>	<b>31,67±3,26</b>	<b>2,73±1,36</b>	<b>1,83±0,73</b>	<b>0,94±0,17</b>	<b>1,59±0,06</b>
18:1, 9t	nd	tr	0,48±0,68	1,98±0,97	nd	0,02±0,005
18:1, 10t	3,83±0,11	0,05±0,05	0,32±0,43	0,93±0,49	0,98±0,29	nd
18:1,11t	2,89±0,07	0,09±0,07	0,18±0,34	0,37±0,50	0,48±0,21	nd
18:1,10c+15t <sup>d</sup>	1,00±0,02	0,83±0,10	0,15±0,04	0,32±0,09	0,13±0,02	0,09±0,005
18:1,16t	0,06±0,05	nd	tr	0,02±0,05	tr	nd
18:2,9t,12t	0,16±0,10	tr	tr	0,06±0,04	0,03±0,02	nd
18:2,9c,13t	0,07±0,12	nd	0,05±0,05	0,13±0,05	0,07±0,02	nd
18:2,9c,12t	0,44±0,05	0,23±0,09	0,08±0,04	0,14±0,06	0,07±0,03	tr
18:2,9t,12c	0,35±0,05	0,17±0,08	0,06±0,04	0,12±0,05	0,07±0,03	nd
<b>AGT<sup>a</sup></b>	<b>8,85±0,14</b>	<b>1,42±0,31</b>	<b>1,37±1,20</b>	<b>4,13±1,72</b>	<b>1,88±0,36</b>	<b>0,12±0,005</b>
NI <sup>e</sup>	nd	0,15±0,15	tr	tr	nd	nd

<sup>a</sup>AGS= ácidos graxos saturados, AGM= ácidos graxos monoinsaturados, AGP= ácidos graxos poliinsaturados, AGT= ácidos graxos *trans*; <sup>b</sup>18:1,11c–15c= soma dos isômeros 18:1,11c, 12c, 13c, 14c e 15c; <sup>c</sup>20:1+18:3,n3= soma dos AG 20:1 e 18:3,n3; <sup>d</sup>18:1,10c+15t= soma dos isômeros 18:1,10c e 18:1,15t; <sup>e</sup>NI= picos não-identificados; <sup>f</sup>DP= Desvio-padrão; <sup>g</sup>traços (≤0,01g/100g); <sup>h</sup>nd= não detectado.

Dos alimentos de origem animal (tabela 2), o leite e o requeijão apresentaram predominância dos AGS e seus conteúdos de AGT foram compostos principalmente pelo ácido vacênico. De acordo com a tabela TACO, o leite não conteria isômeros *trans* e o requeijão apresentaria conteúdo aparentemente menor de AGT (0,55g/100g). Em relação ao USDA, o conteúdo de AGT do leite (0,10g/100g) foi comparável ao deste estudo, enquanto que o do requeijão pareceu ser menor (0,48g/100g). É suposto que a concentração de AGT na gordura do leite e também da carne difere entre os países devido às diferenças na prática da alimentação e pastagem do gado (ARO et al, 1998). O leite analisado neste trabalho apresentou conteúdo de AGT (4,94% do total de AG) intermediário aos valores de leites de 14 países europeus, em que a proporção de AGT variou entre 3,2 e 5,2% (ARO et al, 1998). Já o leite da Costa Rica apresentou maior teor de AGT (7,48%) (BAYLIN et al, 2007). A amostra de coxão mole bovino, analisada crua e sem camada visível de gordura, apresentou baixo teor lipídico (0,95g/100g de carne) e, conseqüentemente, de todos os AG. A salsicha apresentou conteúdo predominante de AGM e equilibrado de AGS e AGP. O 18:1,10c+15t foi o principal isômero dentre os AGT, impossibilitando atribuir seu conteúdo somente ao isômero *trans*. O teor de AGT de salsichas do USDA (0,18g/100g) foi mais baixo que o encontrado neste estudo.

Das amostras de azeite analisadas, apenas uma era azeite de oliva (mistura de refinado e extra virgem) e as outras duas tratavam-se de óleos mistos, compostos majoritariamente por azeite, mas também por óleo de soja (tabela 2). O azeite misto mostrou maior conteúdo de AGP, enquanto o azeite de oliva continha predominantemente AGM ( $p < 0,001$ ). Ambos apresentaram teores de AGT, mas o 18:1,10c+15t foi o principal *trans* encontrado neles, impossibilitando afirmar que este conteúdo seria totalmente atribuído ao isômero *trans*. Nos azeites mistos, os isômeros 18:2,9c,12t e 18:2,9t,12c também foram verificados. Em análise de diferentes óleos, Aro e colaboradores (1998) verificaram que azeites, tipo virgem e refinado, praticamente não

continham AGT, enquanto óleo de soja refinado continha geralmente mais isômeros *trans* do 18:2 que do 18:1. Durante o processo de refino de óleos vegetais, especialmente durante a etapa de desodorização, são utilizadas altas temperaturas que podem modificar duplas ligações *cis* ocorridas naturalmente nestes óleos em duplas ligações *trans* (WAGNER et al, 2000). Os valores de AGT observados na TACO e no USDA foram contrários aos resultados deste estudo, pois de acordo com a primeira tabela, os azeites não conteriam *trans*, e no USDA, teor menor de AGT foi observado (0,09g/100g) e atribuído unicamente ao isômero 16:1t, que não foi identificado nos azeites analisados. Outros estudos encontraram níveis mais baixos de AGT, sendo de 0,1% (WAGNER et al, 2000) e de 0,31% do total de AG (BAYLIN et al, 2007), enquanto os azeites analisados apresentaram cerca de 2% de *trans*. O elevado conteúdo de AGT encontrado nos azeites analisados poderia ser justificado pela coeluição dos picos dos AG 18:1,10c e 18:1,15t, devido a uma limitação do método de análise.

Assim como o leite e o pão de hambúrguer (tabela 1), a batata frita preparada em serviços de alimentação apresentou um dos teores mais baixos de AGT dentre os alimentos analisados. Na batata frita, os AGP e AGM predominaram e o pequeno conteúdo de AGT foi devido principalmente ao 18:1,10c+15t (tabela 2). Em análise anterior de batatas fritas de serviços de alimentação brasileiros (lanchonetes), Chiara e colaboradores (2003) obtiveram teores elevados de AGT (4,7g/100g). No USDA, o conteúdo de AGT da batata frita de *fast food* foi mais elevado (2,15g/100g) que o verificado neste estudo (0,26g/100g de alimento ou 1,82% de AGT do total de AG), como também observado por Stender e colaboradores (2006) que encontraram cerca de 20% de AGT da gordura total de batatas fritas comercializadas mais recentemente nos EUA. Porém, na mesma análise, Stender e colaboradores (2006) verificaram valores bem inferiores de AGT em batatas fritas de outros países, como a China e a Dinamarca, confirmando que o baixo conteúdo de AGT desse alimento é resultado de um processo de adaptação das redes de serviços

de alimentação para restringir o uso de GVH. Apesar do baixo conteúdo de AGT da batata frita, vale ressaltar que a reutilização de óleos refinados, principalmente no preparo de alimentos fritos, pode tornar significativa a formação de isômeros *trans* e contribuir para a ingestão diária de AGT (MARTIN et al, 2004; SANIBAL e MANCINI FILHO, 2004).

Em relação às diferenças observadas, os diferentes métodos de extração dos lipídios podem ter colaborado nas diferenças dos conteúdos de AGT. Neste estudo realizou-se a extração com metanol e clorofórmio que podem extrair maior quantidade de lipídios do que o método de Soxhlet (CUNHA et al, 2005) utilizado nas análises dos alimentos da TACO e de alguns dos estudos brasileiros mencionados anteriormente. Todavia, assim como na TACO, este estudo utilizou fatores de Holland para a quantificação final dos AG.

Tabela 2: Composição de ácidos graxos (g/100g alimento) dos alimentos contendo ácidos graxos *trans* por biohidrogenação ou outras fontes.

Alimentos	Leite integral (n=12)	Requeijão cremoso (n=9)	Salsicha (n=9)	Azeite de oliva (n=1)	Azeite misto (n=2)	Batata frita (n=6)
	Média ± DP <sup>f</sup>	Média ± DP	Média ± DP	Média	Média ± DP	Média ± DP
Lipídios (%)	2,83 ± 0,15	20,39 ± 4,03	16,46 ± 3,28	83,04	85,31 ± 0,15	14,21 ± 1,86
10:0	tr <sup>g</sup>	0,09 ± 0,04	tr	tr	tr	tr
12:0	0,03 ± 0,006	0,27 ± 0,07	tr	nd	nd	tr
14:0	0,24 ± 0,01	1,58 ± 0,32	0,10 ± 0,03	nd	0,04 ± 0,005	0,07 ± 0,01
15:0	0,03 ± 0,003	0,22 ± 0,05	tr	nd	tr	nd
16:0	0,92 ± 0,05	6,10 ± 1,20	3,22 ± 0,72	7,25	7,85 ± 0,24	2,98 ± 0,54
17:0	0,02 ± 0,005	0,19 ± 0,05	0,03 ± 0,01	0,07	0,07 ± 0,00	tr
18:0	0,38 ± 0,02	2,94 ± 0,59	1,37 ± 0,37	2,62	2,94 ± 0,04	0,59 ± 0,06
20:0	tr	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,40	0,34 ± 0,01	0,05 ± 0,007
22:0	nd <sup>h</sup>	0,02 ± 0,01	tr	0,12	0,44 ± 0,05	0,04 ± 0,01
23:0	nd	tr	nd	0,02	0,04 ± 0,01	nd
24:0	nd	0,02 ± 0,01	nd	0,05	0,13 ± 0,03	tr
<b>AGS<sup>a</sup></b>	<b>1,66 ± 0,08</b>	<b>11,61 ± 2,24</b>	<b>4,78 ± 1,15</b>	<b>10,64</b>	<b>11,95 ± 0,33</b>	<b>3,78 ± 0,59</b>
14:1	0,02 ± 0,004	0,16 ± 0,03	tr	nd	nd	tr
16:1	0,06 ± 0,007	0,37 ± 0,14	0,49 ± 0,10	0,49	0,11 ± 0,02	0,03 ± 0,009
17:1	nd	nd	tr	0,02	2,25 ± 0,005	tr
18:1,9c	0,78 ± 0,06	5,44 ± 1,08	6,19 ± 1,53	60,70	21,48 ± 3,34	4,77 ± 1,12
18:1,11c-15c <sup>b</sup>	0,02 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04	0,04 ± 0,02	tr
22:1,n9	nd	tr	0,02 ± 0,01	0,02	tr	tr
<b>AGM<sup>a</sup></b>	<b>0,90 ± 0,07</b>	<b>6,18 ± 1,22</b>	<b>6,76 ± 1,64</b>	<b>61,28</b>	<b>21,68 ± 3,37</b>	<b>4,84 ± 1,12</b>
18:2,n6	0,04 ± 0,01	0,37 ± 0,13	3,87 ± 0,72	6,00	42,33 ± 2,50	5,18 ± 0,87
18:3,n6	nd	nd	nd	tr	0,40 ± 0,02	tr
20:1+18:3,n3 <sup>c</sup>	tr	0,08 ± 0,02	0,32 ± 0,07	0,80	4,27 ± 0,39	0,09 ± 0,01
20:2	tr	tr	0,08 ± 0,03	nd	0,03 ± 0,005	tr
20:3,n3	tr	0,57 ± 0,52	tr	2,47	2,26 ± 0,27	nd
20:4	tr	0,03 ± 0,01	0,11 ± 0,02	nd	nd	nd
<b>AGP<sup>a</sup></b>	<b>0,06 ± 0,01</b>	<b>1,13 ± 0,53</b>	<b>4,46 ± 0,84</b>	<b>9,31</b>	<b>49,32 ± 3,04</b>	<b>5,30 ± 0,88</b>
16:1t	tr	0,11 ± 0,02	tr	nd	nd	tr
18:1, 9t	tr	0,08 ± 0,03	0,04 ± 0,03	nd	tr	0,02 ± 0,009
18:1, 10t	nd	0,04 ± 0,12	tr	0,06	0,03 ± 0,02	tr
18:1,11t	0,08 ± 0,009	0,55 ± 0,12	nd	nd	nd	nd
18:1,10c+15t <sup>d</sup>	0,02 ± 0,00	0,12 ± 0,02	0,35 ± 0,10	1,69	1,32 ± 0,01	0,12 ± 0,01
18:2,9c,12t	tr	0,06 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,06	0,34 ± 0,01	0,05 ± 0,02
18:2,9t,12c	tr	0,04 ± 0,01	tr	nd	0,24 ± 0,03	0,03 ± 0,01
<b>AGT<sup>a</sup></b>	<b>0,14 ± 0,01</b>	<b>1,08 ± 0,20</b>	<b>0,44 ± 0,13</b>	<b>1,81</b>	<b>1,97 ± 0,03</b>	<b>0,26 ± 0,06</b>
NI <sup>e</sup>	0,04 ± 0,009	0,35 ± 0,21	nd	nd	0,38 ± 0,01	nd

<sup>a</sup>AGS= ácidos graxos saturados, AGM= ácidos graxos monoinsaturados, AGP= ácidos graxos poliinsaturados, AGT= ácidos graxos *trans*; <sup>b</sup>18:1,11c-15c= soma dos isômeros 18:1,11c, 12c, 13c, 14c e 15c; <sup>c</sup>20:1+18:3,n3= soma dos AG 20:1 e 18:3,n3; <sup>d</sup>18:1,10c+15t= soma dos isômeros 18:1,10c e 18:1,15t; <sup>e</sup>NI= picos não-identificados; <sup>f</sup>DP= Desvio-padrão; <sup>g</sup>traços (≤0,01g/100g); <sup>h</sup>nd= não detectado.

Os principais AG encontrados nos alimentos analisados foram o palmítico (16:0), o esteárico (18:0), o oléico (18:1,9c) e o linoléico (18:2,n6c) (tabelas 1 e 2). Os AGT foram verificados em todas as amostras analisadas, sendo os isômeros *trans* do 18:1 os principais. Outros isômeros também observados, mas em níveis significativamente menores que os *trans* do 18:1 ( $p < 0,02$ ), foram o 16:1t, presente no leite, no requeijão, na salsicha e na batata frita, e os *trans* do 18:2, presentes em todos os alimentos com exceção do pão de hambúrguer.

Agrupando os alimentos contendo gordura industrialmente modificada (hidrogenada ou interesterificada) e os alimentos contendo gordura de origem animal, observou-se conteúdo de AGT maior nos primeiros alimentos ( $p \leq 0,02$ ). Os isômeros 18:1,9t e 18:1,10t estiveram mais presentes nos alimentos contendo gordura industrialmente modificada ( $p < 0,001$ ), mas não houve diferença no conteúdo de 18:1,11t entre os grupos. O ácido vacênico também ocorre em óleos vegetais parcialmente hidrogenados devido a formação de numerosos isômeros geométricos e posicionais do 18:1 no processo de hidrogenação (CHARDIGNY et al, 2008). Todavia, proporcionalmente aos respectivos totais de AGT, o conteúdo de ácido vacênico foi maior nos alimentos contendo gordura de origem animal (38,7%) que naqueles contendo gordura industrialmente modificada (16,1%).

Os índices nutricionais que consideram o conteúdo de AGS e AGP, e ainda de AGM e AGT dos alimentos, permitem avaliar o potencial nutricional dos alimentos em relação a sua composição lipídica (VICARIO et al, 2003) (tabela 3).

Tabela 3: Índices nutricionais dos alimentos.

Alimentos	$\Sigma\text{AGS}/\Sigma\text{AGP}$	$\Sigma\text{AGT}/\Sigma\text{AGP}$	$\Sigma\text{AGS}+\text{AGT}/\Sigma\text{AGM}+\text{AGP}$
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP
Azeite de oliva	1,14 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a,b,c</sup>	0,17 $\pm$ 0,003 <sup>a</sup>
Azeite misto	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,04 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0,19 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>
Margarina interesterificada	0,52 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,04 $\pm$ 0,008 <sup>a</sup>	0,39 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
Batata frita	0,72 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	0,05 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,40 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
Salsicha	1,08 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,46 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
Pão de hambúrguer	1,31 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,56 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>
Margarina hidrogenada	0,73 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,02 <sup>a,b,c</sup>	0,63 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>
Coxão mole	2,33 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a,b</sup>	0,77 <sup>a,c</sup>
Cream cracker	1,36 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	0,85 $\pm$ 0,95 <sup>a,b</sup>	0,78 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>
Mistura para bolo	3,10 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>	2,13 $\pm$ 0,89 <sup>b,d</sup>	1,46 $\pm$ 0,46 <sup>b,c</sup>
Biscoito recheado	2,87 $\pm$ 1,27 <sup>a</sup>	2,82 $\pm$ 1,72 <sup>d</sup>	1,63 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>
Requeijão cremoso	12,52 $\pm$ 5,78 <sup>b</sup>	1,14 $\pm$ 0,47 <sup>a,b,c</sup>	1,75 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
Leite integral	26,93 $\pm$ 5,21 <sup>b</sup>	2,29 $\pm$ 0,63 <sup>c,d</sup>	1,87 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

De acordo com os valores dos índices nutricionais  $\Sigma\text{AGS}/\Sigma\text{AGP}$ ,  $\Sigma\text{AGT}/\Sigma\text{AGP}$  e  $\Sigma\text{AGS}+\text{AGT}/\Sigma\text{AGM}+\text{AGP}$  mostrados na tabela 3, quanto menor o valor dessas razões, melhor o valor nutricional do alimento. A mistura para bolo, o biscoito recheado, o requeijão e o leite foram os que apresentaram valor nutricional de baixa qualidade, enquanto os azeites, a margarina interesterificada e a batata frita mostraram composição lipídica de melhor qualidade ( $p < 0,05$ ). Mesmo não possuindo conteúdo elevado de AGT como o da mistura para bolo e do biscoito recheado, o leite e requeijão mostraram baixo potencial nutricional exposto principalmente pela razão  $\Sigma\text{AGS}/\Sigma\text{AGP}$ , maior em relação aos demais alimentos ( $p < 0,01$ ). Os conteúdos de AGS de cadeia entre 12 e 16 carbonos mais elevados que os totais de AGP (tabela 2) sugerem propriedades possivelmente aterogênicas do leite e do requeijão. Os AGS de cadeias entre 12 e 16 átomos de carbono parecem ser os mais aterogênicos, enquanto o ácido esteárico tem ação neutra, e o ácido oléico e os AGP reduzem os lipídios sanguíneos (TRIANTAFILLOU et al, 2003). Já em relação aos isômeros *trans*, quando avaliados separadamente, os 18:2 *trans* parecem estar especialmente relacionados ao aumento dos riscos de infarto do miocárdio e de morte

cardíaca súbita (BAYLIN et al, 2003; LEMAITRE et al, 2006; MOZAFFARIAN et al, 2006). O biscoito recheado, o azeite misto e as margarinas apresentaram os maiores conteúdos destes *trans* que os demais alimentos ( $p < 0,04$ ).

Apesar dos índices nutricionais que consideram os AGT terem apontado um baixo valor nutricional do leite e do requeijão, estudos epidemiológicos têm indicado que a ingestão de AGT de ruminantes é inócua ou até protetora contra DCV (JAKOBSEN et al, 2006). Em humanos, o ácido vacênico presente na gordura dos ruminantes é precursor do ácido rumênico (18:2,9c,11t), um ácido linoléico conjugado (CLA), que teria efeitos metabólicos positivos à saúde humana (STENDER et al, 2008). Os menores níveis ingeridos de AGT de ruminantes poderiam explicar a ausência de associação direta entre a ingestão de AGT de ruminantes e o risco de DCV (MOZAFFARIAN et al, 2006). Recentemente, dois grupos de pesquisadores realizaram estudos controlados comparando os efeitos de AGT produzidos industrialmente e de ruminantes nos lipídios sanguíneos. Chardigny e colaboradores (2008) mostraram que os AGT produzidos industrialmente e de ruminantes (representando aproximadamente 5% da energia da dieta) exerceram efeitos diferentes nos fatores de risco para DCV apenas em mulheres, já que nelas os AGT produzidos industrialmente diminuíram as concentrações de HDL e LDL comparados ao AGT de ruminantes, e observaram que a propriedade de diminuir o HDL parece ser específica dos AGT produzidos industrialmente. Motard-Bélanger e colaboradores (2008) verificaram que uma alta ingestão de AGT de ruminantes (3,7% da energia) afetou adversamente a homeostase do colesterol, enquanto que uma ingestão moderada deste (1,5% da energia) teve efeitos neutros nos lipídios plasmáticos e em outros fatores de risco para DCV. Contudo, como colocado por Willett e Mozaffarian (2008), embora relevantes os resultados destes estudos não apóiam totalmente um efeito benéfico dos AGT de ruminantes, pois em ambos a quantidade usada desses AGT excedeu a ingestão destes componentes nas dietas usuais (menor que 1% da energia).

Países como a Dinamarca, Canadá, Finlândia e Holanda mostraram que é possível diminuir o consumo de AGT, reduzindo ou eliminando-os dos alimentos produzidos industrialmente, seja por regulamentos e ações governamentais ou por esforços das indústrias alimentícias e pressão social (ASTRUP, 2006; ARO, 2006; Health Canadá, 2005; KATAN, 2006). Nos Estados Unidos (EUA), foi determinada a inclusão obrigatória da informação do conteúdo de gorduras *trans* em todos os rótulos de alimentos e recomendado que os indivíduos reduzam seu consumo ao mínimo possível (ECKEL et al, 2007; MOZAFFARIAN et al, 2006). No Brasil, entre 1993 e 2000, estudo de Bertolino e colaboradores em nipo-brasileiros de São Paulo mostrou redução significativa no consumo de AGT, apesar do nível de ingestão ainda estar acima dos valores preconizados pela OMS (BERTOLINO et al, 2006). Vale lembrar que no período compreendido por aquele estudo ainda não era obrigatória a rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de AGT no país e, logo, como observado em outros países, a diminuição na ingestão de AGT pela população brasileira está em curso. Segundo o Grupo de trabalho “Américas livres de gorduras *trans*” da OPAS/OMS, a eliminação das gorduras *trans* mostra-se como meta viável e alcançável para os países das Américas, incluindo o Brasil, e a principal medida normativa recomendada seria a adoção de um limite máximo de 2% de gorduras *trans* na quantidade total de gorduras em óleos vegetais e margarinas cremosas e menos de 5% em todos os outros alimentos (OPAS/OMS, 2007).

Entre as limitações do presente estudo destaca-se o procedimento de escolha dos alimentos analisados que foi obtido com informações de tabela americana com banco de dados antigo, o USDA de 1999, com possíveis diferenças nas composições de AGT principalmente dos produtos industrializados. No momento da identificação dos alimentos fontes de AGT deste estudo, existia apenas a 1ª versão da tabela TACO de 2004, com pequeno número de alimentos analisados. Outras limitações deste estudo foram a não utilização de padrão interno, a dificuldade

na identificação de isômeros *trans*, por ausência de padrões comerciais dos mesmos, e a sobreposição de picos de alguns AG, impossibilitando a confirmação do conteúdo de *trans* naqueles alimentos em que o 18:1,10c+15t foi o principal AGT encontrado. Deve-se ressaltar, ainda, que, em alguns cromatogramas deste trabalho, os isômeros 18:1,9t, 18:1,10t e 18:1,11t sobrepuseram-se parcialmente, dificultando por vezes a percepção de qual deles estaria presente em maior quantidade. Estas limitações quanto à sobreposição total ou parcial dos picos de alguns AG deve-se a uma limitação do método de análise de AG, pois apesar da coluna capilar de 100m e do programa de temperatura utilizados, houve baixa resolução na separação destes picos.

#### **6.4. Conclusão**

De acordo com os resultados deste estudo, os principais AGT verificados nos alimentos analisados foram os isômeros *trans* do 18:1. Apesar das rápidas adaptações na composição dos alimentos pelas indústrias alimentícias para redução dos AGT, produtos à base de GVH, como biscoito recheado e margarina, continuam sendo fontes importantes de *trans*. Todavia, destaca-se um decréscimo importante do conteúdo de AGT do biscoito cream cracker e da batata frita de serviços de alimentação em comparação a análises anteriores de produtos brasileiros. Este fato sugere que a ingestão de *trans* pela população pode estar decrescendo no Brasil.

## 6.5. Referências Bibliográficas

ARO A, ANTOINE JM, PIZZOFERRATO L, REYKDAL O, VAN POPPEL G. Trans fatty acids in dairy and meat products from 14 European countries: the TRANSFAIR study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1998; 11: 150-160.

ARO A, VAN AMELSVOORT J, BECKER W, VAN ERP-BAART M-A, KAFATOS A, LETH T, VAN POPPELS G. Trans fatty acids in dietary fats and oils from 14 European countries: the TRANSFAIR study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1998; 11: 137-149.

ARO A. The scientific basis for *trans* fatty acid regulations—Is it sufficient? A European perspective. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 67-68.

ASTRUP A. The trans fatty acid story in Denmark. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 43-46.  
AUED-PIMENTEL S, CARUSO MSF, CRUZ JMM, KUMAGAI EE, CORRÊA DUO. Ácidos graxos saturados *versus* ácidos graxos *trans* em biscoitos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2003; 62 (2): 131-137.

BAYLIN A, KABAGAMBE EK, ASCHERIO A, SPIEGELMAN D, CAMPOS H. High 18:2 *Trans*-Fatty Acids in Adipose Tissue Are Associated with Increased Risk of Nonfatal Acute Myocardial Infarction in Costa Rican Adults. *The Journal of Nutrition*, 2003; 133: 1186-1191.

BAYLIN A, SILES X, DONOVAN-PALMER A, FERNANDEZ X, CAMPOS H. Fatty acids composition of Costa Rican foods including trans fatty acid content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007; 20: 182-192.

BERTOLINO CN, CASTRO TG, SARTORELLI DS, FERREIRA SRG, CARDOSO MA. Influência do consumo alimentar de ácidos graxos *trans* no perfil de lipídios séricos em nipo-brasileiros de Bauru, São Paulo, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 2006; 22 (2): 357-364.

BRASIL ANVISA. Resolução n. 360, de 23/12/2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.

CANTWELL MM, FLYNN MAT, CRONIN D, O'NEILL JP, GIBNEY MJ. Contribution of foods to trans unsaturated fatty acid intake in a group of Irish adults. *J. Hum. Nutr. Dietet.*, 2005; 18: 377-385.

CHARDIGNY J-M, DESTAILLATS F, MALPUECH-BRUGÈRE C, MOULIN J, BAUMAN DE, LOCK AL, BARBANO DM, MENSINK RP, BEZELGUES J-B, CHAUMONT P, COMBE N, CRISTIANI I, JOFFRE F, GERMAN JB, DIONISI F, BOIRIE Y, SÉBÉDIO J-L. Do *trans* fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects? Results of the *trans* Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008; 87 (3): 558-566.

CHIARA VL, SICHIERI R, CARVALHO TSF. Teores de ácidos graxos trans de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição*, 2003. 16 (2): 227-233.

CUNHA J, COSTA THM, ITO M K. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipids and fatty acid composition in low income women from Brasilia, Brazil. *Early Human Development*, 2005; 81: 303-311.

ECKEL RH, BORRA S, LICHTENSTEIN AH, YIN-PIAZZA SY. Understanding the complexity of trans fatty acid reduction in the American diet. *Circulation*, 2007; 115: 2231-2246.

ELIAS SL, INNIS SM. Bakery foods are the major dietary source of trans-fatty acids among pregnant women with diets providing 30 percent energy from fat. *J Am Diet Assoc*, 2002; 102: 46-51.

FOLCH J, LEES M, STANLEY GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Of Biol. Chem.**, v. 226, n. 1, p. 497-509. 1957.

HAMILTON RJ, HAMILTON S. Lipid Analysis: a practical approach, 1992. **IRL PRESS**, 1992.

*Health Canada. Government response to the interim recommendations of the Trans Fat Task Force*. 2005. (Acessado em 22 de abril de 2008, em [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/gras-trans-fats/government\\_response\\_reponse\\_gouvernement\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/gras-trans-fats/government_response_reponse_gouvernement_e.html).)

HOLLAND B, WELCH AA, UNWIN ID, BUSS DH, PAUL AA, SOUTHGATE DAT. McCance and Widdowson's: The composition of foods. 5ª Ed. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1993.

HU FB, MANSON JE, STAMPFER MJ. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*, 2001; 345: 790-797.

HUANG Z, WANG B, PACE RD, OH JH. Trans fatty acid content of selected foods in an African-american community. *Food Chemistry and Toxicology*, 2006; 71 (6).

INNIS SM, GREEN TJ, HALSEY TK. Variability in the trans fatty acid content of foods within a food category: implications for estimation of dietary trans fatty acid intakes. *Journal of the American College of Nutrition*, 1999; 18 (3): 255-260.

IOM - Institute of Medicine. Letter report on dietary reference intakes for trans fatty acids. Food Nutrition Board, 2002. Disponível em <http://www.nap.edu>. Acessado em 12/09/2005.

JAKOBSEN MU, BYSTED A, ANDERSEN NL, HEITMANN BL, HARTKOPP HB, LETH T, OVERVAD K, DYERBERG J. Intake of ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease – An overview. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 9-11.

KATAN MB. Regulation of trans fats: the gap, the polder, and McDonald's French fries. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 63-66.

LARQUÉ E, GARAULET M, PÉREZ-LLAMAS F, ZAMORA S, TEBAR FJ. Fatty acid composition and nutritional relevance of most widely consumed margarines in Spain. *Grasas y Aceites*, 2003; 54 (1): 65-70.

LEMAITRE RN, KING IB, MOZAFFARIAN D, SOOTODEHNIA N, SISCOVICK DS. Trans-fatty acids and sudden cardiac death. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 13-15.

LOPEZ-GARCIA E, SCHULZE MB, MEIGS JB, MANSON JE, RIFAI N, STAMPFER MJ, WILLETT WC, HU FB. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *The Journal of Nutrition*, 2005; 135: 562-566.

MARTIN CA, CARAPELLI R, VISANTAINER JV, MATSUSHITA M, SOUZA NE. Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. *Food Chemistry*, 2005; 93: 445-448.

MARTIN CA, MATSUSHITA M, SOUZA NE. Ácidos graxos trans: implicações nutricionais e fontes na dieta. *Revista de Nutrição*, 2004; 17 (3): 361-368.

MENSINK RP, ZOCK PL, KESTER ADM, KATAN MB. Effects of dietary acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2003; 77: 1146-1155.

MOTARD-BÉLANGER A, CHAREST A, GRENIER G, PAQUIN P, CHOUINARD Y, LEMIEUX S, COUTURE P, LAMARCHE B. Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 2008; 87 (3): 593-599.

MOZAFFARIAN D, KATAN MB, ASCHERIO A, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 2006; 354 (15): 1601-1613.

NIELSEN K. Is the quality and cost of food affected if industrially produced trans fatty acids are removed? *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 61-62.

PRIEGO-CAPOTE F, RUIZ-JIMÉNEZ J, LUQUE DE CASTRO MD. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after focused microwave Soxhlet extraction. *Food Chemistry*, 2007; 100: 859-867.

RATNAYAKE WMN, HANSEN SL, KENNEDY MP. Evaluation of the CP-Sil 88 and SP-2560 GC columns used in the recently approved AOCS Official Method Ce 1h-05: determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary CLC method. *JAOC*, 2006; 83 (6): 475-488.

**Relatório do Grupo de trabalho da OPAS/OMS “Américas livres de gorduras trans” – Conclusões e recomendações. 26 e 27 de abril de 2007, Washington, D.C.**

SANIBAL EAA, MANCINI FILHO J. Perfil de ácidos graxos *trans* de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2004; 24 (1): 27-31.

STENDER S, ASTRUP A, DYERBERG J. Ruminant and industrially produced trans fatty acids: health aspects. *Food & Nutrition Research*, 2008; 52; 1651.

STENDER S, DYERBERG J, BYSTED A, LETH T, ASTRUP A. A *trans* world journey. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 47-52.

**Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**, versão 2, segunda edição. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.

TARRAGO-TRANI M, PHILLIPS KM, LEMAR LE, HOLDEN JM. New and existing oils and fats used in products with reduced trans-fatty acid content. *Journal of the American Dietetic Association*, 2006; 106: 867-880.

TAVELLA M, PETERSON G, ESPECHE M, CAVALLERO E, CIPOLLA L, PEREGO L, CABALLERO B. Trans fatty acid content of a selection of foods in Argentina. *Food Chemistry*, 2000; 69: 209-213.

TORRES D, CASAL S, OLIVEIRA B. Fatty acid composition of Portuguese spreadable fats with emphasis on *trans* isomers. *Eur Food Res Technol*, 2002; 21 (4): 108-111.

TRANTAFILLOU D, ZOGRAFOS V, KATSIKAS H. Fatty acid content of margarines in the Greek market (including *trans* fatty acids): a contribution to improving consumers' information. *Int J Food Sci Nutr*, 2003; 54 (2): 135-141.

USDA – *United States Department of Agriculture*. Composition of foods raw, processed, prepared in USDA Nutrient database for standard reference. Release 13. Beltsville, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center, Nutrient data laboratory, 1999.

VAN ERP-BAART M-A, COUET C, CUADRADO C, KAFATOS A, STANLEY J, VAN POPPEL G. Trans fatty acids in bakery products from 14 European countries: the TRANSFAIR study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1998; 11: 161-169.

VICARIO IM, GRIGUOL V, LEÓN-CAMACHO M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of Spanish cookies and bakery products. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51: 134-139.

WAGNER K-H, AUER E, ELMADFA I. Content of trans fatty acid in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000; 210: 237-241.

WILLETT W, MOZAFFARIAN D. Ruminant or industrial sources of trans fatty acids: public health issue or food label skirmish? *Am J Clin Nutr*, 2008; 87: 515-516.

World Health Organization. WHO Technical report series 916. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint FAO/WHO Expert Consultation, World Health Organization, Geneva, 2003.

YOKOTA RT, VASCONCELOS TF, ITO M K, DUTRA ES, BAIOCCHI KC, MERCHÁN-HAMANN E, LOPES EB, BARBOSA RB. Prevalência de fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis em duas regiões do Distrito Federal. *Com. Ciências Saúde*, 2007; 18 (4): 289-296.

## **7. CAPÍTULO 2:**

A rotulagem obrigatória e a variabilidade no conteúdo de ácidos graxos *trans* de produtos alimentícios consumidos no Distrito Federal

**Revista pretendida:**

*Food Chemistry*

## Resumo

Alimentos elaborados com gordura vegetal parcialmente hidrogenada (GVH) são as principais fontes de ácidos graxos *trans* (AGT) na dieta. O conteúdo desses isômeros pode variar em função da quantidade e grau de hidrogenação da GVH utilizada nos produtos dos diversos fabricantes, sendo válidos estudos confirmando seu conteúdo nos alimentos. Seis alimentos: biscoitos recheados, biscoitos cream cracker, leites integrais, requeijões cremosos, salsichas e azeites de diferentes fabricantes, foram analisados para avaliar a variabilidade inter-produtos em relação ao conteúdo de AGT. Os biscoitos recheados apresentaram maior conteúdo de AGT ( $p < 0,01$ ). O único alimento que apresentou variação inter-produto no conteúdo de AGT foi a salsicha ( $p \leq 0,02$ ). O conteúdo de AGT de cerca de 60% dos itens analisados apresentaram conteúdos maiores de AGT nas análises que os declarados nos rótulos. Os resultados deste trabalho indicam baixa variação inter-produtos no conteúdo de AGT dos produtos analisados.

Palavras-chave: ácidos graxos, ácidos graxos *trans*, hidrogenação parcial, composição de alimentos, variabilidade, rotulagem de alimentos.

## **Abstract**

Food produced with partially hydrogenated vegetable fats (HFV) are the major sources of *trans* fatty acids (TFA) in the diet. The content of these isomers can vary according to the extent of hydrogenation and the amount of HFV used in the products by the food manufacturers, thus studies confirming this content are valid. Six food: sandwich biscuits, cream crackers, hot dog sausages, cow milk, cheese spreads and olive oils of different manufacturers, were analyzed to evaluate the inter-products variability of the TFA levels. Sandwich biscuits showed the highest content of TFA ( $p < 0.01$ ). The hot dog sausages were the only food with inter-product variability in the TFA content ( $p \leq 0.02$ ). The *trans* content of about 60% of the items analyzed showed higher TFA contents than that described in the labels of their packages. The results indicate low inter-product variability of the content of TFA among the food analyzed.

Keywords: fatty acids, *trans* fatty acids, partial hydrogenation, food composition, variability, food labeling.

## 7.1. Introdução

O consumo de alimentos com altos níveis de ácidos graxos *trans* (AGT) têm sido associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (WHO, 2003). Com base nisto, organismos da área de saúde, como a Organização Mundial de Saúde – OMS (*WHO Technical Report Series*, 916, 2003), o Ministério da Saúde – MS (Guia alimentar para a população brasileira – MS, 2006) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Resolução n.360, 2003), têm fomentado ações visando a diminuição da ingestão de AGT na população.

Alimentos elaborados com gordura vegetal hidrogenada (GVH) são as principais fontes de AGT na dieta (VICARIO et al, 2003; BERTOLINO et al, 2006). A GVH é utilizada pela indústria alimentícia para conferir plasticidade aos seus produtos e aumentar a vida de prateleira destes (TARRAGO-TRANI et al, 2006; ECKEL et al, 2007). O conteúdo de AGT nos produtos finais comercializados varia em função do óleo ou da gordura utilizados na sua elaboração para alcançar as características desejadas do produto final (CANTWELL et al, 2005; MOZAFFARIAN et al, 2006).

Nas últimas três décadas, acompanhando a transição nutricional, houve mudanças no consumo alimentar no Brasil, destacando-se o aumento da ingestão de produtos industrializados, tais como os biscoitos e as margarinas (LEVY-COSTA et al, 2005). Estes alimentos estão entre as principais fontes de AGT juntos aos produtos de panificação, salgadinhos chips, sorvetes, alimentos fritos de serviços de alimentação e outros alimentos contendo GVH (VICARIO et al, 2003; LEVY-COSTA et al, 2005; BERTOLINO et al, 2006; ECKEL et al, 2007). Contudo, o conteúdo de AGT pode variar dentro de um mesmo alimento, como observado em biscoitos cream cracker canadenses (2,1 a 27,4 gramas de AGT por 100g de alimento – g/100g) (INNIS et al, 1999) e brasileiros (12,2 a 31,2g/100g) (MARTIN et al, 2005).

No Brasil, a partir da obrigatoriedade da rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de AGT (ANVISA. Resolução n. 360, 2003), observa-se a diminuição do conteúdo de gorduras *trans* nos produtos industrializados. Entretanto, estudos confirmando seu conteúdo são necessários considerando que investigação anterior à vigência da resolução da ANVISA revelou que a composição de alguns produtos brasileiros (rótulos) não coincidia com os teores encontrados nas análises, destacando-se teores elevados de AGT em amostras de biscoitos, sorvetes e batatas fritas (CHIARA et al, 2003).

Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a variabilidade no teor de AGT em alguns alimentos identificados como fontes desse AG para consumidores adultos do Distrito Federal (DF), com enfoque nas possíveis diferenças entre diferentes produtores de um mesmo alimento. Comparou-se também as informações nutricionais declaradas nos seus rótulos, a fim de verificar a adequação às regras da legislação vigente (ANVISA, 2005).

## 7.2. Materiais e métodos

### 7.2.1. Plano de amostragem

Inicialmente, um total de onze alimentos fontes de AGT para pessoas acima de 18 anos foram identificados a partir da aplicação de um recordatório de 24 horas (R24) no estudo sobre os fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis no DF, conforme detalhado em publicação anterior (YOKOTA et al, 2007). O conteúdo de AGT dos alimentos foi obtido pelo software NUTWIN<sup>®</sup> (versão 1.5, 2002), que utiliza a base de dados do *United States Department of Agriculture – USDA* (1999). Para cada alimento fonte de AGT identificado no R24, foram questionados os produtos e/ou marcas mais consumidos. Assim, dos onze alimentos identificados, este estudo analisou seis deles, tendo sido quatro biscoitos recheados (sabor chocolate), cream crackers e leites integrais esterelizados, e três requeijões cremosos, salsichas e azeites, baseado na variedade de produtos e frequência de consumo relatadas no R24.

Três lotes de cada produto foram adquiridos em mercados locais e serviços de alimentação (lanchonetes), entre fevereiro e outubro de 2007, sendo que, dos azeites, apenas um lote de cada produto foi analisado. Todos os produtos foram analisados separadamente e em duplicatas, totalizando 57 amostras. As análises dos alimentos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade de Brasília.

Neste estudo, denominou-se “variabilidade inter-produtos” a variação no conteúdo de AGT entre produtos (nomes comerciais) de um mesmo alimento, e “variabilidade intra-produtos”, a variação no conteúdo de AGT entre os lotes de um mesmo produto.

### 7.2.2. *Extração dos lipídios e análise dos ácidos graxos*

Amostras dos alimentos sólidos foram homogenizadas com solução salina a 0,9% em mini-processador (Black & Decker®). Os lipídios foram extraídos pelo método de Folch et al (1957) e as respectivas massas aferidas por gravimetria. Dez miligramas de AG foram transmetilados em tolueno (1ml) e solução metanólica de ácido sulfúrico a 1% (3ml), à temperatura de 50°C por 12 horas (HAMILTON e HAMILTON, 1992). Os metil ésteres de AG foram ressuspensos em isoctano a uma concentração de 10mg/ml, e 1 µL foi injetado em coluna capilar SP 2560 (Supelco®, 100m x 0,25mm x 0,20µm) acoplada ao cromatógrafo a gás modelo GC 17 A (Shimadzu®) com detector de ionização de chamas. As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor a 250°C; temperatura do detector a 250°C; temperatura inicial da coluna de 125°C durante 3 min, incremento de 10°C/min até 170°C, 3°C/min até 176°C, 2°C/min até 185°C, 1°C/min até 190°C, 5°C/min até 240°C e temperatura final de 250°C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio.

Os AG foram identificados por comparação com o tempo de retenção de padrões externos (Supelco® e AccuStandard®). Os AG para os quais não havia padrões comerciais foram identificados de acordo com a proposta de Ratnayake e colaboradores (2006) [(18:1,9t), (18:1,10t), (18:1,11t), (18:1,10c+15t), (18:1,16t), (18:1,11c), (18:1,12c), (18:1,13c), (18:1,14c), (18:1,15c), (18:2,9t,12t), (18:2,9c,13t), (18:2,c,t;t,c), (18:2,9c,12t), (18:2,9t,12c), (18:2,c,c)]. A quantificação dos AG foi feita a partir da área dos respectivos picos, expressando-se o resultado final em g de AG/100g de alimento, utilizando-se fatores de conversão de Holland (HOLLAND et al, 1993). Os valores de cada AG referem-se às médias dos três lotes das amostras em duplicatas.

### *7.2.3. Análises estatísticas*

O programa estatístico SAS v. 8.2 foi utilizado para comparação dos resultados, aplicando-se análise de variância com nível de significância para  $p < 0,05$  e teste Tukey para identificar as diferenças entre as médias. O teste  $t$  pareado avaliou a igualdade entre rótulos e análises.

### 7.3. Resultados e discussão

O percentual de lipídios totais (%) e o conteúdo de AG dos alimentos contendo GVH encontram-se na tabela 1, sendo apresentados em quatro frações lipídicas principais: ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM), ácidos graxos poliinsaturados (AGP) e AGT. Nos dois tipos de biscoitos analisados, não houve um padrão de distribuição dos AG nas quatro frações lipídicas. Os biscoitos recheados apresentaram os maiores teores de AGT ( $p < 0,01$ ) dentre os alimentos analisados. O conteúdo de *trans* destes produtos variou de 2,77 a 5,65g/100g de biscoito, mas sem diferença significativa. O produto 4 foi o que apresentou maior conteúdo lipídico e também de AGM.

Tabela 1: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos de biscoitos recheados e cream cracker contendo gordura vegetal hidrogenada ou interesterificada (g/100g de alimento).

	Produto 1	Produto 2	Produto 3	Produto 4
	média±DP (n=3)	média±DP (n=3)	média±DP (n=3)	média±DP (n=3)
<b>Biscoitos recheados</b>				
% Lipídios	15,14±1,07 <sup>a</sup>	14,04±0,00 <sup>a</sup>	11,99±0,37 <sup>b</sup>	17,10±0,42 <sup>c</sup>
AGS	5,02±0,44 <sup>a,b</sup>	4,85±0,50 <sup>a,b</sup>	2,85±0,37 <sup>a</sup>	5,67±1,68 <sup>b</sup>
AGM	3,01±0,18 <sup>a</sup>	3,09±0,55 <sup>a</sup>	3,81±0,08 <sup>a</sup>	6,03±0,42 <sup>b</sup>
AGP	1,46±0,40	1,48±0,35	2,51±0,78	1,86±0,97
AGT	5,65±0,87	4,59±0,56	2,77±0,98	3,52±2,69
18:1, 9t	3,01±0,53	1,81±0,62	1,32±0,51	1,81±1,38
18:1, 10t	1,36±0,32	0,82±0,26	0,61±0,19	0,96±0,83
18:1, 11t	0,30±0,05 <sup>a</sup>	1,14±0,38 <sup>b</sup>	0,04±0,08 <sup>a</sup>	nd
18:1, 10c + 15t	0,40±0,07	0,37±0,05	0,22±0,02	0,28±0,11
18:1, 16t	0,01±0,02	0,06±0,10	0,02±0,02	0,01±0,02
18:2, 9t, 12t	0,07±0,04	0,04±0,005	0,06±0,07	0,06±0,07
18:2, 9c, 13t	0,18±0,01	0,11±0,02	0,12±0,04	0,13±0,11
18:2, c,t; t,c	0,02±0,005	0,02±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01
18:2, 9c, 12t	0,15±0,04	0,10±0,02	0,18±0,07	0,12±0,08
18:2, 9t, 12c	0,13±0,04	0,09±0,01	0,16±0,04	0,10±0,07
<b>Biscoitos cream cracker</b>				
% Lipídios	13,78±0,83 <sup>a</sup>	9,57±0,20 <sup>b</sup>	10,81±1,60 <sup>b</sup>	10,06±0,50 <sup>b</sup>
AGS	4,83±0,26 <sup>a</sup>	2,17±0,22 <sup>b</sup>	2,76±0,70 <sup>b</sup>	3,20±1,25 <sup>a,b</sup>
AGM	4,34±0,35	3,40±0,09	3,60±0,49	3,38±0,77
AGP	4,28±0,24 <sup>a</sup>	1,50±0,21 <sup>b</sup>	3,68±0,68 <sup>a</sup>	1,48±0,24 <sup>b</sup>
AGT	0,28±0,04	2,45±0,44	0,74±0,66	1,99±1,61
18:1, 9t	0,07±0,03	0,80±0,71	nd	1,05±0,91
18:1, 10t	nd	0,63±0,55	0,08±0,07	0,56±0,48
18:1, 11t	nd	0,41±0,35	0,32±0,56	nd
18:1, 10c + 15t	0,11±0,01	0,18±0,01	0,15±0,05	0,17±0,06
18:2, 9t, 12t	nd	0,04±0,02	nd	0,02±0,02
18:2, 9c, 13t	nd	0,11±0,04	0,04±0,05	0,06±0,05
18:2, 9c, 12t	0,05±0,005 <sup>a</sup>	0,14±0,01 <sup>b</sup>	0,07±0,03 <sup>a</sup>	0,05±0,03 <sup>a</sup>
18:2, 9t, 12c	0,04±0,005 <sup>a</sup>	0,12±0,01 <sup>b</sup>	0,06±0,04 <sup>a,b</sup>	0,04±0,03 <sup>a</sup>

AGS= ácidos graxos saturados; AGM= ácidos graxos monoinsaturados; AGP= ácidos graxos poliinsaturados; AGT= ácidos graxos *trans*; DP= desvio-padrão; nd= não detectado (0,00). Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes (p<0,05) pelo teste Tukey.

O ácido elaídico (18:1,9t) foi o principal AGT encontrado nos biscoitos recheados (tabela 1). Entre os isômeros de AGT, somente o 18:1,11t foi verificado em conteúdo maior no produto 2 que nos demais (p<0,001), mas sem contribuir com diferenças nos conteúdos totais de AGT desses biscoitos. Aued-Pimentel e colaboradores (2003), em dez biscoitos recheados brasileiros

analisados, verificaram teores de AGT ligeiramente mais baixos (variando de 1,84 a 4,14g/100g de biscoito) ao deste estudo. Nas análises de Chiara e colaboradores (2003), nível de AGT encontrado (2,81g/100g) em biscoitos recheados foi próximo ao do produto 3 e menor que o dos demais.

Assim como nos biscoitos recheados, não houve diferença significativa no conteúdo de AGT entre os biscoitos cream cracker analisados, que variou de 0,28 a 2,45g/100g de alimento (tabela 1). O ácido eláidico e o isômero 18:1,10t foram os AGT mais abundantes nos produtos 2 e 4, enquanto no produto 3 o ácido vacênico (18:1, 11t) predominou. Estes três biscoitos continham GVH. O produto 1 declarou conter gordura vegetal interesterificada e seu conteúdo de AGT foi distribuído entre poucos isômeros *trans*. A interesterificação é uma alternativa utilizada pelas indústrias alimentícias para substituir a hidrogenação, possibilitando a produção de gorduras livres ou com teor muito baixo de AGT, mas mantendo as propriedades físicas, sabor e estabilidade (TARRAGO-TRANI et al, 2006). Este produto 1 apresentou maior teor lipídico e de AGS e AGP dentre os cream cracker ( $p < 0,04$ ).

Diferentemente dos estudos de Chiara e colaboradores (2003) (5,60g/100g de cream cracker) e de Aued-Pimentel e colaboradores (2003) (2,53g/100g de cream cracker), teores menores de AGT foram obtidos nos biscoitos cream cracker analisados neste trabalho. Já Martin e colaboradores (2005) verificaram níveis de AGT (20,1% do total de AG, com variação de 12,2% a 31,2%) próximos aos dos produtos 2 e 4 (25,6 e 19,7% do total de AG, respectivamente). Provavelmente, os níveis menores de AGT nestes produtos devem-se a exigência da rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de *trans* em alimentos no Brasil, já que esta ainda não era obrigatória na época em que aqueles estudos foram realizados. Em outros países, o conteúdo de AGT de biscoitos cream cracker também mostrou considerável variação. Semelhantemente ao que ocorreu no Brasil, as comparações de conteúdos de AGT dos

alimentos devem considerar os períodos em que as análises foram realizadas e a implementação de legislação específica nos respectivos países em relação aos AGT. Por exemplo, em comparação a este estudo, em 1999, foi observado nível mais alto de AGT em biscoitos cream cracker canadenses (40,3% de AGT na gordura total, variando de 0,7 a 12,9g/100g de alimento) (INNIS et al, 1999). Todavia, no Canadá, a rotulagem nutricional do conteúdo de AGT em alimentos industrializados tornou-se obrigatória em 2005 e, atualmente, a exposição aos AGT provenientes de GVH já diminuiu naquele país (FRIESEN e INNIS, 2006). Em 2006, foi detectado teor mais baixo de AGT em cream cracker nos Estados Unidos (EUA) (0,66% da gordura total) que o obtido nestas análises (HUANG et al, 2006). Nos EUA, a rotulagem nutricional de alimentos com declaração do conteúdo de AGT tornou-se obrigatória em Janeiro de 2006, e desde então muitos produtos vêm sendo reformulados para diminuir os níveis de GVH utilizados (ECKEL et al, 2007).

Os métodos utilizados para extração dos lipídios e análise das amostras também devem ser observados para comparação dos resultados desse estudo aos de outros. Dos três estudos brasileiros mencionados, apenas o de Martin e colaboradores (2005) utilizou o mesmo método de extração e coluna capilar de 100m de comprimento assim como este estudo. Nas análises de Chiara e colaboradores (2003) e de Aued-Pimentel e colaboradores (2003) os lipídios foram extraídos com solventes menos polares e ambos estudos utilizaram colunas capilares de menor comprimento para análise cromatográfica, o que pode ter influenciado nas diferenças observadas nos resultados.

No presente estudo, a ausência de diferenças significativas no conteúdo de AGT entre os produtos contendo GVH poderia ser explicada pelo baixo número de amostras analisadas, entretanto, pode estar também relacionada à variabilidade intra-produtos. Para cada produto dos biscoitos recheados e cream cracker analisados, pelo menos um dos três lotes continha níveis de

AGT significativamente menores dos demais ( $p < 0,05$ ). No geral, teores menores de *trans* foram obtidos nos lotes fabricados nas datas mais recentes. Esta tendência na diminuição do conteúdo destes isômeros pode estar apontando para uma maior uniformidade no teor de AGT de produtos de um mesmo alimento nos lotes mais atuais, em consequência da rotulagem nutricional obrigatória, na medida em que esta vem promovendo esforços das indústrias alimentícias para reduzir os níveis desse componente em seus produtos.

A tabela 2 apresenta o conteúdo de AG dos alimentos de origem animal. Mesmo não contendo GVH e apresentando teores baixos de AGT em comparação aos biscoitos, o conteúdo de AGT das salsichas variou significativamente entre as marcas analisadas (tabela 2). O produto 1 apresentou conteúdo maior de AGT que as outras salsichas ( $p \leq 0,02$ ), explicado pela presença de carne bovina neste produto. Este produto 1 também apresentou maior teor lipídico e de AGS e AGM que os demais ( $p < 0,04$ ). Deve-se ressaltar que o teor de AGT das salsichas foi atribuído em maior parte a um pico identificado como sobreposição dos isômeros 18:1,10c e 18:1,15t, impossibilitando atribuí-lo totalmente a presença do isômero *cis* ou do *trans*, devido a uma limitação do método de análise dos AG, pois apesar da coluna capilar de 100m e do programa de temperatura utilizados, houve baixa resolução na separação dos picos destes AG.

Nos leites e nos requeijões (tabela 2), o ácido vacênico, isômero predominante na gordura de animais ruminantes, foi o principal AGT encontrado. Não houve diferença no conteúdo de *trans* entre os diferentes produtos dos leites e requeijões analisados. A biohidrogenação é um processo que ocorre sob condições uniformes de temperatura, umidade e pressão e, logo, o conteúdo resultante de AGT na gordura de ruminantes é praticamente invariável (CANTWELL et al, 2005).

Tabela 2: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos nos alimentos de origem animal e derivados (g/100g de alimento).

	<b>Produto 1</b>	<b>Produto 2</b>	<b>Produto 3</b>	<b>Produto 4</b>
	<b>média±DP</b>	<b>média±DP</b>	<b>média±DP</b>	<b>média±DP</b>
	<b>(n=3)</b>	<b>(n=3)</b>	<b>(n=3)</b>	<b>(n=3)</b>
<b>Salsichas</b>				
% Lipídios	20,19±2,56 <sup>a</sup>	15,83±0,46 <sup>b</sup>	13,35±0,73 <sup>b</sup>	
AGS	6,16±0,81 <sup>a</sup>	4,21±0,45 <sup>b</sup>	3,97±0,30 <sup>b</sup>	
AGM	8,73±1,17 <sup>a</sup>	6,07±0,65 <sup>b</sup>	5,48±0,19 <sup>b</sup>	
AGP	4,68±0,44 <sup>a,b</sup>	5,16±0,69 <sup>a</sup>	3,53±0,25 <sup>b</sup>	
AGT	0,60±0,11 <sup>a</sup>	0,36±0,02 <sup>b</sup>	0,35±0,05 <sup>b</sup>	
16:1t	0,01±0,01	tr	0,01±0,005	
18:1, 9t	0,07±0,03	0,03±0,01	0,02±0,02	
18:1, 10c + 15t	0,47±0,07 <sup>a</sup>	0,30±0,03 <sup>b</sup>	0,27±0,03 <sup>b</sup>	
18:2, 9c, 12t	0,03±0,02	0,01±0,01	0,02±0,01	
<b>Leites integrais</b>				
% Lipídios	2,89±0,07	2,75±0,27	2,93±0,10	2,76±0,07
AGS	1,68±0,07	1,60±0,15	1,69±0,08	1,67±0,04
AGM	0,92±0,03	0,89±0,11	0,96±0,01	0,82±0,03
AGP	0,06±0,01	0,05±0,005	0,06±0,01	0,08±0,01
AGT	0,15±0,01	0,13±0,01	0,15±0,01	0,12±0,005
16:1t	0,02±0,00	0,01±0,005	0,02±0,00	0,01±0,005
18:1, 11t	0,08±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01	0,07±0,005
18:1, 10c + 15t	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00
18:2, 9t, 12c	0,01±0,00 <sup>a</sup>	tr <sup>a,b</sup>	0,01±0,00 <sup>a</sup>	nd <sup>b</sup>
<b>Requeijões cremosos</b>				
% Lipídios	23,86±0,24 <sup>a</sup>	20,82±1,15 <sup>a,b</sup>	16,48±4,72 <sup>b</sup>	
AGS	13,59±0,96	11,63±0,48	9,61±2,67	
AGM	7,27±0,02 <sup>a</sup>	6,35±0,26 <sup>a,b</sup>	4,93±1,34 <sup>b</sup>	
AGP	1,37±0,58	1,14±0,48	0,88±0,61	
AGT	1,21±0,14	1,15±0,04	0,88±0,22	
16:1t	0,12±0,005	0,13±0,01	0,08±0,02	
18:1, 9t	0,10±0,03	0,09±0,01	0,06±0,05	
18:1, 10t	0,12±0,21	0,00±0,00	0,00±0,00	
18:1, 11t	0,56±0,17	0,63±0,05	0,46±0,08	
18:1, 10c + 15t	0,14±0,005 <sup>a</sup>	0,12±0,005 <sup>a,b</sup>	0,10±0,02 <sup>b</sup>	
18:1, 16t	0,02±0,005	tr	0,02±0,005	
18:2, 9c, 13t	0,03±0,01	0,03±0,00	0,03±0,01	
18:2, 9c, 12t	0,04±0,01	0,06±0,03	0,07±0,04	
18:2, 9t, 12c	0,04±0,01 <sup>a,b</sup>	0,06±0,01 <sup>a</sup>	0,02±0,005 <sup>b</sup>	

AGS= ácidos graxos saturados; AGM= ácidos graxos monoinsaturados; AGP= ácidos graxos poliinsaturados; AGT= ácidos graxos *trans*; DP= desvio-padrão; tr= traços (<0,01g/100g); nd= não detectado (0,00). Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes (p<0,05) pelo teste Tukey.

A tabela 3 apresenta o conteúdo de AG dos três produtos adquiridos como azeites. Estes azeites apresentaram quantidade de AGT (cerca de 2% de AGT do total de AG) superior aos

níveis de 0,1% de AGT do total de AG, detectados por Wagner e colaboradores (2000), e de 0,31% de AGT, por Baylin e colaboradores (2007). Nos óleos vegetais, os isômeros *trans* são formados no processo de refino, especialmente durante a etapa de desodorização quando são necessárias altas temperaturas (WAGNER et al, 2000; TARRAGO-TRANI, 2006). Todavia, neste alimento, o 18:1,10c+15t também foi o principal AGT identificado. O produto 1 apresentou maior quantidade de 18:1,10c+15t ( $p<0,01$ ), enquanto os produtos 2 e 3 apresentaram níveis mais elevados dos isômeros 18:2,9c,12t e 18:2,9t,12c ( $p<0,01$ ), mas não houve diferença no conteúdo total de AGT entre os produtos. Os azeites apresentaram perfis lipídicos diferentes, pois apenas o produto 1 era composto exclusivamente por azeite de oliva (refinado e extra virgem). O produto 2 se tratava de óleo de soja misturado ao azeite. O produto 3 não declarou seus ingredientes no rótulo, contudo, o seu perfil de AG é sugestivo de ser também um óleo misto de azeite com óleo de soja. Estes dois últimos produtos eram comercializados como azeites, entretanto, segundo a Resolução n.270 da ANVISA (2005), sobre o “Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal”, azeite de oliva é o produto obtido somente do fruto da oliveira, excluídos os óleos obtidos através de solventes ou processos de reesterificação e ou qualquer mistura de outros óleos. Logo, de acordo com esta resolução, os produtos 2 e 3 tratam-se de óleos mistos ou compostos, obtidos a partir da mistura de óleos de duas ou mais espécies vegetais (ANVISA. Resolução n. 270, 2005).

Tabela 3: Conteúdo lipídico e de ácidos graxos dos azeites (g/100g de alimento).

	Produto 1	Produto 2	Produto 3
	média (n=1)	média (n=1)	média (n=1)
<b>Azeites</b>			
% Lipídios	83,04	85,27	85,36
AGS	10,64 <sup>a</sup>	12,20 <sup>b</sup>	11,70 <sup>b</sup>
AGM	61,28 <sup>a</sup>	18,77 <sup>b</sup>	24,60 <sup>c</sup>
AGP	9,31 <sup>a</sup>	51,95 <sup>b</sup>	46,68 <sup>c</sup>
AGT	1,81	1,96	1,97
18:1, 10t	0,06	0,02	0,05
18:1, 10c + 15t	1,69 <sup>a</sup>	1,31 <sup>b</sup>	1,34 <sup>b</sup>
18:2, 9c, 12t	0,06 <sup>a</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>
18:2, 9t, 12c	nd <sup>a</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,24 <sup>b</sup>

AGS= ácidos graxos saturados; AGM= ácidos graxos monoinsaturados; AGP= ácidos graxos poliinsaturados; AGT= ácidos graxos *trans*; nd= não detectado. Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Comparando-se os teores declarados nos rótulos dos produtos aos valores obtidos nas análises, verificou-se que os conteúdos de AGT de 34 dos 57 itens analisados (cerca de 60% destes) não estavam adequados às regras da legislação para rotulagem nutricional obrigatória, pois continham quantidades superiores de AGT/ porção que as declaradas nos rótulos (figura 1). De acordo com a legislação vigente, valores de gorduras *trans* menores ou iguais a 0,2 gramas por porção (g/porção) podem ser declarados como “zero” ou “não contém” (ANVISA, 2005). Todos os leites e os requeijões apresentaram níveis de AGT maiores nas análises que nos rótulos ( $p < 0,05$ ). Teores de AGT entre 0,24 e 0,34g/porção foram obtidos em todos os leites analisados, mas apenas o produto 2 declarou conter 0,2g/porção. Em todos os requeijões foram encontrados teores de AGT entre 0,30 e 0,39g/porção, porém, somente o produto 3 considerou a presença destes isômeros como “não contém quantidades significativas”. Dos azeites, os rótulos dos três produtos declararam teores de AGT como “zero”, mas valores superiores foram obtidos nas análises ( $p < 0,05$ ). Dos doze biscoitos cream cracker, apenas dois itens estavam inadequados à legislação, pois um item não declarou seu conteúdo de *trans* e outro apresentou conteúdo maior nas análises que o especificado no rótulo ( $p < 0,02$ ). Dos biscoitos recheados, um lote do produto 1

e os três lotes do produto 2 declararam conteúdos de AGT menores nos rótulos que os das análises ( $p < 0,05$ ). Um lote do biscoito recheado 3 não declarou seu conteúdo de *trans*. Os três lotes da salsicha 1 apresentaram teores de AGT/porção superiores à quantidade permitida para declaração como “não significativa” nos rótulos ( $p < 0,05$ ).

Um fator que pode ter aumentado o teor de AGT nas análises deste estudo em comparação ao conteúdo declarado nos rótulos dos produtos foi o modo de extração dos lipídios. Para a rotulagem nutricional, as indústrias de alimentos são orientadas a realizar análise físico-química dos produtos contendo GVH, margarinas, óleos vegetais ou gordura de ruminantes (ANVISA, 2005). Para tanto, geralmente utiliza-se o método oficial para extração de lipídios dos alimentos de Soxhlet (IAL, 1985) que utiliza solventes menos polares que o deste estudo. A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006), por exemplo, que atualmente é a única tabela brasileira a fornecer a composição de AGT de alimentos, utilizou o método de extração de Soxhlet. Como resultado, o teor de lipídios extraído por aquele método pode ter sido menor que o do método usado neste estudo.

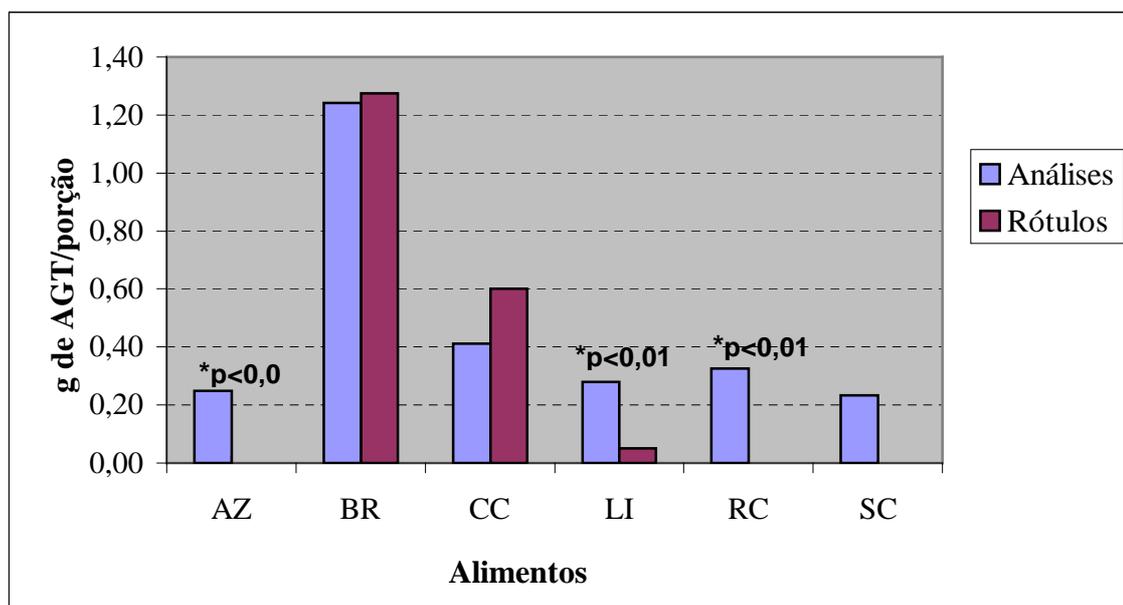


Figura 1: Conteúdo de AGT nas respectivas porções dos alimentos de acordo com os rótulos e nas análises em laboratório. Sendo AZ= azeites, BR= biscoitos recheados, CC= cream cracker, LI= leites integrais, RC= requeijões cremosos, SC= salsichas.

\* Diferença significante no teste *t* pareado entre análises e rótulos ( $p < 0,05$ ).

A declaração como “zero” ou “não contém” de valores de gorduras *trans* menores ou iguais a 0,2g/porção nos rótulos, permitida pela legislação (ANVISA, 2005), pode induzir o consumidor a entender que o produto é isento de AGT, possibilitando a ingestão de quantidades significantes de AGT se consumidas várias porções desse alimento.

Alguns produtos analisados neste trabalho relatavam o uso de “gordura vegetal” apenas entre os ingredientes, mas apresentavam AGT bem como os produtos que relatavam conter GVH. O uso de misturas variadas de óleos e gorduras de fontes diferentes em alimentos processados é comum, mas nem sempre é claramente refletido nos rótulos dos alimentos (VICARIO et al, 2003). A utilização de termos específicos para declarar os tipos de óleos e gorduras utilizados é importante para a identificação dos alimentos contendo AGT.

O tipo de óleos e gorduras utilizados nos produtos contribui grandemente para a variabilidade no conteúdo de AGT dos produtos alimentícios (INNIS et al, 1999). Diferentes

tecnologias têm sido desenvolvidas e usadas pelas indústrias de alimentos para minimizar o conteúdo de AGT, como a interesterificação e o fracionamento de óleos tropicais (TARRAGO-TRANI et al, 2006). Porém, a utilização de GVH ainda é uma das causas importantes para a variação no conteúdo de AGT dos produtos, sendo que sua produção pode resultar em conteúdo variável de isômeros *trans*, dependendo das condições do processo de hidrogenação (INNIS et al, 1999). Os produtores podem ainda usar várias combinações possíveis de óleos não hidrogenados, gordura animal e GVH para atingir as características desejadas do produto final (INNIS et al, 1999; VICARIO et al, 2003). Outros fatores como a disponibilidade regional ou nacional de óleos vegetais, o custo dos óleos comestíveis, os custos do processamento e a capacidade dos processos envolvidos também podem interferir na variabilidade no conteúdo de AGT de produtos alimentícios (INNIS et al, 1999; NIELSEN, 2006).

A variabilidade no conteúdo de AGT dos alimentos é também resultado das sucessivas adaptações nos conteúdos de AGT que foram acontecendo nos produtos nestes últimos anos. Estas adaptações, bem como o estabelecimento de legislações para eliminar os AGT produzidos industrialmente, são responsáveis pelas diferenças no conteúdo de AGT entre os países. Na Dinamarca, desde 2004, foi aprovada legislação limitando o uso de gorduras *trans* nos produtos alimentícios e o conteúdo de AGT efetivamente diminuiu nos alimentos (STENDER et al, 2006). No Canadá, a rotulagem nutricional obrigatória do conteúdo de AGT em produtos industrializados foi regulamentada em 2005 e, segundo Friesen e Innis (2006), a exposição aos AGT provenientes de GVH já diminuiu no país. Nos EUA, em 2006, foi determinada a inclusão obrigatória de gorduras *trans* nos rótulos dos produtos americanos e muitos deles já estão livres de AGT (*Food and Drug Administration*, 2005; MOZAFFARIAN et al, 2006). Na Holanda, os AGT produzidos industrialmente foram eliminados como resultado de iniciativas das indústrias, iniciadas em 1995, sem interferência governamental (KATAN, 2006). Na Costa Rica, foi

defendida recentemente a inclusão de gorduras *trans* na rotulagem nutricional (OPAS/OMS, 2007), e já se observa uma tendência de diminuição no conteúdo de AGT dos alimentos (BAYLIN et al, 2007). Na Austrália e na Nova Zelândia, não há regulamentações, mas os governos estão trabalhando juntos para reduzir os AGT nos produtos alimentícios (GLADDING e BENATAR, 2007). Em ambos países, uma diminuição do conteúdo de AGT de produtos, como as margarinas, já foi observada (CLIFTON et al, 2004; SAUNDERS et al, 2008).

As diferenças observadas nos conteúdos de AGT de alimentos similares em países diferentes reforçam a importância de se ter de informações nutricionais específicas para cada país. É reforçada também a idéia de que estimativas da ingestão desses AG por indivíduos devem ser realizadas utilizando tabelas de composição de alimentos nacionais e atuais. Por sua vez, a variabilidade do conteúdo de AGT dentro de um alimento pode limitar o uso de valores médios de AGT para alimentos nas tabelas. Portanto, deve-se considerar alimentos específicos, por marca ou tipo de gordura utilizada, quando estimações da ingestão de AGT forem pretendidas (INNIS et al, 1999).

Uma das limitações do presente estudo pode estar relacionada ao procedimento de escolha dos alimentos analisados que foi obtido com informações de tabela internacional com banco de dados já antigo, o USDA de 1999. As rápidas mudanças na formulação dos produtos fazem necessárias modificações nos bancos de dados para manter os dados de consumo de AGT exatos (ECKEL et al, 2007). Outra limitação deste estudo foi referente à sobreposição de picos dos isômeros 18:1,10c e 18:1,15t nos cromatogramas, impossibilitando a confirmação do conteúdo de *trans* naqueles alimentos em que o 18:1,10c+15t foi o principal AGT encontrado. Esta foi uma limitação do método de análise de AG, pois apesar da coluna capilar de 100m e do programa de temperatura utilizados, houve baixa resolução na separação destes picos.

Os resultados deste estudo mostraram baixa variação inter-produto no conteúdo de AGT dos alimentos contendo GVH analisados, e possivelmente menor quantidade de AGT do que os produtos analisados antes da vigência da rotulagem nutricional com declaração do teor de *trans* no Brasil. No entanto, os conteúdos de *trans* de proporção considerável dos produtos analisados não estavam adequados à legislação. Dessa forma, a adoção de medida normativa como a recomendada pelo grupo de trabalho “Américas livres de gorduras *trans*” da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS)/OMS, com um limite máximo de 2% de gorduras *trans* na quantidade total de gorduras em óleos vegetais e margarinas cremosas e menos de 5% em todos os outros alimentos (OPAS/OMS, 2007), seria fundamental para a diminuição mais efetiva das gorduras *trans* nos produtos industrializados comercializados no Brasil.

#### **7.4. Conclusão**

Houve pouca variação inter-produtos no conteúdo de AGT dos alimentos analisados neste estudo. Estes resultados podem ser explicados pelas sucessivas adaptações nos conteúdos de *trans* que vem acontecendo desde a obrigatoriedade da rotulagem nutricional de alimentos contendo AGT no Brasil. Contudo, os conteúdos de *trans* de proporção considerável dos produtos analisados estavam acima do limite mínimo para declaração de sua ausência no rótulo.

## 7.5. Referências Bibliográficas

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Universidade de Brasília – Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Universidade de Brasília, 2005. Rotulagem nutricional obrigatória: manual de orientação às indústrias de alimentos; 2ª versão.

AUED-PIMENTEL S, CARUSO MSF, CRUZ JMM, KUMAGAI EE, CORRÊA DUO. Ácidos graxos saturados *versus* ácidos graxos *trans* em biscoitos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2003; 62 (2): 131-137.

BAYLIN A, SILES X, DONOVAN-PALMER A, FERNANDEZ X, CAMPOS H. Fatty acids composition of Costa Rican foods including trans fatty acid content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007; 20: 182-192.

BERTOLINO CN, CASTRO TG, SARTORELLI DS, FERREIRA SRG, CARDOSO MA. Influência do consumo alimentar de ácidos graxos *trans* no perfil de lipídios séricos em nipo-brasileiros de Bauru, São Paulo, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 2006; 22 (2): 357-364.

BRASIL ANVISA. Resolução n. 360, de 23/12/2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.

BRASIL ANVISA. Resolução n. 270, de 22/09/2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal.

CANTWELL MM, FLYNN MAT, CRONIN D, O'NEILL JP, GIBNEY MJ. Contribution of foods to trans unsaturated fatty acid intake in a group of Irish adults. *J. Hum. Nutr. Dietet.*, 2005; 18: 377-385.

CHIARA VL, SICHIERI R, CARVALHO TSF. Teores de ácidos graxos *trans* de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição*, 2003. 16 (2): 227-233.

CLIFTON PM, KEOGH JB, NOAKES M. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *The Journal of Nutrition*, 2004; 134: 874-879.

ECKEL RH, BORRA S, LICHTENSTEIN AH, YIN-PIAZZA SY. Understanding the complexity of trans fatty acid reduction in the American diet. *Circulation*, 2007; 115: 2231-2246.

FOLCH J, LEES M, STANLEY GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Of Biol. Chem.*, v. 226, n. 1, p. 497-509. 1957.

*Food and Drug Administration*. FDA acts to provide better information to consumers on trans fats, 2005. (Acessado em 22 de abril de 2008, em <http://www.fda.gov/oc/initiatives/transfat/>)

FRIESEN R, INNIS SM. Trans fatty acids in human milk in Canada declined with the introduction of trans fat food labeling. *The Journal of Nutrition*, 2006; 136: 2558-2561.

GLADDING P, BENATAR JR. Trans fats in New Zealand: time for labelling regulations? *Journal of the New Zealand Medical Association*, 2007; 120 No 1265. (Acessado em 22 de abril de 2008, em <http://www.nzma.org.nz/journal/120-1265/2801/>)

Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

HAMILTON RJ, HAMILTON S. Lipid Analysis: a practical approach, 1992. **IRL PRESS**, 1992.

HOLLAND B, WELCH AA, UNWIN ID, BUSS DH, PAUL AA, SOUTHGATE DAT. McCance and Widdowson's: The composition of foods. 5ª Ed. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1993.

HUANG Z, WANG B, PACE RD, OH JH. Trans fatty acid content of selected foods in an African-american community. *Food Chemistry and Toxicology*, 2006; 71 (6).

INNIS SM, GREEN TJ, HALSEY TK. Variability in the trans fatty acid content of foods within a food category: implications for estimation of dietary trans fatty acid intakes. *Journal of the American College of Nutrition*, 1999; 18 (3): 255-260.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1985. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3ed. São Paulo: Vol. 1.

KATAN MB. Regulation of trans fats: the gap, the polder, and McDonald's French fries. *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 63-66.

LEVY-COSTA RB, SICHIERI R, PONTES NS, MONTEIRO CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Revista de Saúde Pública*, 2005; 39 (4): 530-540.

MARTIN CA, CARAPELLI R, VISANTAINER JV, MATSUSHITA M, SOUZA NE. Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. *Food Chemistry*, 2005; 93: 445-448.

MOZAFFARIAN D, KATAN MB, ASCHERIO A, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 2006; 354 (15): 1601-1613.

NIELSEN K. Is the quality and cost of food affected if industrially produced trans fatty acids are removed? *Atherosclerosis Supplements*, 2006; 7: 61-62.

RATNAYAKE WMN, HANSEN SL, KENNEDY MP. Evaluation of the CP-Sil 88 and SP-2560 GC columns used in the recently approved AOCS Official Method Ce 1h-05: determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary CLC method. *JAOC*, 2006; 83 (6): 475-488.

Relatório do Grupo de trabalho da OPAS/OMS "Américas livres de gorduras *trans*" – Conclusões e recomendações. Washington, D.C., 26 e 27 de abril de 2007.

SAUNDERS D, JONES S, DEVANE GL, SCHOLES P, LAKE RJ, PAULIN SM. Trans fatty acids in the New Zealand food supply. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008. Article in press.

STENDER S, DYERBERG J, ASTRUP A. Consumer protection through a legislative ban on industrially produced *trans* fatty acids in foods in Denmark. *Scandinavian Journal of Food & Nutrition*, 2006; 50(4): 155-160.

**Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**, versão 2, segunda edição. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.

TARRAGO-TRANI M, PHILLIPS KM, LEMAR LE, HOLDEN JM. New and existing oils and fats used in products with reduced trans-fatty acid content. *Journal of the American Dietetic Association*, 2006; 106: 867-880.

USDA – *United States Department of Agriculture*. Composition of foods raw, processed, prepared in USDA Nutrient database for standard reference. Release 13. Beltsville, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center, Nutrient data laboratory, 1999.

VICARIO IM, GRIGUOL V, LEÓN-CAMACHO M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of Spanish cookies and bakery products. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51: 134-139.

WAGNER K-H, AUER E, ELMADFA I. Content of trans fatty acid in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000; 210: 237-241.

World Health Organization. WHO Technical report series 916. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint FAO/WHO Expert Consultation, World Health Organization, Geneva, 2003.

YOKOTA RT, VASCONCELOS TF, ITO M K, DUTRA ES, BAIOCCHI KC, MERCHÁN-HAMANN E, LOPES EB, BARBOSA RB. Prevalência de fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis em duas regiões do Distrito Federal. *Com. Ciências Saúde*, 2007; 18 (4): 289-296.

## **PARTE III**

## 8. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados desse estudo permitem concluir que:

- Os alimentos contendo os maiores conteúdos de ácidos graxos *trans* foram a margarina hidrogenada, o biscoito recheado e a mistura para bolo.
- Dos alimentos contendo gordura de ruminantes, o requeijão foi o que apresentou o maior conteúdo de ácidos graxos *trans*.
- Os isômeros *trans*, ácido elaídico, ácido vacênico e o 18:1,10t foram os principais AGT presentes nos alimentos analisados. Isômeros *trans* do 18:2 e 16:1t também foram encontrados nestes alimentos, mas em níveis menores.
- Em relação ao potencial nutricional dos alimentos em relação a sua composição lipídica, avaliado pelos índices nutricionais  $\sum\text{AGS}/\sum\text{AGP}$ ,  $\sum\text{AGT}/\sum\text{AGP}$  e  $\sum\text{AGS}+\text{AGT}/\sum\text{AGM}+\text{AGP}$ , a mistura para bolo, o biscoito recheado, o requeijão e o leite foram os que apresentaram valor nutricional mais baixo, enquanto os azeites, a margarina interesterificada e a batata frita de serviços de alimentação mostraram composição lipídica de melhor qualidade.

- Dentre os seis alimentos avaliados quanto a variabilidade em relação ao rótulo, 60% dos itens não estavam em adequação à legislação para rotulagem nutricional dos alimentos quanto ao conteúdo de *trans* declarado.
- A pouca variabilidade no conteúdo de AGT entre os produtos dos alimentos analisados pode ser reflexo da variação entre os lotes. Esta variação é sugerida como resultado da vigência da legislação para declaração obrigatória do conteúdo de *trans* nos rótulos que vem contribuindo para uma redução do conteúdo de AGT dos produtos alimentícios brasileiros.

## **9. ANEXOS**

## **9.1. CAPÍTULO 3:**

Composição de ácidos graxos de margarinas à base de  
gordura hidrogenada ou interesterificada

### **Autores:**

Thaís A. CAVENDISH, Paula B. LEMOS, Renata T.C. YOKOTA, Tatiana  
VASCONCELOS, Priscila COELHO, Marcelo BUZZI, Marina K. ITO

### **Submetido à revista:**

*Ciências e Tecnologia de Alimentos*

## RESUMO

Foi analisado o conteúdo de ácidos graxos (AG) de 12 marcas de margarinas à base de óleos vegetais parcialmente hidrogenados ou interesterificados comercializados no Distrito Federal. As margarinas foram agrupadas pelo tipo de óleos utilizados em sua produção e o percentual médio de lipídios em GH-T (margarinas hidrogenadas com 50% de lipídios), GH-L (hidrogenadas com 20%), GI-T (interesterificadas com 65%) e GI-L (interesterificadas com 30%). O perfil de AG foi obtido por cromatografia gasosa em coluna capilar SP2560®. O conteúdo de AG *trans* (AGT) no GH-T ( $7,91 \pm 1,05\text{g}/100\text{g}$ ) foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) que no GH-L ( $2,46 \pm 0,39\text{g}/100\text{g}$ ), GI-T ( $1,29 \pm 0,47\text{g}/100\text{g}$ ) e GI-L ( $0,65 \pm 0,24\text{g}/100\text{g}$ ). Houve diferença significativa no conteúdo total de AG saturados (AGS) e insaturados (AGI) entre os grupos GH-T e GI-T, sendo maior no GI-T, seguido de GH-T e sem diferença significativa entre GH-L e GI-L. Porém, as razões entre  $\sum\text{AGP}/\sum\text{AGS}$  das margarinas não variou entre os grupos, enquanto as razões entre  $\sum\text{AGP}/\sum\text{AGT}$  nas margarinas GI-T e GI-L foram superiores às demais. Os resultados obtidos indicam que as margarinas GI-T e GI-L seriam mais apropriadas para consumo humano, por possuírem menos AGT e uma melhor razão AGP/AGT que as demais.

**Palavras-chave:** ácidos graxos, isômeros *trans*, margarinas, hidrogenação, interesterificação, rotulagem.

## SUMMARY

FATTY ACID COMPOSITION OF HYDROGENATED OR INTERESTERIFIED MARGARINES. The content of fatty acids (FA) of 12 margarine brands produced with partially hydrogenated or interesterified vegetable oils marketed in Distrito Federal was analysed. The margarines were grouped into 4 groups by the type of oils used in their production and by the average percentage of lipids: GH-T (hydrogenated margarines with 50% of lipids), GH-L (hydrogenated with 20%), GI-T (interesterified with 65%) and GI-L (interesterified with 30%). The fatty acid profile was obtained by gas chromatography in a SP2560® capillary column. The content of *trans* fatty acids (TFA) in GH-T ( $7,91 \pm 1,05\text{g}/100\text{g}$ ) was significantly higher ( $p < 0,05$ ) than in GH-L ( $2,46 \pm 0,39\text{g}/100\text{g}$ ), GI-T ( $1,29 \pm 0,47\text{g}/100\text{g}$ ) and GI-L ( $0,65 \pm 0,24\text{g}/100\text{g}$ ). There was a significant difference in the total content of saturated fatty acids (SFA) and in the unsaturated fatty acids (UFA) among the groups GH-T and GI-T, being higher in GI-T, followed by GH-T and with no significant difference between GH-L and GI-L. The  $\sum\text{PUFA}/\sum\text{SFA}$  ratio of the margarines were unchanged among the groups, while the  $\sum\text{PUFA}/\sum\text{TFA}$  ratio in the GI-T and GI-L groups were higher than in the others. The results suggest that GI-L and GI-T margarines would be more appropriate for human intake due to lower content of TFA and higher PUFA/TFA ratio than the others.

**Keywords:** fatty acids, *trans* isomers, margarines, hydrogenation, interesterification, labelling.

## 1 – INTRODUÇÃO

Estudos recentes indicam que os ácidos graxos *trans* (AGT) dietéticos têm efeitos adversos à saúde, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), tais como a elevação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL), entre outros (ASCHERIO, WILLET, 1997; WILLET, 2006). A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza que a ingestão diária de AGT seja inferior a 1% do consumo energético total diário (WHO, 2003). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tornou obrigatória, em dezembro de 2003, a rotulagem nutricional com declaração do conteúdo de AGT. O prazo limite para adequação dos rótulos dos produtos foi dezembro de 2006 (ANVISA, 2006).

Os AGT estão presentes principalmente em alimentos processados que utilizam gordura vegetal parcialmente hidrogenada na sua formulação, tais como em margarinas, cremes vegetais, biscoitos, sorvetes, pães, batatas fritas de lanchonetes, produtos de pastelaria, bolos, massas, entre outros. Além dos alimentos processados, os produtos derivados de animal ruminante fornecem pequena quantidade de AGT, produzidos pela biohidrogenação (CHIARA, SICHIERI, CARVALHO, 2003).

O processo de hidrogenação de óleos foi desenvolvido com a função de modificar os óleos vegetais líquidos como substitutos da funcionalidade da gordura animal na produção de alimentos. A margarina foi um dos produtos criados com o advento da hidrogenação, com intuito de substituir a manteiga (VALENZUELA, MORGADO, 1999), considerada aterogênica. De acordo com a legislação brasileira atual, a margarina é o produto gorduroso em emulsão estável com leite ou seus constituintes ou derivados, com no máximo 95% de gordura total (MAPA, 1997). Assim, o conteúdo de AGT nas margarinas pode variar de acordo com o conteúdo e o grau de hidrogenação da matéria prima gordurosa utilizada.

A margarina é um produto que compõe a dieta do brasileiro (MONDINI, MONTEIRO, 1995) e é um dos alimentos cujo conteúdo de AGT tem se adaptado à nova legislação. Uma alternativa interessante parece ser o uso de gorduras interesterificadas na sua formulação. O processo de interesterificação possibilita a produção de gorduras livres ou com teor muito baixo de AGT, a partir do rearranjo dos ácidos graxos (AG) nas ligações éster do glicerol e conseqüente modificação do ponto de fusão e de cristalização da gordura (D'AGOSTINI, 2001), tendo como

produto final uma matéria prima com funcionalidades semelhantes, porém quimicamente diferentes das gorduras hidrogenadas. As gorduras interesterificadas são as novas alternativas para as hidrogenadas, porém há a preocupação em relação ao aumento no consumo de ácidos graxos saturados (AGS) a partir destes produtos (FARMANI, HAMEDI, SAFARI, 2008; LOPEZ-HERNANDEZ et al, 2007).

No Brasil, existe uma escassez de dados sobre AG em alimentos, especialmente dos AGT. Desta forma, este trabalho teve como objetivo 1) quantificar o teor de lipídios e o perfil de AG, com foco nos AGT, em margarinas comercializadas no Distrito Federal (DF), 2) compará-los com informações nutricionais dos rótulos e da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (TACO, 2006) e 3) identificar variações no conteúdo relativo de AGT entre diferentes marcas e grupos de margarinas.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 12 marcas de margarinas comercializadas no Distrito Federal. Estas marcas foram definidas a partir de informações de consumo alimentar obtidas de uma amostra selecionada aleatoriamente de duas regiões do Distrito Federal para investigar fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis no DF, conforme detalhado em publicação anterior (YOKOTA et al, 2007). No questionário da pesquisa foram perguntadas as marcas de margarinas normalmente consumidas, tendo sido relatadas 7 marcas. Outras 5 foram escolhidas em função da sua composição, completando as 12 marcas, constituindo 4 grupos: GH-T (n=4), grupo composto por margarinas hidrogenadas tipo tradicional com percentual médio de lipídios de 50%; GH-L (n=2), composto por margarinas hidrogenadas com percentual médio de lipídios de 20%, considerada a versão *light*; GI-T (n=4), composto por margarinas interesterificadas com percentual médio de lipídios de 65%; e GI-L (n=2), composto por margarinas interesterificadas com percentual médio de lipídios de 30%. Para cada marca foram adquiridos 2 lotes, com exceção do grupo GI-L, totalizando 22 amostras analisadas em duplicatas. Todas as informações nutricionais dos rótulos das margarinas foram coletadas para posterior comparação.

As margarinas foram adquiridas em mercados locais e conservadas sob refrigeração para análise no Laboratório de Bioquímica da Nutrição da Universidade de Brasília (UnB). Os lipídios

foram extraídos pelo método Folch (FOLCH, STANLEY, 1957) e os respectivos pesos aferidos por gravimetria. Os AG foram transesterificados em tolueno e solução metanólica de ácido sulfúrico a 1%, à temperatura de 50°C por 12 horas (HAMILTON, HAMILTON, 1992). Os metil ésteres de AG foram ressuspensos em isoctano a uma concentração de 10mg/ml, e 1 µL foi injetado em coluna capilar SP 2560 (Supelco®, 100m x 0,25mm x 0,20µm) acoplado ao cromatógrafo a gás modelo GC 17 A (Shimadzu®). As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor a 250°C; temperatura do detector a 250°C; temperatura inicial da coluna de 125°C durante 3 min, aumento de 10°C/min até 170°C, 3°C/min até 176°C, 2°C/min até 185°C, 1°C/min até 190°C, 5°C/min até 240°C e temperatura final de 250°C (RATNAYAKE, HANSEN, KENNEDY, 2006). O gás de arraste foi o hidrogênio. Os resultados foram integralizados através do CBM101 e programa CLASS-GC10 (Shimadzu®); e a identificação dos AG feita com auxílio de padrões comerciais externos (Sigma Aldrich® e AccuStandard®).

Os AG foram calculados como percentuais em relação à área total de AG identificados e calculados para 100g de margarina utilizando o fator de conversão de 0,956 (HOLLAND et al, 1997). Os valores obtidos de cada AG referem-se às médias das amostras em duplicatas. O programa estatístico SAS v. 8.2 foi utilizado para comparação dos resultados, aplicando-se análise de variância com  $p < 0,05$  e teste Tukey para identificar as possíveis diferenças entre as amostras, além do teste T de Student para identificar diferenças entre rótulos e análises.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 27 AG (tabela 1), sendo 3 deles os isômeros *trans* C18:1-9t, C18:1-11t, C18:2-9t,12c/9c,12t. Os AG encontrados em maior quantidade em todas as margarinas foram os ácidos linoléico (C18:2n-6) e o oléico (C18:1n-9) sendo a maior concentração de linoléico ( $26,78 \pm 2,25\text{g}/100\text{g}$ ) encontrada na margarina GI-T. A maior concentração de ácido oléico ( $> 13\text{g}/100\text{g}$ ) foi encontrada nas margarinas GH-T e GI-T. Dentre os ácidos graxos saturados, o palmítico (16:0) e o esteárico (18:0) foram os mais abundantes, principalmente nas margarinas do grupo GI-T seguido de GH-T. Entre os ácidos graxos *trans*, o elaídico (C18:1-9t) foi o mais abundante ( $6,83 \pm 0,99\text{g}/100\text{g}$ ), presente nas margarinas do grupo GH-T e em menor quantidade no grupo GI-L ( $0,16 \pm 0,13\text{g}/100\text{g}$ ). Os demais AG *trans* identificados nestas amostras foram em quantidades menores, porém significativamente maiores no grupo GH-T em relação aos demais

grupos. Os AG C20:1 e C18:3n-3 estão apresentados como valor único devido a sobreposição dos picos destes AG nos cromatogramas. Este valor foi considerado apenas para o cálculo do total de poliinsaturados.

**Tabela 1.** Composição de ácidos graxos das margarinas à base de gordura vegetal hidrogenada ou interesterificada, Distrito Federal, 2007. Valores percentuais em 100g de produto.

Ácidos graxos	GH-T (%) (n=4)	GH-L(%) (n=2)	GI-T(%) (n=4)	GI-L(%) (n=2)
C4:0	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,03	0,00 ± 0,00
C6:0	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00
C10:0	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>
C12:0	0,12 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,35 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,26 <sup>a</sup>
C14:0	0,11 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,71 ± 0,22 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,15 <sup>a</sup>
C15:0	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,00 ± 0,00
C16:0	5,48 ± 1,09 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,12 <sup>b</sup>	7,54 ± 1,01 <sup>c</sup>	3,89 ± 0,78 <sup>a, b</sup>
C17:0	0,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>b</sup>
C18:0	5,13 ± 1,13 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,11 <sup>b</sup>	6,26 ± 0,92 <sup>a</sup>	2,42 ± 1,22 <sup>b</sup>
C20:0	0,29 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,05 <sup>b</sup>
C21:0	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>
C22:0	0,36 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,06 <sup>a, b</sup>	0,37 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,06 <sup>b</sup>
C23:0	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>
C24:0	0,12 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Total de AGS</b>	<b>11,80 ± 2,16<sup>a</sup></b>	<b>4,50 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>16,56 ± 0,80<sup>c</sup></b>	<b>7,17 ± 1,16<sup>b</sup></b>
C16:1n-7	0,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>a, b</sup>
C17:1	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>a, b</sup>
C18:1n-9	13,50 ± 1,73 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,16 <sup>b</sup>	13,43 ± 2,02 <sup>a</sup>	9,62 ± 4,62 <sup>a, b</sup>
C22:1n-9	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00
C24:1	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00
<b>Total de AGM</b>	<b>13,58 ± 1,74<sup>a</sup></b>	<b>4,85 ± 0,17<sup>b</sup></b>	<b>13,53 ± 2,02<sup>a</sup></b>	<b>9,66 ± 4,30<sup>a, b</sup></b>
C18:2n-6	14,35 ± 2,71 <sup>a</sup>	6,57 ± 0,16 <sup>b</sup>	26,78 ± 2,25 <sup>c</sup>	9,95 ± 1,91 <sup>a, b</sup>
C18:3n-6	0,17 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,26 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,09 <sup>a, b</sup>
C20:1 + C18:3n-3	1,31 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,08 <sup>b</sup>	2,68 ± 0,17 <sup>c</sup>	1,36 ± 0,61 <sup>a</sup>
C20:2	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
C20:3n-3	1,96 ± 0,24 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,15 <sup>b</sup>	2,11 ± 0,57 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>c</sup>
<b>Total de AGP</b>	<b>17,80 ± 3,04<sup>a</sup></b>	<b>8,28 ± 0,26<sup>b</sup></b>	<b>31,85 ± 2,45<sup>c</sup></b>	<b>11,61 ± 4,30<sup>b</sup></b>
C18:1-9t	6,83 ± 0,99 <sup>a</sup>	2,05 ± 0,41 <sup>b</sup>	0,29 ± 0,34 <sup>c</sup>	0,16 ± 0,13 <sup>c</sup>
C18:1-11t	1,00 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,83 ± 0,12 <sup>c</sup>	0,48 ± 0,26 <sup>c</sup>
C18:2-9t,12c/9c,12t	0,07 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Total de AGT</b>	<b>7,91 ± 1,05<sup>a</sup></b>	<b>2,46 ± 0,39<sup>b</sup></b>	<b>1,29 ± 0,47<sup>b</sup></b>	<b>0,65 ± 0,24<sup>c</sup></b>
<b>Razão <math>\sum</math>AGP/<math>\sum</math>trans</b>	<b>2,25<sup>a</sup></b>	<b>3,36<sup>b</sup></b>	<b>24,69<sup>c</sup></b>	<b>17,86<sup>d</sup></b>
<b>Razão <math>\sum</math>AGP/<math>\sum</math>AGS</b>	<b>1,51</b>	<b>1,84</b>	<b>1,92</b>	<b>1,62</b>

Os valores seguidos por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes (p<0,05) pelo teste Tukey.

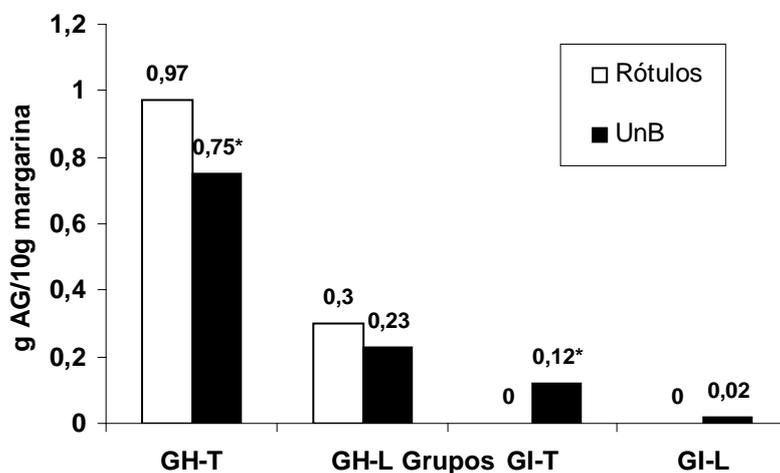
Na TACO (TACO, 2006), que é a primeira tabela brasileira com informações sobre AGT em alimentos nacionais, as margarinas que utilizam 65% de óleos vegetais parcialmente hidrogenados na sua composição apresentam predominância dos AG linoléico (C18:2n-6;

19,48%), oleico (C18:1n-9; 17,87%), C18:1-t (8,69%), palmítico (16:0; 8,29%) e esteárico (18:0; 5,75%). As margarinas que empregam óleos vegetais interesterificados apresentam um conteúdo reduzido de C18:1-t (0,12%), e aumentadas em relação aos linoléico e palmítico das hidrogenadas (TACO, 2006). Os resultados do presente estudo são comparáveis aos da tabela TACO, havendo ligeira diferença no percentual de alguns AG. Em relação aos AGT, o resultado da margarina GH-T (7,91g/100g) é próximo ao da tabela TACO (8,69g/100g). Entretanto, em relação às margarinas GI-T, os valores são diferentes (TACO: 0,12g/100g e neste estudo: 1,29g/100g). Uma possível explicação é o fato da tabela TACO ter identificado apenas um AGT, além das diferenças prováveis de marcas e de composição entre as margarinas deste estudo com as analisadas na TACO. Observa-se ainda, tanto na tabela TACO como no presente estudo, que nas margarinas GI, o reduzido teor de AGT foi compensado pela maior quantidade de AG insaturados (C18:1n-9 no GI-L e C18:2n-6 no GI-T) e saturados (16:0).

Analisando os teores dos ácidos graxos por grau de saturação (tabela 1), verifica-se que as margarinas GI-T apresentam maior conteúdo de AGS ( $16,56 \pm 0,80$  g/100g) bem como de ácidos graxos monoinsaturados (AGM) + ácidos graxos poliinsaturados (AGP) ( $45,37 \pm 8,84$  g/100g) em relação aos outros grupos. Este resultado é relevante, uma vez que há a preocupação do aumento significativo do conteúdo de gorduras saturadas em consequência da redução de gorduras *trans* nos produtos alimentícios, pois as primeiras também contribuem para o aumento do risco de DCV (GRUNDY, DENKE, 1990). Contudo, as razões  $\sum\text{AGP}/\sum\text{AGS}$  das margarinas não variaram entre os grupos (tabela 1). Outro resultado interessante é o fato de as razões  $\sum\text{AGP}/\sum\text{AGT}$  nas margarinas GI-T e GI-L terem sido superiores às demais.

As quantidades de *trans* nas marcas analisadas não variaram dentro de cada um dos quatro grupos. Entretanto, nas margarinas do grupo GH-T, houve variação entre as marcas, tanto para os AGS ( $p < 0,01$ ) como para os AGP ( $p < 0,01$ ).

Comparando-se os valores de AG descritos nos rótulos das margarinas com os obtidos nas análises laboratoriais, observou-se que para os AGS, os rótulos mostraram valores próximos, porém maiores ( $p < 0,05$ ) para as margarinas tradicionais. Para os AGI, os rótulos das margarinas tradicionais e GH-L também foram maiores ( $p < 0,05$ ). Em relação aos AGT (figura 1), o rótulo do grupo GH-T foi maior e o do grupo GI-T foi menor do que nas análises ( $p < 0,05$ ). Ressalta-se que apesar destas diferenças, todos os valores de AGT dos rótulos estavam dentro dos parâmetros previstos pela legislação (ANVISA, 2006).



**Figura 1.** Teores de AGT apresentados nos rótulos das margarinas e análise laboratorial (g/porção de 10g). \*  $p < 0,05$  pelo teste T de Student.

Wagner e colaboradores (WAGNER, AUER, ELMADFA, 2000) detectaram 1,6% de AGT em relação ao total de lipídios das margarinas analisadas. Torres e colaboradores (TORRES, CASAL, OLIVEIRA, 2002), em estudo realizado em Portugal, encontraram o valor médio de 2,5% de AGT nas margarinas, assim como Larqué e colaboradores (LARQUÉ et al, 2003) em margarinas espanholas. No estudo de Triantafillou e colaboradores (TRIANAFILLOU, ZOGRAFOS, KATSIKAS, 2003), o conteúdo de AGT de margarinas gregas foi considerado relativamente baixo, porém segundo os autores, havia uma quantidade elevada de AGS, não condizente com os rótulos. Huang e colaboradores (HUANG et al, 2006), analisando diversos alimentos consumidos em comunidades afroamericanas, constataram que as margarinas apresentavam um teor de 19,13% de AGT. No presente estudo, o conteúdo de AGT de margarinas do grupo GH-T é intermediário em relação aos estudos mencionados. No nosso estudo, a diferença no conteúdo de AG dos rótulos em relação à análise podem ser decorrentes de diferenças nos métodos de análise.

Em relação aos óleos utilizados, as marcas apenas informavam se eram hidrogenados e/ou interesterificados, sem especificar o tipo e/ou os tipos de óleos contidos nestas misturas. Além disso, algumas marcas apenas relatavam “óleos vegetais” entre os ingredientes, sem especificar o

processamento aplicado. Apesar de não ser informação obrigatória em rótulo, a declaração dos tipos de óleos utilizados é de interesse para o consumidor, pois uma quantidade inferior a 0,2g de AGT por porção pode ser legalmente considerada nula (ANVISA, 2006), mas pode ser significativa quando a ingestão é maior do que uma porção.

#### 4 - CONCLUSÃO

Conclui-se que os rótulos das margarinas analisadas neste estudo estão adequados quanto à legislação em vigor. A comparação entre os teores de AG entre as margarinas interesterificadas e hidrogenadas indica que as interesterificadas seriam mais recomendadas para consumo humano, por possuírem menor teor de AGT que as demais, especialmente GI-L. Soma-se ainda o fato de as razões entre  $\sum AGP/\sum AGT$  nestas margarinas terem sido superiores às demais, resultando em maior fornecimento de AGP aos consumidores.

#### 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASCHERIO, A.; WILLET, W. C. Health effects of *trans* fatty acids. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 66, p. 1006-10, 1997.
2. BRASIL. Portaria n. 372, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Margarina. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de setembro de 1997, Seção 1, p.19702.
3. BRASIL. Resolução RDC nº 360, de 26 de dezembro de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2006.
4. CHIARA, V.L.; SICHIERI, R.; CARVALHO, T.D.S.F.D. Teores de ácidos graxos *trans* de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. **Rev. Nutr.** V. 16, n. 2, p. 227-233, 2003.
5. D'AGOSTINI, D. **Obtenção de lipídios estruturados por interesterificação de triacilgliceróis de cadeia média e longa.** 167 p. Tese (Doutora em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), 2001.

6. FARMANI, J.; HAMEDI, M.; SAFARI, M. Production of zero trans Iranian vanaspati using chemical transesterification and blending techniques from palm olein, rapeseed and sunflower oils. **Int. J. Food Sci. Tech.**, v. 43, n. 3, p. 393-399, 2008.
7. FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Of Biol. Chem.**, v. 226, n. 1, p. 497-509. 1957.
8. HAMILTON, R.J.; HAMILTON, S. Lipid Analysis: a practical approach, 1992. **IRL PRESS**, 1992.
9. HOLLAND, B.; WELCH, A.A.; UNWIN, I.D.; BUSS, D.H.; PAUL, A.A.; SOUTHGATE, D.A.T. **McCance and Widdowson's The composition of Foods**. 5a. Ed., Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1997.
10. HUANG, Z.; WANG, B.; PACE, R. D.; OH, J. H. *Trans* fatty acid content of selected foods in an African-American Community. **J. Of Food Science**, v. 71, n. 6, 2006.
11. LARQUÉ, E.; GARAULET, M.; PÉREZ-LLAMAS, F.; ZAMORA, S.; TEBAR, J. Composición en ácidos grasos de las margarinas de mayor consumo en España y su importancia nutricional. **Grasas y Aceites**, v. 54, n. 1, p. 65-70, 2003.
12. LOPEZ-HERNANDEZ, A.; OTERO, C.; HERNANDEZ-MARTÍN, E.; GARCIA, H. S.; JR., C. G. H. Interesterification of sesame oil and a fully hydrogenated fat using an immobilized lipase catalyst in both batch and continuous-flow processes. **Eur. J. Lip. Sci. Tech.**, v. 109, n. 12, p. 1147-1159, 2007.
13. MONDINI, L.; MONTEIRO, C. A. Mudanças no padrão de alimentação. In: **Velhos e Novos Males da Saúde no Brasil. A Evolução do País e de suas Doenças** (C. A. Monteiro, org.), São Paulo, p. 79-89, Editora Hucitec, Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde, Universidade de São Paulo, 1995.
14. RATNAYAKE, W.M.N.; HANSEN, S.L.; KENNEDY M.P. Evaluation of the CP-Sil88 and SP-2560 GC columns used in the recently approved AOCS Official Method Ce 1h-05: Determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC method. **JAOCs**, v. 83, n.6, p. 475-488, 2006.
15. GRUNDY, S. M.; DENKE, M. A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **J. Lip. Research**, v. 31, p. 1149-1172, 1990.

16. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**, versão 2, segunda edição. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.
17. TORRES, D; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. Fatty acid composition of Portuguese spreadable fats with emphasis on *trans* isomers. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 21, n. 4, p. 108-11, 2002.
18. TRIANTAFILLOU, D.; ZOGRAFOS, V.; KATSIKAS, H. Fatty acid content of margarines in the Greek market (including *trans* fatty acids): a contribution to improving consumers' information. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v. 54, n. 2, p. 135-41, 2003.
19. VALENZUELA, A.; MORGADO, N. *Trans* fatty acid isomers in human health and in the food industry. **Biol. Res.**, Santiago, v. 32, n. 4., p. 273-87, 1999.
20. WAGNER, K.; AUER, E.; ELMADFA, I. Content of *trans* fatty acids in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 210, p. 237-41, 2000.
21. WILLETT, W.C. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease – epidemiological data. **Atheroscl. Supplements**, Boston, v. 7, n. 2, p. 5-8, 2006.
22. WHO. Technical Report Series 916. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Geneva. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. 2003
23. YOKOTA, R. T.; VASCONCELOS, T. F.; ITO, M. K.; DUTRA, E. S.; BAIOCCHI, K. C.; MERCHÁN- HAMANN, E. ; LOPES, E. B.; BARBOSA, R. B. Prevalência de fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis em duas regiões do Distrito Federal. **Com. Ciências Saúde**, v. 18, n. 4, p. 289-296, 2007.

## 6 – AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo auxílio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa.