

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Composição de ácidos graxos, teores de colesterol e óxidos
de colesterol em amostras comerciais de atuns em
conservas**

Natalie Marinho Dantas

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS, TEORES DE COLESTEROL E
ÓXIDOS DE COLESTEROL EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE
ATUNS EM CONSERVAS**

NATALIE MARINHO DANTAS

Sob a orientação da Professora
Tatiana Saldanha

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ
Maio de 2016

639.2

D192c Dantas, Natalie Marinho, 1990-

T Composição de ácidos graxos, teores de colesterol e óxidos de colesterol em amostras comerciais de atuns em conservas / Natalie Marinho Dantas - 2016.

86 f.: il.

Orientador: Tatiana Saldanha.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 50-63.

1. Pescados - Tecnologia - Teses. 2. Pescados - Processamento - Teses. 3. Atum (Peixe) - Teses. 4. Ácidos graxos - Teses. 5. Lipídios na nutrição humana - Teses. 6. Alimentos - Teor de colesterol - Teses. I. Saldanha, Tatiana, 1971-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

NATALIE MARINHO DANTAS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 04/05/2016.

Tatiana Saldanha, Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Ormindo Domingues Gamallo, Dr. UFRRJ

Alexandre Porte, Dr. UNIRIO

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais e família:
meu alicerce, meu escudo!

AGRADECIMENTOS

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que ressoa ou como o sino que retine. E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria”.

I Coríntios 13:1-2

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que me supriu de todas as necessidades, me proporcionou crescimento, saúde e amparo em todos os momentos de dificuldades.

Aos meus pais, irmãos e família (tio Mauri *in Memoriam*), por me acolherem sempre de forma calorosa, superando as distâncias e tornando especial cada momento que estou com vocês.

Ao meu amor, Daniel, pelo carinho, companheirismo em todos os momentos e pelo astral e bom humor contagiante.

Aos professores, funcionários e colegas do PPGCTA/UFRRJ, pelo convívio e aprendizado. Em especial, à prof^a Tatiana Saldanha, pela orientação no projeto e por depositar confiança no meu trabalho. Grata por ter me aceitado e ter acreditado na minha dedicação.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas contribuições pessoais acerca da Dissertação.

À prof^a Glorinha, pela atenção concedida e por ceder seu espaço para a realização das análises. Ao prof. Ormindio, pela paciência e ajuda sempre que precisei durante as dúvidas e dificuldades que surgiram no meio do caminho.

Ao Wanderson, pela disponibilidade e descontração no laboratório. À Ivanilda, pela paciência e bolos de chocolate.

As meninas do laboratório (ICs e estagiárias), que floriram o ambiente com suas peculiaridades. Em especial Yane e Gisele, que estiveram sempre tão atenciosas e dedicadas, me ajudando quando necessário.

À Fernanda Ferreira, pelo apoio, amizade e parceria diários. Ao Felipe Trombete, pela atenção e ensinamentos partilhados.

Aos familiares, amigos de Natal e Sub20, pela força e carinho doados durante os momentos de distância, e pelos abraços, encontros e lembranças que proporcionaram quando estive perto, deixando saudades todos os dias.

Aos queridos do DNUT/UFRN, pela torcida, em especial, às professoras Karla Suzanne, Larissa Seabra e Célia Marcia, por estarem sempre dispostas a compartilhar os momentos e brindar à vida.

À família Martins, por terem me “adotado” como sobrinha com tanto carinho e por me acolherem quando preciso.

Aos colegas do Mestrado, pelas risadas proporcionadas, em especial Livia Constant e Amanda Antunes pelo carinho e amizade.

Aos queridos amigos do alojamento da Pós-Graduação, pelos momentos de descontrações diários, aprendizados culturais e lembranças que deixaram em minha vida (em especial, Sheyla, Ana Paula, Nilci, Lidia, Yineth, Aline, Nathan, Paraná, Camila, Davy, Luana e tantos outros).

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

DANTAS, Natalie Marinho. **Composição de ácidos graxos, teores de colesterol e óxidos de colesterol em amostras comerciais de atuns em conservas**. 2016. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O Brasil possui um importante polo de pesca comercial, fato que se torna relevante considerando os benefícios que o consumo de pescados desempenha na nutrição humana. As conservas de peixes promovem nestes alimentos tempos de vida útil prolongados. Entretanto, os alimentos ricos em ácidos graxos poliinsaturados e colesterol, como os atuns, quando submetidos ao processamento térmico, apresentam grande potencial para a oxidação lipídica. Os produtos da oxidação do colesterol (POC's) estão envolvidos no desenvolvimento de doenças, como a aterosclerose, e podem ser absorvidos a partir da dieta. Desta forma, este trabalho teve como objetivos avaliar a composição lipídica e a formação dos POC's em conservas de atuns comercializadas na região metropolitana do Rio de Janeiro. Foram avaliadas amostras de conservas "raladas" em "salmoura" e em "óleo" de 3 marcas comerciais. Para determinação da oxidação lipídica, identificou-se a composição de ácidos graxos dos atuns e respectivos líquidos de coberturas a partir dos ésteres metílicos, através de Cromatografia Gasosa com detector de ionização por chama; além da quantificação simultânea do colesterol e dos POC's, através de cromatografia líquida de alta eficiência e confirmados por cromatógrafo líquido com espectrômetro de massas (interface de ionização química por pressão atmosférica) (APCI-MS). Os atuns em "salmoura" apresentaram médias entre 24,60 a 27,23g/100g de umidade; entre 4,21 a 5,59g/100g de lipídeos; teores de 9,13 a 16,20g/100g de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), e elevadas concentrações de ácidos graxos saturados (AGS) (entre 54,66 a 59,85g/100g), em base seca (BS). Foram evidenciados nos índices de qualidade nutricional das frações lipídicas com valores pouco desejáveis sob o ponto de vista nutricional. As concentrações de colesterol nessas amostras variaram entre 190,95 a 399,28mg/100g, e foram identificados elevados teores de produtos de oxidação do colesterol (entre 321,42 e 414,94µg/g/100g), em BS. As amostras de atuns em conservas contendo "óleo" apresentaram teores entre 31,93 e 51,33g/100g de umidade; entre 23,70 e 43,99g/100g de lipídeos, elevadas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (de 46,06 a 49,92g/100g), em especial os da série w6 e reduzidos teores na soma de EPA e DHA (entre 0,59 e 1,73g/100g). As concentrações de colesterol variaram entre 135,90 e 191,92mg/100g e os POC's de 110,97 a 207,19µg/100g. Em relação aos líquidos de coberturas, foram identificadas concentrações significativas de colesterol (de 18,99 a 37,10mg/100g nas salmouras e de 113,09 a 259,12mg/100g nos óleos, respectivamente), além de elevados teores de produtos de oxidação do colesterol (entre 230,54 e 477,12µg/100g nas salmouras e entre 44,15 e 151,18µg/100g nos óleos). Observou-se a transferência de lipídeos dos pescados para os líquidos em "salmoura", além da migração de lipídeos entre os pescados e os óleos vegetais nas conservas em "óleo", alterando os perfis de ácidos graxos de ambos os meios. Considera-se que a produção de conservas de peixes favorece a perda da sua qualidade lipídica, promovem oxidação de ácidos graxos e induzem a formação de produtos de oxidação do colesterol, fato que indica a necessidade da condução de novos estudos que avaliem a ocorrência desses compostos indesejáveis oriundos da oxidação lipídica em produtos de pescados.

Palavras-chave: Atuns em conservas. Ácidos graxos. Frações lipídicas. Óxidos de colesterol.

ABSTRACT

DANTAS, Natalie Marinho. **Fatty acid composition, cholesterol and cholesterol oxides contents in commercial samples of canned tuna**. 2016. 86p. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Brazil presents an important commercial fishing pole, which turns it to become relevant considering the benefits that consumption of fish plays in human nutrition. Canned fish promotes long shelf life of these food. However, foods that are rich sources of polyunsaturated fatty acids and cholesterol, such as tuna, have a great susceptibility for lipid oxidation when exposed to thermal processing. Cholesterol oxidation products (COP's) are related to several diseases such as atherosclerosis, and can be absorbed from the diet. Thus, this study aimed to evaluate the lipid composition and COP's production in canned tuna purchased from metropolitan area of Rio de Janeiro. Three trademarks of "grated in brine" and "in oil" canned tuna were evaluated. To determinate lipid oxidation, the fatty acid composition from the methyl esters of the fish and their brine were identified using gas chromatography with flame ionisation detector; cholesterol and cholesterol oxides were determined simultaneously, using high-performance liquid chromatography and confirmed by liquid chromatograph mass spectrometer (chemical ionization interface for atmospheric pressure) (APCI-MS). Tuna in "brine" samples presented moisture contents in a range of 24.60 to 27.23g/100g; lipids contents ranging from 4.21 to 5.59g/100g; polyunsaturated fatty acids (PUFA) levels between 9.13 to 16,20g/100g, and high saturated fatty acids (SFA) contents (in a range of 54.66 to 59.85g/100g) (dry basis-DB). The nutritional quality index showed that lipid fractions presented undesirable values. These samples presented cholesterol concentration ranging from 190.95 to 399.28mg/100g, and high cholesterol oxidation products contents (between 321.42 and 414.94 μ g/100g- DB). Samples of "in oil" canned tuna presented moisture and lipids contents of 31.93 to 51.33g/100g and 23.70 to 43.99g/100g, respectively; high polyunsaturated fatty acids concentration (46.06 to 49.92g/100g), especially the w6 series; and low levels of EPA and DHA amounts (in a range of 0.59 and 1.73g/100g). Cholesterol and COP's contents varied from 135.90 to 191.92mg/100g and from 110.97 to 207.19 μ g/100g, respectively. Significant concentrations of cholesterol were identified in brine (18.99 to 37.10mg/100g) and "in oil" samples (113.09 to 259.12mg/100g), and high COP's contents were found (in a range of 230.54 and 477.12 μ g/100g from brine and 44.15 to 151.18 μ g/100g from "in oil" samples). It was observed that there is a transference of lipids from fish to brine, as well as migration between fish lipids and vegetable oils in the "oil" covers, changing the fatty acids profiles of both. It is considered that the production of canned fish contributes to loss of lipid quality, promotes fatty acids oxidation and induces the formation of cholesterol oxidation products. These results indicate that is necessary to conduct further studies to evaluate the occurrence of these undesirable compounds in fish products.

Keywords: Canned tuna. Fatty acids. Lipid fractions. Cholesterol oxides.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: BALANÇO DO CONSUMO DE PESCADOS NO BRASIL E NO MUNDO.....	5
FIGURA 2: ESPÉCIES DE ATUM UTILIZADAS EM CONSERVAS	5
FIGURA 3: PRINCIPAIS ESPÉCIES DE ATUNS CAPTURADAS PARA ENLATAMENTO.....	6
FIGURA 4: FLUXOGRAMA DO PROCESSAMENTO DE ATUM EM CONSERVAS	8
FIGURA 5: CURVA DE PENETRAÇÃO DE CALOR, POR CONDUÇÃO, EM ALIMENTOS ENLATADOS....	8
FIGURA 6: POSIÇÃO DO COLESTEROL NA MEMBRANA PLASMÁTICA	14
FIGURA 7: FORMAÇÃO DE PLACAS ATEROSCLERÓTICAS POR DEPOSIÇÃO DE GORDURAS.....	14
FIGURA 8: POSIÇÕES NA MOLÉCULA DE COLESTEROL SUSCEPTÍVEIS AO ATAQUE OXIDATIVO. ...	15
FIGURA 9: FORMAÇÃO DE POC'S	15
FIGURA 10: CONCENTRAÇÕES DE UMIDADE NAS AMOSTRAS DE ATUNS EM CONSERVAS.....	27
FIGURA 11: CONCENTRAÇÕES DE LIPÍDEOS TOTAIS NAS AMOSTRAS DE ATUNS EM CONSERVAS	30
FIGURA 12: CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM “SALMOURA”.....	31
FIGURA 13: CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS DOS LÍQUIDOS CONTENDO “SALMOURA”.....	35
FIGURA 14: CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM“ÓLEO”.....	36
FIGURA 15: CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS DOS LÍQUIDOS CONTENDO “ÓLEO”.....	39
FIGURA 16: CONCENTRAÇÕES DE COLESTEROL NOS ATUNS E LÍQUIDOS DE COBERTURA DAS CONSERVAS EM “SALMOURA”.....	42
FIGURA 17: CONCENTRAÇÕES COLESTEROL NOS ATUNS E LÍQUIDOS DE COBERTURA DAS CONSERVAS EM “ÓLEO”.	43
FIGURA 18: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM ÓLEO - MARCA AQC.	64
FIGURA 19: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM ÓLEO – MARCA AGC.	64
FIGURA 20: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM ÓLEO – MARCA APC.	65
FIGURA 21: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM SALMOURA – MARCA AQC.....	65
FIGURA 22: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM SALMOURA – MARCA AGC.....	66
FIGURA 23: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ATUNS EM SALMOURA – MARCA APC.	66
FIGURA 24: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEO – MARCA AQC.....	67
FIGURA 25: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEOS – MARCA AGC.	67
FIGURA 26: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEOS – MARCA APC.	68
FIGURA 27: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE SALMOURAS – MARCA AQC.....	68
FIGURA 28: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE SALMOURAS – MARCA AGC.....	69
FIGURA 29: PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE SALMOURAS – MARCA APC.	69
FIGURA 30: AMOSTRA DE SALMOURA NO UPLC-APCI-MS.....	70
FIGURA 31: POOL DOS PADRÕES NO UPLC-APCI-MS.	70
FIGURA 32: AMOSTRA DE SALMOURA NO UPLC-APCI-MS.....	71
FIGURA 33: AMOSTRA DE ÓLEO NO UPLC-APCI-MS.	71
FIGURA 34: AMOSTRA ÓLEO NO UPLC-APCI-MS.....	72
FIGURA 35: AMOSTRA DE ATUM EM SALMOURA NO UPLC-APCI-MS.....	72
FIGURA 36: AMOSTRA DE ATUM EM SALMOURA NO UPLC-APCI-MS.....	73
FIGURA 37: AMOSTRA DE ATUM EM ÓLEO NO UPLC-APCI-MS.....	73
FIGURA 38: AMOSTRA DE ATUM EM ÓLEO NO UPLC-APCI-MS.....	74

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Comparação média do perfil lipídico de pescados enlatados (g/100g).	12
Tabela 2	Equação de linearidade dos padrões de óxidos de colesterol.	25
Tabela 3	Intensidade Relativa dos principais íons de colesterol e óxidos de colesterol em UPLC-APCI-MS.	26
Tabela 4	Média (g/100 gramas) de umidade das amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais.	27
Tabela 5	Ingredientes contidos nas amostras de atuns em conservas “raladas” em “salmoura” e em “óleo”.	28
Tabela 6	Média (g/100gramas, base seca) de lipídeos totais das amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais.	29
Tabela 7	Resultados de ácidos graxos dos atuns em conservas e respectivos líquidos de coberturas (g/100 gramas de lipídeos, base seca).	32
Tabela 8	Resultados dos IQN das frações lipídicas nas amostras de atuns em conservas.	41
Tabela 9	Concentração média de colesterol nas amostras de atuns em conservas e nos líquidos de coberturas, nas diferentes variedades e marcas comerciais (mg/100 gramas de amostras, base seca).	42
Tabela 10	Concentração média de colesterol e produtos de oxidação do colesterol (POC's) nas amostras de atuns em conservas nas diferentes variedades e marcas comerciais.	44
Tabela 11	Concentração média de colesterol e produtos de oxidação do colesterol (POC's) nos líquidos de coberturas das diferentes variedades e marcas comerciais de atuns em conservas	45

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

$\omega 3$	Ômega 3.
$\omega 6$	Ômega 6.
C6:0	Ácido caprónico.
C8:0	Ácido caprílico.
C10:0	Ácido cáprico.
C12:0	Ácido láurico.
C14:0	Ácido mirístico.
C14:1 <i>cis</i>	Ácido miristoleico.
C15:0	Ácido pentadecílico.
C15:1	Ácido pentadecenóico.
C16:0	Ácido palmítico.
C16:1 <i>cis</i>	Ácido palmitoleico.
C17:0	Ácido margárico.
C17:1	Ácido heptadecênico.
C18:0	Ácido esteárico.
C18:1 <i>t</i>	Ácido <i>trans</i> vacênico.
C18:1 $\omega 9$ <i>cis</i>	Ácido oleico.
C18:2 $\omega 6$ <i>t</i>	Ácido <i>trans</i> linolelaídico.
C18:2 $\omega 6$ <i>cis</i>	Ácido linoleico.
C18:3 $\omega 3$	Ácido α -linolênico.
C18:3 $\omega 6$	Ácido γ -linolênico.
C20:0	Ácido araquídico.
C20:1 $\omega 9$	Ácido gadoléico.
C20:2 $\omega 6$	Ácido eicosadienóico.
C20:3 $\omega 6$	Ácido eicosadienóico.
C20:3 $\omega 3$	Ácido eicosatrienóico.
C20:4 $\omega 6$	Ácido araquidônico.
C20:5 $\omega 3$	Ácido timnodônico.
C21:0	Ácido henecosanóico.
C22:0	Ácido behênico.
C22:1 $\omega 9$	Ácido cetoléico.
C22:6 $\omega 3$	Ácido erúcico.
C23:0	Ácido tricosanóico.
C24:0	Ácido lignocérico.
C24:1 $\omega 9$	Ácido nervônico.
5,6 α -Ep	Colesterol-5,6 α -epóxido.
5,6 β -Ep	Colesterol-5,6 β -epóxido.
7 α -OH	7 α -hidroxicolesterol.
7 β -OH	7 β -hidroxicolesterol.
7-ceto	7-cetocolesterol.
20-OH	20-hidroxicolesterol.
22(S)	22(S)-hidroxicolesterol.
22(R)	22(R)-hidroxicolesterol.
25-OH	25-hidroxicolesterol.
25(R)	25(R)-hidroxicolesterol.

AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados.
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados.
AGS	Ácidos graxos saturados.
ANOVA	Análise de variância.
BF ₃	Trifluoreto de Boro.
BS	Base Seca.
CG	Cromatografia Gasosa.
DHA	Ácido docosahexaenóico.
DP	Desvio-padrão.
EPA	Ácido eicosapentaenóico.
FAME	Fatty acid methyl ester.
FAO	Food and Agriculture Organization.
H/H	Razão hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico.
HDL	High Density Lipoprotein.
HPLC-MS	High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy.
IQN	Índice de Qualidade Nutricional.
IA	Índice de Aterogenicidade.
IR	Índice de Refração.
IT	Índice de Trombogenicidade.
LDL	Low Density Lipoprotein.
MPA	Ministério de Pesca e Agricultura.
N ₂	Nitrogênio Gasoso.
NaOH	Hidróxido de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde.
POC	Produto de oxidação do colesterol.
PV	Índice de Peróxidos.
RISPOAA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.
TBA	Thiobarbituric acid.
TLC	Thin Layer Chromatography.
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 A produção e o consumo de pescados no Brasil e no mundo	4
3.2 Atuns em conservas: produção e processamento	5
3.3 Aspectos nutricionais dos lipídeos de pescados	9
3.4 Alterações no perfil lipídico em pescados apertizados	11
3.5 Colesterol e seus produtos de oxidação	14
3.5.1 Efeitos Biológicos dos POC's	16
3.5.2 Produtos de oxidação do colesterol em pescados termicamente processados	17
3.5.3 Análises de POC's em pescados por HPLC-APCI-MS	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Coleta das amostras	22
4.2 Preparo das amostras	22
4.3 Determinação de Umidade	22
4.4 Determinação de Lipídeos Totais	22
4.5 Determinação dos ácidos graxos das amostras de pescados e dos respectivos líquidos de coberturas	23
4.6 Índices de Qualidade Nutricional (IQN) das frações lipídicas dos atuns em conservas	23
4.7 Determinação simultânea do colesterol e óxidos de colesterol por HPLC-DAD-IR	24
4.8 Confirmação das estruturas e dos óxidos de colesterol por UPLC-APCI-MS	25
4.9 Análises Estatísticas	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Determinação de umidade nas amostras de atuns em conservas	27
5.2 Determinação de lipídeos totais dos atuns em conservas	29
5.3 Determinação de ácidos graxos das conservas “em salmoura”	31
5.3.1 Amostras de atuns “em salmoura”	31
5.3.2 Líquidos de coberturas contendo “salmoura”	34
5.4 Determinação de ácidos graxos das conservas em “óleo”	36
5.4.1 Amostras de atuns em óleo	36
5.4.2 Líquidos de coberturas contendo óleo vegetal	38
5.5 Índices de Qualidade Nutricional (IQN) das frações lipídicas	40
5.6 Determinação de colesterol dos atuns em conservas e dos líquidos de coberturas	42
5.7 Determinação de POC's dos atuns em conservas e dos líquidos de coberturas	43
6 CONCLUSÕES	49
7 REFERÊNCIAS	50
8 ANEXOS	64

1 INTRODUÇÃO

Os pescados apresentam relevante crescimento em sua produção e comercialização no Brasil e no mundo. O seu consumo está amplamente relacionado aos benefícios nutricionais, devido às proteínas de elevado valor biológico, minerais, vitaminas, além da composição de ácidos graxos, destacando-se os poliinsaturados (AGPI) ômega 6 ($\omega 6$) e ômega 3 ($\omega 3$). Os ácidos graxos ômega 3 desempenham importantes funções relacionadas às atividades fisiológicas, como a imunológica, o funcionamento do cérebro e redução do desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Apesar dos benefícios associados ao seu consumo, a distribuição de pescados frescos em grande parte do país é dificultada pela situação geográfica pela baixa qualidade do produto comercializado em feiras livres e mercados, sendo comum o seu consumo enlatado. Além disso, são alimentos extremamente perecíveis, devido às características intrínsecas de sua carne, tais como: elevada atividade de água, composição química, teores de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, o pH próximo da neutralidade.

Os pescados industrializados oriundos da aqüicultura e da pesca extrativista têm um grande mercado a ser explorado no Brasil, a exemplo do que ocorre em vários países, onde há uma alta diversidade destes produtos. O processamento e a industrialização permitem não só a agregação de valor comercial, como também contribuem para a popularização do consumo dos pescados.

Para a produção das conservas de pescados ou pescados enlatados, os mesmos são submetidos a tratamentos térmicos através da apertização ou “esterlização comercial”. Tal procedimento visa o aquecimento de um produto em recipientes fechados, na ausência relativa de ar até certa temperatura e em um tempo suficiente para a destruição de microrganismos patogênicos. Este processo, além de promover a destruição térmica dos esporos bacterianos, agrega aspectos desejados ao produto final e melhoramento das características sensoriais.

Contudo, durante o processamento térmico, os alimentos são expostos a diversos fatores que podem interferir na sua estrutura e composição química, havendo degradação de nutrientes lábeis e compostos biologicamente ativos. Os fatores que mais contribuem para essa alteração são: temperatura, luz, oxigênio, umidade do meio, agentes oxidantes e redutores e presença de íons metálicos (CORREIA et al., 2008).

A oxidação lipídica é o termo geral utilizado para descrever uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação entre lipídeos e oxigênio. Durante reações de oxidação, os ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídeos decompõem-se, formando radicais livres e *off flavors*, prejudiciais à qualidade dos alimentos.

Os ácidos graxos insaturados e o colesterol apresentam certa instabilidade, que é influenciada pela própria estrutura química, temperatura, pH, oxigênio, luz, presença de íons metálicos, dentre outros fatores. Estes agentes são promotores de transformações, tais como degradação e oxidação (OHSHIMA et al., 1996; ECHARTE et al., 2001; SALDANHA et al., 2008).

Os óxidos de colesterol ou produtos de oxidação do colesterol são um grupo de esteróides semelhantes ao colesterol, formados em alimentos através de processos de oxidação ou de autooxidação não enzimática. Sua ocorrência está relacionada aos alimentos ricos em colesterol e ácidos graxos poliinsaturados, como os pescados, quando submetidos a processamentos térmicos extremados ou condições que favoreçam a oxidação lipídica (KIM; NAWAR, 1993; LEONARDUZZI et al.; 2002). Diversos estudos comprovaram que estes compostos, ingeridos a partir de dieta, potencializam eventos indesejáveis no organismo,

como doenças inflamatórias, cardiovasculares e câncer (POLI et al., 2009; SILVENTE-POIROT; HUR et al, 2014).

As indústrias de conservas vêm apresentando avanços na sua produção, acompanhado da elevação do consumo de alimentos práticos e “prontos para consumo” nas últimas décadas. O atum é um pescado com alto valor nutritivo, considerado saudável pelas populações, e com expressiva comercialização mundial. No Rio de Janeiro, as conservas de atuns estão entre os principais pescados enlatados consumidos no Estado, juntamente com as sardinhas, em uma grande variedade de apresentações.

Os níveis de óxidos de colesterol identificados em diversos tipos de pescados submetidos ao processamento, e sua ingestão através da dieta, sugerem ações deletérias ao organismo. Embora o efeito do tratamento térmico sobre a composição de lipídios em peixes tenha sido extensivamente pesquisado, são escassos os estudos sobre as alterações ocorridas nos teores de colesterol, ácidos graxos poliinsaturados e a sua relação com a formação óxidos de colesterol em atuns em conservas, justificando, assim, a realização deste trabalho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Diante do exposto, o objetivo geral do presente estudo foi determinar a composição de ácidos graxos, teores de colesterol e a possível formação de produtos de oxidação do colesterol, em conservas de atuns ralados em “salmoura e em “óleo” de diferentes marcas comerciais, oriundos da região metropolitana do Rio de Janeiro (RJ).

2.2 Objetivos Específicos

1. Coletar amostras de atuns em conservas, a partir de 3 marcas comercializadas na região metropolitana do Rio de Janeiro, nas variedades contendo “óleo” e “salmoura” como líquidos de coberturas;
2. Determinar a composição química dos atuns em conservas a partir das análises de umidade, lipídios totais, ácidos graxos por cromatografia gasosa, e colesterol e óxidos de colesterol por cromatografia líquida de alta eficiência;
3. Calcular os Índices de Qualidade Nutricional dos lipídeos dos atuns a partir das suas frações lipídicas;
4. Verificar a ocorrência da interação química entre os lipídios presentes nas amostras e líquidos de coberturas;
5. Confirmar a presença dos óxidos de colesterol nas amostras avaliadas, a partir da confirmação das estruturas através de UPLC-APCI-MS;
6. Correlacionar e analisar os dados obtidos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A produção e o consumo de pescados no Brasil e no mundo

Conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), "pescados" referem-se aos peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada destinados à alimentação humana (BRASIL, 1952). Se destacam nutricionalmente pela concentração e qualidade das suas proteínas, à presença de vitaminas e minerais e, principalmente, por ser fonte de ácidos graxos essenciais $\omega 3$ eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) (SARTORI; AMANCIO, 2012).

A produção mundial de pescados apresentou relevante crescimento nos últimos anos, de acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação). Estima-se que alcançou em 2012 uma produção média de 158 milhões de toneladas, sendo 51,1% originados da pesca e 48,9% da aquicultura, a qual apresenta expressivo aumento ao longo dos anos, comparado aos 5% em 1962 e 37% em 2002. Deste total produzido, 136,2 milhões de toneladas foram destinados ao consumo humano (FAO, 2014).

O consumo médio *per capita* mundial de pescados gira em torno de 19,2 kg/ano e é responsável por 16,7% do consumo de proteína animal da população mundial. Além disso, representam um componente nutricional importante em alguns países densamente povoadas, onde os níveis totais de ingestão protéicas são reduzidos. Uma porção de 150g de peixe pode fornecer cerca de 50 a 60% das necessidades diárias de proteínas de um adulto (FAO, 2014).

No Brasil, de forma geral, os peixes são os alimentos mais consumidos do grupo de pescados, uma vez que o acesso a outros alimentos do grupo não é generalizado. No entanto, apesar de o país possuir enorme costa marítima e inúmeros rios de grande porte, na maior parte das regiões, a oferta de peixes também é reduzida e os preços são relativamente altos em relação às carnes vermelhas e de aves, reduzindo a frequência do consumo de pescados (BRASIL, 2014).

Logo, apesar do aumento do consumo de peixes no Brasil serem evidentes nos últimos anos (Figura 1), com um *per capita* de 10,63kg em 2012 (BRASIL, 2015), este ainda é considerado baixo. A distribuição de pescados frescos em grande parte do país é dificultada em razão da situação geográfica, além da falta de hábito e da baixa qualidade de produtos encontrados em feiras livres e mercados, sendo comum consumo de pescados enlatados, salgados ou congelados em detrimento aos similares frescos (SARTORI; AMANCIO, 2012).

Além disso, segundo a Pesquisa Nacional FIESP/IBOPE – Brasil Food Trends 2020, os brasileiros confiam na qualidade dos produtos industrializados, como os enlatados, e se declaram dispostos a aumentar o consumo desses produtos, que apresentam crescimento aparente no Brasil (FIESP/IBOPE, 2010).

Desta forma, o Brasil não tem apresentado crescimento expressivo no consumo de pescados frescos, comparado ao restante do mundo. Os benefícios nutricionais provenientes dessas fontes protéicas e o seu baixo consumo reforçam a validade de investimentos e incentivos para o aumento da disponibilidade e consumo pelas populações (FERNANDES et al., 2014; GAVIGLIO et al., 2014).

Esse estímulo à produção e consumo de pescados são fontes de constantes projetos e iniciativas nas organizações mundiais. No Brasil, o “Plano Safra da Pesca e Aquicultura 2015/2016” busca como meta o crescimento anual de 20% na produção de pescados, para que o Brasil alcance, até 2020, uma produção de 3 milhões de toneladas na pesca de

captura e na aquicultura, e se apresente entre os cinco maiores ofertantes de proteínas de pescado do mundo (BRASIL, 2015).

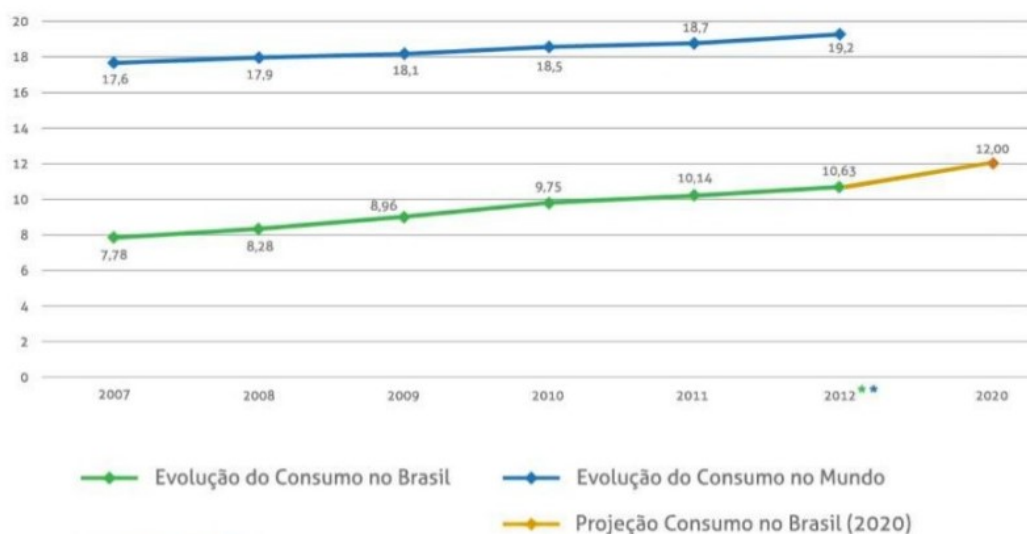


Figura 1: Balanço do consumo de pescados no Brasil e no mundo.

Essa tendência no estímulo à produção e deve continuar nas próximas décadas, sendo a aquicultura a maior responsável por atender a crescente demanda de pescados em nível mundial, com uma previsão de que em 2030 será responsável por mais de 60% da produção mundial de pescados para consumo humano (FAO, 2015).

3.2 Atuns em conservas: produção e processamento

Os pescados podem ser comercializados nas formas *in natura* ou industrializados. A primeira refere-se ao pescado recém-capturado, submetido à refrigeração (ou não) e adquirido ainda cru, enquanto que a segunda se refere ao pescado que sofre algum processo de manuseio (como evisceração ou filetagem) e preservação (congelado ou enlatado) (OGAWA, 1999).

Os atuns são peixes amplamente distribuídos em águas tropicais e subtropicais, e estão entre os mais importantes na indústria da pesca. Pertencem ao gênero *Thunnus*, família *Scombridae* e classe *Actinopterygii* (FISHBASE, 2014). Sete espécies e gêneros são responsáveis por cerca de 90% do total das capturas de atuns, com elevado seu crescimento durante os últimos anos (FAO, 2014) (Figura 2).

Thunnus alalunga, *Thunnus obesus*, *Katsuwonus pelamis*, *Thunnus albacares*



Figura 2: Espécies de atum utilizadas em conservas (FAO, 2014).

As principais espécies de atuns capturadas para enlatamento no são: *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus*, *Katsuwonus pelamis* (Figura 3) sendo essa última espécie a mais enlatada, com participação de mais de 70%. No Brasil, essa espécie é conhecida como *skipjack*, gaiato ou bonito-listrado e representa mais de 95% da matéria-prima enlatada pela indústria local. As espécies *Thunnus albacares*, conhecida no Brasil como *Yellowfin* ou Albacora, e o *Thunnus obesus*, conhecido como “Patudo” ou *Bigeye*, têm pequena participação na indústria de enlatados brasileira. A espécie *Thunnus alalunga*, conhecida como voador ou atum-branco, não é enlatada no Brasil (SANTOS, GONÇALVES, 2011).

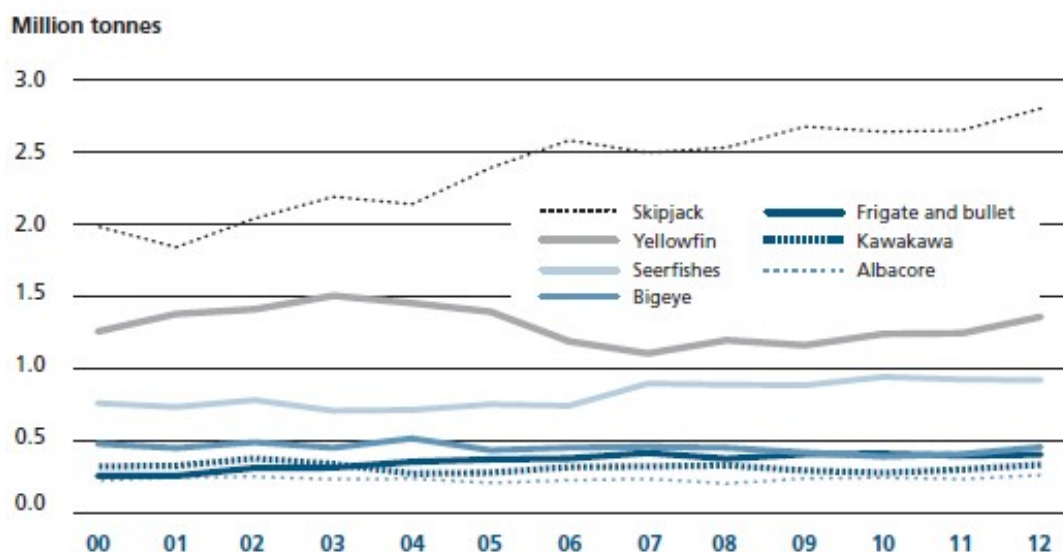


Figura 3: Principais espécies de atuns capturadas para enlatamento.

Os principais pescados enlatados consumidos no Rio de Janeiro são atuns e sardinhas, em uma grande variedade de apresentações. Em menor escala, são consumidos os enlatados dos pescados: cavalinha, mexilhão e polvo (BARROSO; WIEFELS, 2010).

O enlatamento dos pescados tem como objetivo principal preparar um produto de boa qualidade, capaz de ser armazenado por mais de 1 ano, além de ser uma excelente forma de transporte do produto, pois não necessita de refrigeração. Para que este produto possa ser conservado satisfatoriamente, o conteúdo das latas deve ser isento de bactérias e enzimas ativas; as paredes internas das latas devem ser resistentes ao ataque de qualquer substância do conteúdo, como também a superfície exterior deve resistir à corrosão sob condições razoáveis de armazenamento; e as latas devem ser hermeticamente fechadas para evitar a entrada de ar, água e contaminantes (SANTOS; GONÇALVES, 2011).

Entre os diferentes tipos de pescados, os mais utilizados em fábricas de conservas são: atuns, sardinhas, anchovas e cavalas. Os óleos são usualmente adotados como líquidos de coberturas, que assumem um efeito de conservação e contribuem para tornar o produto mais palatável, além de apresentarem ação protetora pela capacidade de isolar os produtos do ar (CAPONIO et al., 2011).

Entende-se por "fábrica de conservas de pescados" o estabelecimento dotado de dependências, instalações e equipamentos adequados ao recebimento e industrialização dos pescados por qualquer forma, com aproveitamento integral de subprodutos não comestíveis (BRASIL, 1952). A indústria dos atuns tem feito progressos significativos na produção de alimentos e subprodutos para consumo humano (FAO, 2014).

A pesca de atuns em escala industrial teve início nas décadas de 1940 e 1950, adotando o espinhel japonês e o barco de pesca de iscas no Pacífico. Na década de 1980, a pesca de cerco se espalhou pelos Oceano Índico ocidental, Oceano Pacífico e Atlântico oriental, devido a sua comprovada eficiência além do uso de equipamentos modernos, radares e até helicópteros. Na década de 1980, novos países começaram a pesca em larga escala industrial, principalmente com redes de cerco (a exemplo, México, Venezuela e Brasil. (HAMILTON et al. 2011).

Anualmente, pelo menos 2,5 milhões de toneladas de atuns são destinados para a indústria de conservas, sendo capturados principalmente por navios de cerco. Devido ao aumento global nas demandas por pescados de alto valor nutritivo, as indústrias de processamento de atuns enlatados tem experimentado um elevado crescimento em termos de número de navios, capacidades de pesca e captura total (FAO, 2014).

As grandes empresas de enlatamento de atuns recebem a matéria-prima, já congelada, diretamente dos barcos de capturas. No Brasil, predomina o atum resfriado que, quando descarregado, é pendurado individualmente pela cauda em túneis de congelamento (SANTOS, GONÇALVES, 2011).

O pescado recebido nos estabelecimentos industriais só poderá ser utilizado na elaboração de produtos comestíveis após de submetido à inspeção sanitária (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA) (BRASIL, 1952). A inspeção verifica, ainda, o estado das salmouras, massas, óleos e outros ingredientes empregados na fabricação de produtos de pescados, impedindo o uso dos que não estiverem em condições satisfatórias.

A produção industrial de conservas de peixes geralmente envolve duas etapas de tratamento térmico: o pré-cozimento do pescado e sua esterilização em latas. O primeiro passo pode ser realizado por pressão ou por vapor e visa melhorar a aparência, sabor, aroma e textura do produto final. Dessa forma, as altas temperaturas que são submetidas as conservas de pescados, inevitavelmente levam à oxidação lipídica (ZUNIN et al., 2001).

Nas conservas enlatadas, as latas contendo o atum recebem salmoura ou óleo, ou, em alguns casos, recebem a adição de sal seco e, em seguida, é adicionada a água, óleo ou molho. As latas são, em seguida, encaminhadas para o fechamento sob vácuo através da recravação ou dupla costura, que é a parte da lata formada pela junção dos componentes do corpo e da tampa ou fundo, cujos ganchos se engatam e formam uma forte estrutura mecânica. As temperaturas e tempos selecionados para a autoclave dependem do tamanho do recipiente, o peso do bloco, temperatura de enchimento e o estilo de embalagem. Depois do processamento térmico das latas, as mesmas são resfriadas, secas com ventiladores de ar, seguidos da rotulagem durante a linha de produção (FAO, 1988).

As etapas de processo tradicional da produção industrial de conservas enlatadas de atum podem ser destacas na Figura 4. O atum é pré-cozido a uma temperatura entre 102-104°C, e essa operação torna possível a evisceração, quando necessário. A temperatura de esterilização da conserva pode alcançar 121°C (valor de F) durante 40 min, e esse valor baseia-se no *Clostridium botulinum*, o microrganismo patogênico mais resistente ao calor e causador de intoxicação alimentar, que deverá ser inativado para manutenção da inocuidade do alimento enlatado (HEINZ, G.; HAUTZINGER, 2007). A Figura 5 apresenta a curva de penetração de calor em alimentos enlatados.

O recipiente metálico destinado ao preparo de conservas deve ser de chapa estanhada (folha de flandres), novo e isento de falhas. Os recipientes, de qualquer natureza, devem ser lavados externa e internamente com água em temperaturas não inferiores a 80°C (oitenta graus centígrados), e sempre submetidos a um jato de vapor antes de sua utilização (BRASIL, 1952).

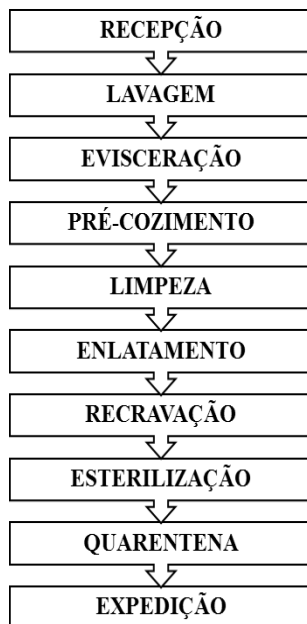


Figura 4: Fluxograma do processamento de atum em conservas (MORAES, 2007).

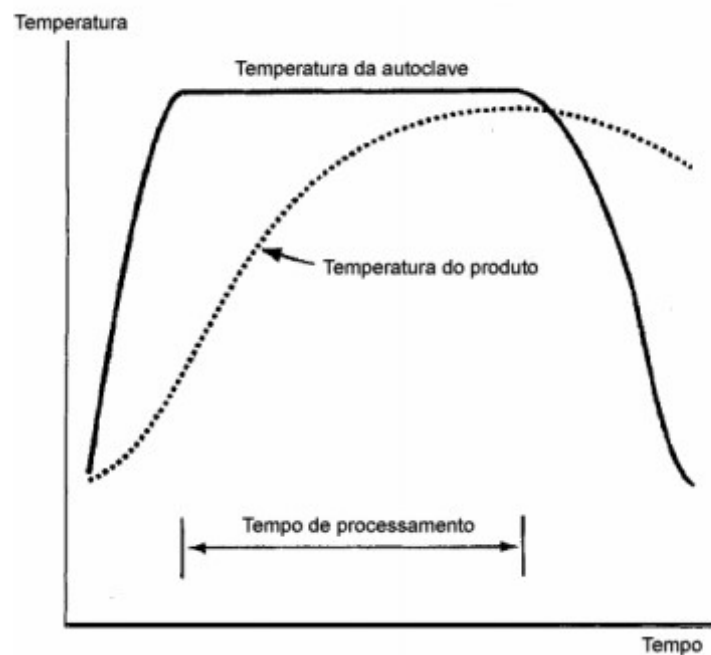


Figura 5: Curva de penetração de calor, por condução, em alimentos enlatados. A curva (-) corresponde à temperatura da autoclave e a curva (---) corresponde á temperatura do ponto frio da lata. Fonte: Fellows, 2006.

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Conservas de Atuns e Bonitos (BRASIL, 2010), o produto deve ser designado “atum” e classificado segundo sua coloração e forma de apresentação, que podem ser: “sólido” (consiste no lombo do peixe cortado em segmentos transversais com os planos de seus cortes paralelos ao fundo do

recipiente), “pedaços” (consiste no corte do lombo do peixe que mantenha a estrutura original do músculo, em que no mínimo 50% fique retido em uma peneira com loop de 1,2cm), “picado ou “ralado” (*grated*, que consiste na elaboração de porções pequenas ou partículas de lombo do peixe, de uma mesma espécie que foram reduzidas de tamanho e não estejam aglutinadas) e outras formas de apresentação, desde que aprovados previamente pelos órgãos competentes. Devem ser identificados, ainda, o meio de cobertura, que podem ser: em óleo comestível, em salmoura, em salmoura com óleo comestível e em molho (BRASIL, 2010).

Conforme o mesmo Regulamento, produto deve conter, no mínimo, 64% de carne em relação ao peso líquido declarado. A composição do produto deve apresentar, obrigatoriamente, carne de atum e, opcionalmente, os seguintes ingredientes: azeite de oliva; outros óleos vegetais comestíveis; água potável; sal; condimentos, aromas e especiarias; aditivos intencionais; vinagre; vinho; hortaliças; frutas; legumes; caldo vegetal; e outros previamente aprovados pelos órgãos competentes. Não é permitido a utilização de proteínas hidrolisadas (BRASIL, 2010).

Os líquidos de coberturas facilitam a troca térmica, têm efeitos protetores quanto à oxidação dos produtos e ajudam a torná-los mais palatáveis. Tratando-se dos diferentes tipos de óleos usados em conservas de pescados, estão os óleos refinados de sementes (exemplo: de girassol) e azeite extra virgem, obtido dos frutos da *Olea europaea L.* (por meios mecânicos ou físicos), sendo este o mais raramente aplicado, e apenas em caso de atum. Esta situação provavelmente está relacionada com o valor comercial mais elevado do atum, comparado aos outros tipos de peixes enlatados (CAPONIO et al., 2011; DOMINGUEZ-VIDAL; 2016).

Comparado com a sardinha, o rendimento do pescado para a produção de conservas de atum é menor. Para 125g de conservas de sardinhas, são necessários 175g do pescado *in natura*. Contudo, para cada 170g de conservas de atuns, são necessários 233g desse pescado *in natura* (MPA, 2010). Para a produção de atum em conservas, é utilizado apenas cerca de 32-40% da matéria-prima desse pescado. A carne escura (10-13%) é embalada em latas ou bolsas, podendo ser utilizada em subprodutos como alimentos para animais de estimação (FAO, 2014).

Assim, a partir do momento em que o peixe é capturado até que chega ao consumidor como um produto em conserva, a matéria-prima é submetida a uma variedade de etapas industriais. Como resultado, os nutrientes essenciais (proteínas, vitaminas, lipídeos, minerais) presentes nos pescados são expostos a diferentes condições de processamento que podem reduzir os valores nutricionais e sensoriais do produto final. Novas estratégias tecnológicas são recomendados para aumentar a vida de prateleira de alimentos previamente armazenados e para reter a qualidade sensorial e nutricional do produto final enlatado. Esta avaliação é focada em perdas nutricionais e sensoriais de espécies comumente utilizadas para a preparação de conservas, e é dada especial atenção à investigação sobre o efeito de diferentes condições de processamento prévio (refrigeração, congelamento e armazenamento congelado e cozimento) sobre a qualidade do produto enlatado (AUBOURG, 2001).

3.3 Aspectos nutricionais dos lipídeos de pescados

As primeiras observações quanto ao valor nutricional dos pescados foram realizadas no início do século XX, quando se relatou que o óleo de fígado de bacalhau exercia ações preventivas e terapêuticas nas carências de vitaminas A e D. Mais tarde, em consequência da competitividade exercida pelas vitaminas sintéticas, os óleos de pescado foram perdendo sua importância. Entretanto, a partir da década de 80, a utilização de pescados na alimentação humana tem sido objeto de inúmeras pesquisas, pois contém proteínas de elevado valor

biológico (presença de todos os aminoácidos essenciais), além da composição de lipídeos, destacando-se os altos teores de ácidos graxos poliinsaturados da série ômega-3 (ω 3), principalmente os ácidos eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e docosahexaenóico (DHA, C22:6) (SIGUEL, 1991; LEAF et al., 1999; SIMOPOULOS, 2000; MORI, 2006).

As variações na composição lipídica dos pescados podem ser atribuídas a uma série de fatores, tais como espécie, idade, sexo, origem, alimentação disponível, estações do ano, condições de criação e métodos de análise (BRAGAGNOLO, 1997; SALDANHA et al., 2008).

Os teores de lipídeos e ácidos graxos dependem, ainda, dos locais de captura dos pescados, sofrendo interferências no período de reprodução e desova. Durante a desova, há um esgotamento das reservas lipídicas, que estavam armazenadas na forma de energia nos tecidos musculares. Outros interferentes incluem a alimentação e a composição das espécies de plânctons (USYDUS et al. 2012).

Os ácidos graxos poliinsaturados são classificados de acordo com a posição das ligações duplas, e a maioria dos ácidos com importância biológica pertencem aos grupos ω 6 e ω 3. Dentre os ácidos graxos ω 6, destacam-se os ácidos linoléico (C18:2) e araquidônico (C20:4). Já em relação aos ácidos graxos ω 3, destacam-se o α -linolénico (C18:3), ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5), ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6), e o ácido docosapentaenóico (C22:5). Ambos os ácidos EPA e DHA são componentes dos fosfolipídeos e triglicerídeos dos peixes, e os ácidos linoléico e α -linolénico são os ácidos graxos essenciais, necessários para a fluidez das membranas (SAHENA et al., 2009).

Estes compostos são identificados em peixes de água fria (atum, salmão, sardinha, bacalhau), óleos vegetais, sementes de linhaça, nozes, em alguns óleos de algas e preparações farmacêuticas, e sua ingestão equilibrada está associada à diversos benefícios fisiológicos (HELLBERG et al., 2012; CALDER., 2014), como na produção de eicosanoides, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (FAO, 2010).

Os ácidos graxos de cadeia longa, como EPA (C20:5), DHA (C22:6) e araquidônico (C20:4), desempenham importantes funções no desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina. Esse grupo de ácidos graxos só podem ser sintetizados a partir dos ácidos linoléico e α -linolénico presentes na dieta (DEFILIPPIS; SPERLING, 2006; HE, 2009; GORJÃO et al., 2009; PATTERSON et al., 2012).

Outros efeitos benéficos à saúde estão relacionados com a manutenção da função imunológica, prevenção ao desenvolvimento da aterosclerose, embolia, hipertrigliceremia, hipertensão, doenças auto-imunes e problemas alérgicos, além de reduzirem significativamente a mortalidade por doenças cardíacas, levando à redução do número de infartos, do desenvolvimento de anginas, arritmias e fibrilação cardíaca (CHURCH et al, 2008; LEE; CHIEN, 2008; ZHENG et al., 2013; RAATZ et al., 2013; PITTAWAY et al, 2015, LOZOVY et al., 2015).

Também apresentam potencial efeito contra o estresse oxidativo do fígado, doenças cardiovasculares, diversos tipos de câncer, resistência à insulina, inflamações, doenças pulmonares e outros, pelo seu efeito protetor que assume no organismo (OTERO-RAVIÑA et al., 2007; NOVELLO et al., 2008; GDOURA et al., 2011; CORELLA; ORDOVÁ'S, 2012; PITTAWAY, 2015).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que a ingestão de lipídeos da dieta nos adultos esteja entre 20-35% do total de energia e está baseada quanto às recomendações para a ingestão adequada dos ácidos graxos essenciais. Dietas com baixa ingestão energética desses nutrientes (\leq 20%) podem afetar adversamente a concentração lipídica sanguínea, reduzindo os teores de HDL, através da ingestão inadequada de ácidos graxos essenciais. Já a ingestão de ácidos graxos saturados deve estar abaixo de 10%, para

redução dos potenciais riscos de doenças cardiovasculares (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2014).

As recomendações diárias de AGPI são de 6-11% de energia, sendo: 2,5-9% de $\omega 6$ e 0,5-2% de $\omega 3$ (com 3000mg/dia os ácidos graxos EPA e DHA. Contudo, os eicosanoides derivados de $\omega 6$ tem propriedades metabólicas opostas aos derivados de ácidos graxos $\omega 3$, em que há uma competição entre as enzimas envolvidas na elongação e dessaturação dos ácidos graxos $\omega 6$ linoleico (C18:2) e $\omega 3$ α -linolênico (C18:3), de forma que a ingestão de AGPI $\omega 6$ não deve ser excessiva (FAO, 2010).

Além da população geral, ênfase deve ser dada para a ingestão de DHA durante a gestação, quando esses tecidos estão desenvolvendo, por apresentar papel estrutural importante no desenvolvimento visual e neurológico. Gestantes e lactantes devem ser orientadas e ingerir boas fontes nutricionais de DHA (>200mg/dia), especialmente peixes ricos nesse nutriente, como atum, salmão e arenque. Além disso, crianças durante os cinco primeiros anos de vida, devem ter garantida a ingestão adequada e suficiente de lipídeos da família ômega-3 a fim de terem produção endógena adequada de DHA, bem como devem ser estimuladas a consumir fontes nutricionais deste composto através da dieta. Em caso de comprovada deficiência de sua ingestão, deve ser considerada a suplementação do nutriente (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2014; GOW; HIBBELN, 2014). Isso deve-se ao fato do potencial dos ácidos EPA e DHA em contribuir no desenvolvimento mental, uma melhor aprendizagem e comportamento na infância e redução de doenças psiquiátricas em adultos (SAHENA et al., 2009; CALDER, 2014).

Os efeitos biológicos dos ácidos graxos essenciais dependem da razão entre os ácidos das famílias $\omega 6/\omega 3$ presentes nos fosfolipídeos que constituem as membranas (SIMOPOULOS, 2008). Entretanto, concentrações nos alimentos ainda são amplamente discutidas pelos cientistas. Enquanto alguns pesquisadores apontam para a necessidade de reduzir o consumo de $\omega 6$ a fim de melhorar a relação, outros apontam a importância de aumentar a ingestão de $\omega 3$, e particularmente de EPA e DHA - buscando alternativas que, além da adoção de medidas projetadas quanto à educação nutricional para aumentar o consumo de peixes, são capazes de compensar as deficiências no consumo desse ácido graxo na promoção de doenças cardiovasculares (DEFILIPPIS; SPERLING, 2006; CANDELA et al., 2011; STROBEL et al. 2012).

Autores apontam que as concentrações excessivas de ácidos graxos AGPI $\omega 6$ e uma elevada proporção entre $\omega 6/\omega 3$ pode promover diversas patologias, incluindo câncer, doenças inflamatórias, auto-imunes e cardiovasculares. Já o aumento na ingestão de ácidos graxos AGPI $\omega 3$ (e uma baixa ingestão entre $\omega 6/\omega 3$) exerce efeitos promotores na prevenção dessas doenças, especialmente na proporção 4:1, a qual está associada à redução de 70% na mortalidade total (SIMOPOULOS, 2002).

3.4 Alterações no perfil lipídico em pescados apertizados

A preservação pelo calor é um dos principais métodos para aumentar a vida útil de pescados, devido às altas vantagens no nível de segurança higiênico-sanitária e conveniência (SKIPNES, 2014).

Entretanto, os ácidos graxos insaturados são susceptíveis a oxidação e suas propriedades benéficas podem ser perdidas através do processamento térmico. Altas temperaturas alteram significativamente as concentrações lipídicas e o perfil ácidos graxos presentes nos pescados (CALDER, 2014; RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2014).

A Tabela 1 apresenta a comparação entre os perfis lipídicos de atuns enlatados. Conforme a mesma, observa-se que as espécies de atuns, apesar de serem ótimas fontes de EPA e DHA, podem ter suas concentrações reduzidas durante o tratamento térmico. Além disso, quando enlatadas em óleo, maiores concentrações de ácidos graxos mono e poliinsaturados são observadas, embora com concentrações variadas, podendo ser explicado pela grande variedade de espécies de atuns.

Durante a produção de conservas de atuns, inúmeros autores observaram a migração de lipídeos entre os músculos dos pescados e os líquidos de coberturas.

A saída do exsudado do pescado durante a apertização ocorre a partir das paredes dos tecidos musculares, principalmente em músculos desintegrados. Através do exsudado e na presença de sal (NaCl), substâncias lipídicas como os ácidos graxos, migram para a salmoura, pois as proteínas miofibrilares e, principalmente actinmiosina, que são solúveis em sal, se solubilizam para formar gel (SIKORSKI, 1990).

Tabela 1: Comparação média do perfil lipídico de pescados enlatados (g/100g).

Amostra	%lipídeos	EPA	DHA	AGS	AGMI	AGPI	Líquido de cobertura	Referência
Atum (<i>Thunnus spp.</i>)	6.03	1.77	4.08	11.97	17.60	9.01	Óleo vegetal	SIROT et al. (2008)
Atum (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	18.7	-	-	9.4	14.4	65.2	Óleo vegetal	STEPHEN et al. (2010)
Atum (<i>Thunnus thynnus</i>)	5.64	0.79	1.52	1.55	1.51	2.57	Salmoura	TENORE et al. (2014)
Atum (<i>Thunnus albacares</i>)	3.74	0.14	1.28	1.41	0.70	1.61	Salmoura	TENORE et al. (2014)
Atum (<i>Thunnus alalunga</i>)	4.70	0.22	1.04	1.75	1.51	1.43	Salmoura	TENORE et al. (2014)
Atum (<i>Scomber scombrus</i>)	5.73	0.24	0.85	1.92	2.31	1.48	Salmoura	TENORE et al. (2014)

Além disso, conforme Bell et al. (2001), ocorre migração da umidade para fora do músculo do atum, devido ao gradiente de pressão gerado durante o processo de apertização, ocasionando alterações musculares como a desnaturação de proteínas, alterando a sua capacidade de reter água, sendo favorecida ainda pela presença de sal do meio.

Em relação à estabilidade dos lipídios, Siriamornpun et al. (2007) analisaram amostras de conservas de atuns em salmoura durante 0, 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento, à temperatura ambiente. Verificaram aumento da oxidação lipídica, através do índice de peróxidos e os valores de ácido tiobarbitúrico (TBA). Conforme os autores, os teores de peroxidação lipídica aumentaram de forma significativa ($p < 0,05$) após armazenamento durante nove meses, enquanto os valores de TBA, por volta dos 12 meses de estocagem. Contudo, a partir dos 6 meses de armazenagem ocorreu decréscimo nos teores de ácidos graxos poliinsaturados.

Conforme Aubourg et al. (1990), a utilização de óleo como líquido de cobertura apresentou efeitos significativos sobre os teores de lípidos e perfil de ácidos graxos de atuns em conservas. As interações são manifestadas por um intercâmbio entre as moléculas apolares, dos ácidos graxos e os líquidos (óleo de soja), sendo observado elevação acentuada nos ácidos graxos C18:2 e C18:3 originados do óleo, e ao mesmo tempo, os ácidos graxos

característicos dos atuns (EPA e DHA) mostraram-se elevados no óleo. Os autores observaram aumento significativo das concentrações lipídicas após o armazenamento entre 7 a 11 meses.

Tal fato também foi identificado por García-Arias et al. (1994), que estudaram alterações lipídicas em atuns enlatados contendo óleo de soja como líquido de cobertura. Segundo os autores, as conservas absorveram os óleos durante o enlatamento, elevando as concentrações de lipídeos e os teores de ácidos graxos oléico, linoleico e linolênico e uma elevação na proporção $\omega 6/\omega 3$.

Os efeitos do processamento térmico (apertização) na oxidação lipídica de sardinhas (*Sardinella aurita* e *Sardina pilchardus*) cruas e em conservas de azeite e molho de tomates, respectivamente, foram investigados por Selmi e Sadok (2007). Os autores identificaram, através dos indicadores de oxidação lipídica (índice de peróxidos e ácido tiobarbitúrico) que os conteúdos de lipídios dos filés de *Sardinella aurita* foram afetados de forma significativa ($p < 0,05$) pelo processo de apertização. Além disso, todas as amostras absorveram os óleos de coberturas durante a esterilização, elevando as concentrações de ácidos graxos oléico (C18:1, $\omega 9$) e linoléico (C18:2, $\omega 6$) nos músculos dos pescados.

Sirot et al. (2008) compararam perfis lipídicos de atuns frescos e enlatados em conservas em óleos vegetais, coletados na França. Os autores observaram que as amostras em conservas apresentaram teores significativamente superiores de lipídeos, comparados aos atuns na forma fresca, contendo 0,73 e 6,03g/100g, respectivamente. Segundo os mesmos, essa diferença na concentração lipídica de atuns frescos e enlatados pode ser explicada pela presença de óleo nas latas (apesar de terem sido drenadas durante a preparação das amostras), pelas diferentes espécies de atuns nas amostras ou por diferenças nos períodos de pesca para os produtos frescos e em conservas, cujo percentual de lipídios na carne dos pescados é altamente variável.

Stephen et al. (2010) avaliaram a estabilidade de ácidos graxos EPA e DHA sob diferentes processos térmicos em amostras de atuns, e observaram que o enlatamento promoveu perdas significativas destes compostos. Segundo os autores, embora as concentrações de ácidos graxos $\omega 3$ dos atuns variaram entre 10,6 e 20,0g/100g, a maior fonte foi de ácidos graxos linolênico (C18:3, $\omega 3$), provenientes líquido de cobertura contendo óleo vegetal.

Naseri et al. (2011) observaram concentrações mais elevadas de ácidos graxos livres nos líquidos de coberturas oriundos de óleos vegetais (óleo de oliva, óleo de girassol e óleo de soja) em conservas de pescados. Segundo os autores, esse fato ocorre pela dissolução dos hidroperóxidos entre os músculos dos peixes e os óleos utilizados durante o processamento dos atuns.

Mohan et al. (2015) avaliaram o perfil lipídico de atuns e alguns parâmetros de estabilidade (textura, oxidação lipídica e hidrólise de diferentes óleos de coberturas) durante o processamento de conservas submetidas a diferentes tratamentos térmicos. Os atuns contendo óleo de girassol como líquido de cobertura apresentaram menores indicadores de oxidação lipídica, comparados aos enlatados com óleo de coco, que apresentaram maiores teores de ácidos graxos livres, bem como ácido tiobarbitúrico (TBA). Tal fato, pode ser atribuído a presença de elevadas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta no óleo de coco e de ácidos graxos de cadeias medias (C-16 a C-18) no óleo de girassol. Além disso, devido a liberação de água para os líquidos de coberturas durante o processamento térmico dos atuns resultou na formação de uma emulsão de óleo em água, elevando a oxidação lipídica, com redução significativa nas concentrações dos ácidos graxos EPA e DHA.

3.5 Colesterol e seus produtos de oxidação

O colesterol ($C_{27}H_{46}O$) é um dos mais importantes esteróis existentes nos tecidos animais. É um álcool de alto peso molecular e constitui-se como o principal componente da fração insaponificável dos óleos e gorduras. Pode apresentar-se na forma livre, combinado com ácidos graxos de cadeia longa ou como ésteres de colesterol, tornando-se componente estrutural essencial das membranas e das lipoproteínas plasmáticas (Figura 6) modulando sua fluidez, além de ser precursor da síntese de hormônios esteroides, de ácidos biliares e da vitamina D (HARPER; JACOBSON, 1999; MORZYCKI, 2014, MIYOSHI et al., 2014).

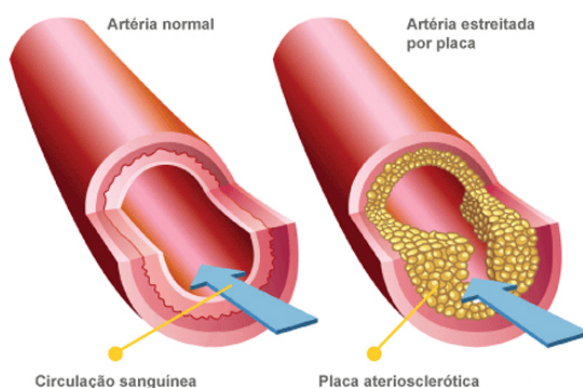


Figura 6: Posição do colesterol na membrana plasmática.

Contudo, esse importante grupo de lipídeos, devido a insaturação presente em sua molécula, é susceptível ao processo de oxidação. É sensível ao aquecimento, ao ar e à radiação, e as alterações que ocorrem em temperaturas elevadas incluem reação em cadeia de radicais livres, redução, desidratação, desidrogenação e epoxidação, gerando produtos de oxidação do colesterol (POC's) (BOSINGER et al., 1993; CHIEN et al., 1998; HUR et al., 2007).

Os POC's são um grupo de esteróides com uma estrutura semelhante à do colesterol, no entanto, eles contêm uma hidroxila adicional, cetona ou grupo epóxido no núcleo central, ou uma hidroxila na cadeia lateral da molécula. A formação de óxidos de colesterol é dependente do sistema, isto é, os produtos oxidados, bem como suas concentrações relativas variam dependendo da temperatura, tempo, presença de água e pH (KIM; NAWAR, 1993).

Podem ser gerados por oxidação não enzimática do colesterol *in vivo* e estão envolvidos em eventos plasmáticos indesejáveis, como na atividade citotóxica e pró-inflamatória, hipercolesterolemia e iniciação da formação de ateromas e placas fibrosas que levam a aterosclerose (Figura 7) (LARSSON et al., 2006; VEJUX et al., 2008; JURADO, 2010; TESORIERE et al., 2014).

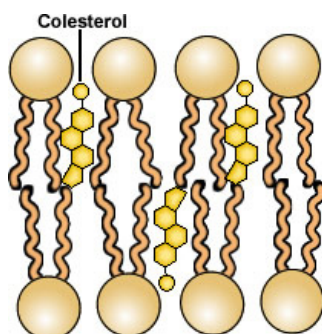


Figura 7: Formação de placas aterioscleróticas por deposição de gorduras.

Em alimentos, os POC's podem ser formados pela oxidação não enzimática ou autoxidação, através de reações em cadeia complexas baseadas na formação de radicais livres com oxigênio triplete. Neste caso, o hidrogênio é extraído do colesterol por radicais peróxidos ou óxidos dos ácidos graxos poliinsaturados (fosfolipídeos) vizinhos à membrana celular (SMITH, 1987).

As posições da molécula de colesterol que são mais susceptíveis ao ataque do oxigênio estão apresentadas na Figura 8.

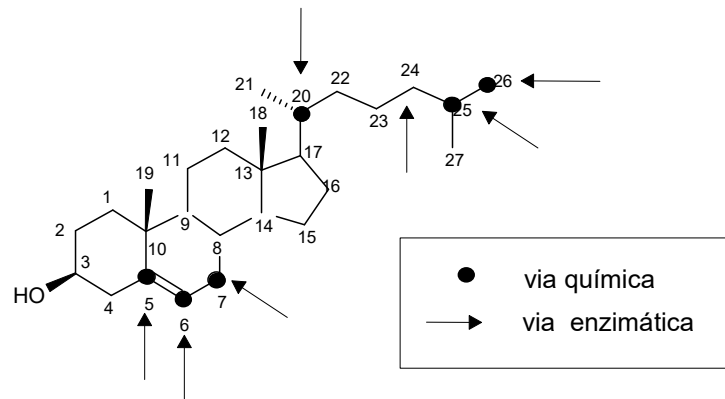


Figura 8: Posições na molécula de colesterol susceptíveis ao ataque oxidativo.

Dentre os principais POC's formados estão os compostos originados a partir da oxidação do carbono C-7, cuja insaturação entre os carbonos 5 e 6 o tornam disponível para a formação de radicais livres e, conseqüentemente, ao processo oxidativo. São formados, simultaneamente, os 7 α - e 7 β -hidroperóxidos, sendo o 7 β termodinamicamente mais estável. Em seguida, são reduzidos aos seus álcoois correspondentes (7 α - e 7 β -hidroxicolesterol) e a 7-cetocolesterol (SCHROEPFER, 2000).

Além disso, pode ocorrer a oxidação dos carbonos terciários C-20 e C-25 da cadeia lateral do colesterol, originando 20 α -hidroxicolesterol e 25-hidroxicolesterol, respectivamente. Outros hidroperóxidos originados a partir da cadeia lateral da molécula do colesterol tais como 20 β -, 24 α - e 24 β -, 26 α - e 26 β -hidroperóxidos podem ser formados quando o colesterol é fortemente oxidado pelo ar (SMITH, 1987). A formação de POC's através da molécula de colesterol pode ser visualizada na Figura 9.

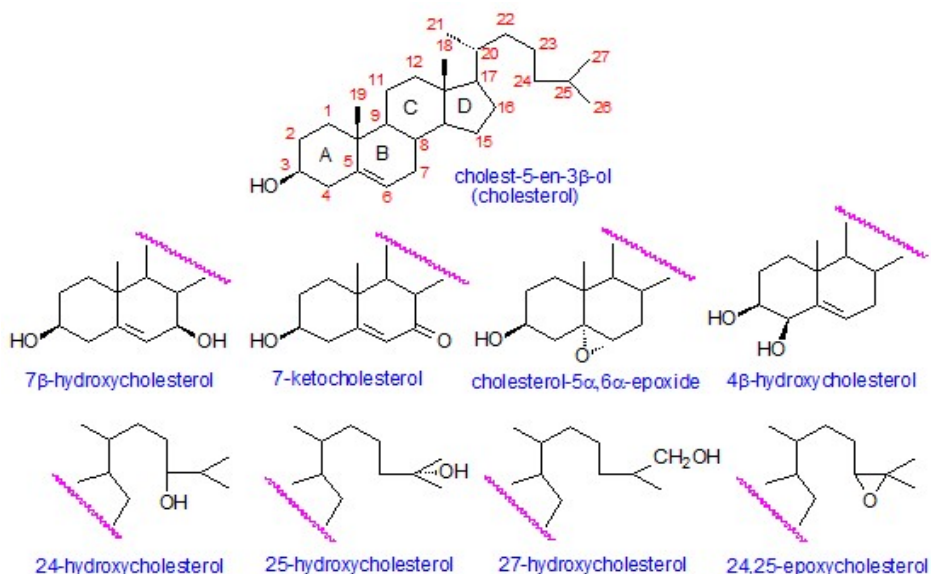


Figura 9: Formação de POC's (HUTTON, 2014).

3.5.1 Efeitos Biológicos dos POC's

A identificação dos potenciais efeitos fisiológicos dos óxidos de colesterol tem sido estudada por diversos autores. Embora existam fortes evidências de que essas moléculas representam uma classe de potentes reguladores biológicos, o papel fisiológico dos mesmos ainda é controverso, pois grande parte da literatura atribui efeitos deletérios as mesmas (BROWN; JESSUP, 1999; LYONS et al., 1999; LEONARDUZZI et al., 2002; GUARDIOLA et al., 1996; VICENTE et al., 2012; POIROT; SILVENTE-POIROT, 2013; GEORGIU et al., 2014; KHATIB; VAYA, 2014; HUR et al., 2014).

Quando produzidos endogenamente, por vias enzimáticas, estão relacionados a atividades biológicas específicas (BÖSINGER et al., 1993), como substratos para a síntese de hormônios esteróides e ácidos biliares, sendo intermediários no transporte de esteróis dos tecidos periféricos ao fígado (NES et al., 2000; GRIFFITHS; JÖRNVALL, 2014; KULIG et al., 2016), além de biomarcadores da oxidação das lipoproteínas celulares (BJÖRKHEM, 2002; FERDERBAR et al., 2007; MIYOSHI et al., 2014; NIKI, 2014; SAITO; NOGUCHI, 2014).

Entretanto, estudos comprovam que a ingestão de POC's nos alimentos está amplamente envolvida no desencadeamento de processos inflamatórios, citotóxicos, aterogênicos, carcinogênicos e mutagênicos, além de doenças cardiovasculares e alterações fisiológicas como inflamações, apoptose celular, doenças degenerativas, osteoporose e artrite reumatóide (LEONARDUZZI et al., 2002; VEJUX et al., 2008; POLI et al., 2009; VICENTE et al., 2012; POIROT; SILVENTE-POIROT, 2013; GEORGIU et al., 2014; KHATIB; VAYA, 2014; HUR et al., 2014).

De acordo com Björkhem (2002), os POC's são identificados normalmente em membranas celulares e lipoproteínas, sempre ligados a concentrações elevadas de colesterol, podendo acentuar as suas propriedades físicas durante a degradação e excreção dos óxidos e permitir a passagem e a redistribuição entre as células de forma mais rápida do que o próprio colesterol (LANGE et al., 1995).

Os POC's podem ainda, substituir o colesterol nas membranas celulares e afetar a fluidez, a permeabilidade e a estabilidade destas membranas (MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2002), e induzir a aderência de plaquetas nas células endoteliais, através do decréscimo na produção de prostaglandinas (LEONARDUZZI et al., 2002).

Ikegami et al. (2014) analisaram o perfil de POC'S em soros de pacientes infectados pelo vírus da hepatite C crônica. Os autores observaram elevação significativa das concentrações dos óxidos 7 α -hidroxicolesterol, 4 β -hidroxicolesterol e 25-hidroxicolesterol em 236%; 29% e 44%, respectivamente. Entretanto, após 3 meses de terapia anti-viral, os autores relataram um acentuado decréscimo nos níveis dos referidos compostos. Os pesquisadores sugeriram que estes POC's podem ter sido produzidos por auto-oxidação do colesterol a partir de um stress oxidativo ou inflamação hepática.

Recente estudo descreveu o efeito citotóxico, a curto prazo, do 7-cetocolesterol em células mesenquimais humanas a partir de tecidos adiposos (LEVY et al., 2014). Este óxido também está associado com elevado potencial citotóxico em células neuronais (JANG; LEE, 2011) e é suspeito de estar envolvido na patogênese de doenças degenerativas (NOGUCHI et al., 2014).

Dentre os efeitos deletérios dos óxidos, o de maior impacto está relacionado à aterogênese. Esse processo é iniciado por uma modificação da função de barreira do endotélio vascular, o que conduz a uma penetração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e das plaquetas. Logo, a proliferação de macrófagos induz a degradação do LDL, resultando em células espumosas, que armazenam o colesterol e seus ésteres, levando à formação de placas

de ateromas (GUARDIOLA et al., 1996). O acúmulo das LDLs oxidadas no endotélio dos vasos sanguíneos leva a progressão das placas e contribuem para a vulnerabilidade e instabilidade das mesmas, devido à sua toxicidade e a sua capacidade para induzir a apoptose celular (STEINBERG, 1991; CARPENTER et al., 1995; BRONW et al., 1999; POLI et al., 2009; KHATIB; VAYA, 2014).

Os principais óxidos de colesterol envolvidos com os processos inflamatórios são o 7 α -hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido e 7-cetocolesterol (ADDIS et al., 1989), sendo este último comumente utilizado como marcador de oxidação do colesterol em sistemas modelos e em alimentos (MOURA; TENUTA-FILHO, 2002; RODRIGUEZ-ESTRADA et al., 2014).

Embora diversas pesquisas realizadas demonstrarem efeitos deletérios ou benéficos dos óxidos de colesterol, os resultados são conflitantes, sendo necessários outros estudos *in vivo* para determinar o papel metabólico destes compostos, além da sua quantificação em alimentos.

3.5.2 Produtos de oxidação do colesterol em pescados termicamente processados

O processamento de pescados envolve a aplicação de técnicas de conservação para manutenção da qualidade, bem como o aumento do valor agregado destes alimentos. Inúmeros métodos são utilizados para a conservação de peixes e frutos do mar, sendo empregadas técnicas de refrigeração, congelamento, secagem, salga, defumação, enlatamento, fermentação e irradiação ionizante (FAO, 2015).

Entretanto, a aplicação das referidas técnicas levam a degradação oxidativa, uma vez que um grande número de estudos comprovou a relação entre a presença de ácidos graxos poliinsaturados e a formação de óxidos de colesterol durante o processamento de pescados, devido aos altos teores de ácidos graxos da série ω -3 presentes nos mesmos. Os AGPI são extremamente susceptíveis à oxidação, formando radicais livres que irão acelerar o mecanismo de oxidação em cadeias dos lipídios, originando os POC's (OSADA et al., 1993; OHSHIMA et al. 1996; SHOZEN et al., 1997; LEE; CHIEN, 2008; SALDANHA et al. 2008; OLIVEIRA, 2009; SANCHO et al., 2011; CARDENIA et al., 2013; MEDINA-MEZA; BARNABA, 2013).

Ohshima et al. (1993) avaliaram a presença de óxidos de colesterol em pescados processados populares no Japão, preparados nas formas salgadas e secas, cozidas e secas, e defumadas. Os produtos salgados e secos e cozidos e secos obtiveram níveis relativamente elevados de POC's. Os teores variaram entre 8,3 μ g/g (em camarões defumados) e 188,0 μ g/g (em anchovas secas). Segundo os autores, dentre os principais produtos de oxidação de colesterol identificados, 7 β -hidroxicolesterol e 7-cetocolesterol foram destaque, totalizando 2-55 μ g/mL e 2-60 μ g/mL nas porções comestíveis, respectivamente. Na mesma pesquisa, os autores avaliaram, a partir de 4 sistemas modelos, o mecanismo de oxidação do colesterol em pescados processados. Os pesquisadores observaram um acréscimo da formação de POC's, bem como um decréscimo das concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados presentes nos sistemas, sugerindo que a oxidação do colesterol em pescados processados ocorre em conjunto com a degradação oxidativa dos referidos ácidos graxos.

Osada et al. (1993) estudaram amostras de sardinhas e lulas e observaram que os pescados *in natura* não continham óxidos de colesterol, no entanto, quando secos ao ar ou enlatados apresentaram teores de óxidos entre 11 a 28,7 mg/100g. Em relação aos produtos de oxidação do colesterol quantificados, obtiveram: 7 α -hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 5 β -epoxicolesterol, 5 α -epoxicolesterol, colestanoltriol, e 7-cetocolesterol. Os autores

concluíram que os POC's são produzidos após tratamento térmico a 120°C em curto espaço de tempo, sendo que a composição dos produtos formados está diretamente relacionada à temperatura e ao tempo de aquecimento. Além disso, a produção dos óxidos de colesterol foi máxima quando foram aquecidos a 150°C. Observaram também, através de sistemas modelo, que o colesterol permaneceu estável e não produziu óxidos quando aquecido sozinho. Entretanto, na presença de óleos o colesterol mostrou-se instável, de maneira particular quando aquecido com lipídios insaturados, em que a concentração total do produto reduziu e observou-se a geração de óxidos de colesterol.

Chen e Yen (1994) estudaram os produtos de oxidação do colesterol em amostras de pescados secos ao sol (*Spratelloides gracilis* e *Decapterus maruodsi*) de Taiwan e *Spratelloides gracilis* do Japão. Os peixes foram estocados durante 3 meses à temperatura ambiente e os principais produtos determinados foram o 7 α -hidroxicolesterol, 7-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e 5,6 α -epoxicolesterol. Segundo os autores, as concentrações de óxidos de colesterol nos diferentes lotes dos peixes mostraram-se extremamente discrepantes, variando entre 4,82 g/100 (*Spratelloides gracilis*) a 65,7 g/100g (*Decapterus maruods*). Nos peixes originários do Japão a concentração total de óxidos determinada foi de 56,1g/100g, sendo o 7 α -hidroxicolesterol o principal POC identificado.

Shozen et al. (1995) estudaram a formação de óxidos de colesterol em pescados processados e posteriormente grelhados. As amostras de arenque do Pacífico e badejo japonês salgados-secos, lulas cozidas e secas, “carapau” fermentado, bacalhau do Norte e do Pacífico salgados e secos, foram adquiridos de alguns mercados varejistas em Tóquio, Japão. Foram observadas reduções significativas dos teores de colesterol em todas as amostras após preparo térmico na grelha. Dentre os POC's identificados, estão o 25-hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, colestanoetriol, 5,6 α e β -epóxidos, totalizando concentrações superiores no arenque do Pacífico, totalizando 156 μ g/g. Os autores observaram que os alimentos produzidos com peixes com altos teores de EPA (arenque do Pacífico badejo japonês e bacalhau do Norte) ocorreram uma redução significativa dos teores de AGPI, além da elevação nas concentrações de POC's após o processo térmico na grelha. Já nos peixes magros, o decréscimo dos ácidos graxos poliinsaturados não se mostrou acentuado, bem como a produção de óxidos de colesterol.

Ohshima et al. (1996) estudaram anchovas processadas (cozidas e secas) e submetidas ao processamento térmico a 220°C e posterior refrigeração a 5 °C, por até 3 dias. Os autores observaram que os níveis de produtos de oxidação do colesterol aumentaram significativamente quando as anchovas foram grelhadas durante 6 minutos, sendo formados: 7 β -hidroxicolesterol (64,4 μ g/g), 7-cetocolesterol (49,6 μ g/g), 25-hidroxicolesterol (11,8 μ g/g), colestanoetriol (17,9 μ g/g), β -epoxicolesterol (61,9 μ g/g), e α -epoxicolesterol (22,3 μ g/g).

Hong et al. (1996) avaliaram diferentes métodos de cozimento e secagem (armazenado durante 6 semanas a 4°C e 20°C), nos teores de colesterol e formação de produtos de oxidação do colesterol em lulas (*Todarodes pacificus*). Os autores identificaram a presença de 22-hidroxicolesterol, colestano-3,5-dieno-7-ona e triol. As concentrações dos POC's nas lulas variaram de acordo com o as partes deste pescado: 263,2mg/100g (manto) e 315,8mg/100g (tentáculos).

Kao e Hwang (1997) analisaram POC's em lulas desidratadas e determinaram a presença dos seguintes COP's: 7 α -hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, α -epoxicolesterol, β -epoxicolesterol, 7-cetocolesterol, 20-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol e colestanoetriol. Os autores observaram que, após o aquecimento a 200° C durante 10 min, os teores de colesterol reduziram de 730mg/g para 602mg/g, enquanto os níveis totais de POC's elevaram-se de 12,07 μ g/g para 43,46 μ g/g. A degradação do colesterol foi muito mais acentuada do que

a formação dos POC's, revelando que a maior parte do colesterol foi degradada a outros compostos.

Em estudo sobre os efeitos da fritura sob imersão em óleo e cozimento em microondas, Hee-Kim et al. (2000) avaliaram a relação dos processamentos térmicos com a formação de POC'S em "saury" (*Cololabis seira*). Os autores observaram a produção de altas concentrações dos óxidos 7-hidroxicolesterol, bem como do 5,6 e 5,6-epóxidos em todas as amostras avaliadas, sendo que concentrações mais elevadas foram determinadas nas amostras fritas sob imersão. Os óxidos 7-cetocolesterol e 25-hidroxicolesterol foram observados apenas nas amostras submetidas ao cozimento em microondas. Entretanto, o colestanetriol, o mais tóxico dos produtos de oxidação do colesterol, só foi produzido na fritura sob imersão.

Al-Saghir et al. (2004) analisaram amostras de salmão submetidas a preparos térmicos por cozimento, na grelha e fritura com diferentes tipos de óleos (óleo de oliva, óleo de milho e óleo vegetal "parcialmente hidrogenado"). Os autores observaram um aumento significativo na concentração total de óxidos de colesterol das amostras aquecidas quando comparadas às amostras cruas. Dentre os produtos de oxidação do colesterol estudados, concentrações mais elevadas ($\mu\text{g/g}$ de lipídios) foram identificadas no 7-cetocolesterol, que atingiu média de 49% dentre todas as amostras avaliadas, seguido do 7 β -hidroxicolesterol. As concentrações de 5,6-epóxidos e 7 α -hidroxicolesterol mostraram-se abaixo de 15% do total de óxidos determinados. Em relação aos métodos de processamento, o cozimento resultou em teores médios de POC's ligeiramente superiores ($9,88\mu\text{g/g}$) que foi atribuído ao tempo de aquecimento mais longo (12 min), comparado as amostras grelhadas, que obtiveram $5,98\mu\text{g/g}$. Nas amostras fritas com diferentes óleos foram observadas concentrações entre $3,34\mu\text{g/g}$ e $4,38\mu\text{g/g}$ de óxidos de colesterol, respectivamente.

Ao comparar a intensidade da formação de produtos de oxidação do colesterol em patés formulados a base de pescados (salmão, anchova e bacalhau) comercializados na Espanha, Echarte et al. (2004) obtiveram um total de $235\mu\text{g}/100\text{g}$ de POC's nos patés de bacalhau; $174\mu\text{g}/100\text{g}$ nas amostras contendo salmão e $72\mu\text{g}/100\text{g}$ nos patés à base de anchovas. Concentrações mais elevadas foram observada para o 7 α -hidroxicolesterol, com níveis de $71\mu\text{g}/100\text{g}$ para as amostras com bacalhau; $53\mu\text{g}/100\text{g}$ para amostras com salmão, e $33\mu\text{g}/100\text{g}$ para os patés com anchovas, respectivamente.

Em outro estudo, Echarte et al. (2005) avaliaram a presença de POC's em camarões (*Penaeus vannamei*), comercializados refrigerados e congelados, e realizaram subsequente processamento na grelha. Os autores determinaram os seguintes produtos: 7-cetocolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 7 α -hidroxicolesterol, α -epoxicolesterol, β -epoxicolesterol e 25-hidroxicolesterol. Teores inferiores de POC's foram obtidos nas amostras comercializadas congeladas ($2,37\mu\text{g/g}$ antes e $13,06\mu\text{g/g}$ após o processo térmico da grelha) em comparação as resfriadas ($33,15\mu\text{g/g}$ e $55,43\mu\text{g/g}$ nas amostras antes e após grelhadas, respectivamente).

Entre os POC's identificados por Saldanha et al. (2006), em amostras de bacalhau seco e salgado (*Gadus morhua*), estão: o 19-hidroxicolesterol, 20 α -hidroxicolesterol, 22(R)-hidroxicolesterol, 24 (S)-hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 5,6 α -hidroxicolesterol, 5,6 β -hidroxicolesterol, 25(R)-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 β -hidroxicolesterol e 7 α -hidroxicolesterol. O teor total de óxidos de colesterol determinados foi de $58,95\mu\text{g/g}$ de amostras, em base seca.

Em outro estudo, Saldanha e Bragagnolo (2008) analisaram amostras comerciais de filés de pescada (*Merluccius hubbsi*) congelados a -18°C , armazenados em embalagens com alta e baixa permeabilidade ao oxigênio, respectivamente, nas formas cruas e grelhadas. Os principais POC's determinados foram: 19-hidroxicolesterol, 24(S)-hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 25(R)-hidroxicolesterol e 7-cetocolesterol. As

embalagens com baixa permeabilidade ao oxigênio foram mais eficazes no retardo da formação de POC's, apesar de não impedir a formação desses compostos (149 µg/g), quando comparadas às embalagens com alta permeabilidade ao oxigênio (162 µg/g em base seca). Após tratamento térmico na grelha, os autores observaram teores totais de 279 (baixa permeabilidade) e 265 µg/g de amostras (alta permeabilidade), respectivamente.

Saldanha et al. (2008) estudaram a composição de ácidos graxos e formação de óxidos de colesterol em amostras de sardinhas (*Sardinella brasilienses*) armazenadas sob congelamento, durante 120 dias. As análises foram realizadas a cada 30 dias, na forma crua e após preparo térmico na grelha. Os autores observaram um significativo decréscimo dos teores de ácidos graxos poliinsaturados e colesterol, bem como formação de óxidos de colesterol. Foram observados os POC's 19-hidroxicolesterol, 20 α -hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 22(R)-hidroxicolesterol 24(S)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 25(R)-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 α -cetocolesterol, 7 β -cetocolesterol, 5,6 α -epoxicolesterol, 5,6 β -epoxicolesterol. Após 120 dias de armazenamento a -18^oC a concentração de POC's alcançaram 115,2 µg/g nas sardinhas cruas e 177,9 µg/g nas amostras grelhadas, respectivamente. Foram observados teores mais elevados dos compostos 19-hidroxicolesterol (72,0 µg/g) e o 25-hidroxicolesterol (48 µg/g).

Saldanha e Bragagnolo (2010) avaliaram o efeito do tratamento térmico na grelha em pescadas e sardinhas e a formação de POC's. Os autores observaram redução das concentrações de colesterol de forma significativa ($p < 0,02$) após o tratamento térmico, e elevação das concentrações dos produtos de oxidação do colesterol nas duas espécies de peixes, contabilizando um total de POC's de 43.28 µg/g nas sardinhas e 19.35 µg/g nas pescadas, respectivamente. Dentre os POC's identificados: 7-cetocolesterol, 19-hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 25(R)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol e 24(S)-hidroxicolesterol.

Lira et al. (2014) estudaram o efeito da defumação sobre a oxidação do colesterol em camarões. Nas amostras *in natura*, os POC's 7-cetocolesterol; 7 α -hidroxicolesterol e 7 β -hidroxicolesterol foram quantificados em concentrações variadas (0,6 a 1,9 mg/g). Entretanto, após o processo de defumação os autores observaram perdas de colesterol (27%) e 7 β -hidroxicolesterol (50%), enquanto 7-cetocolesterol e 7 α -hidroxicolesterol permaneceram constantes.

O consumo de pescados processados tem aumentado devido às necessidades impostas pela vida moderna, em que o tempo de preparo é um fator limitante. Entretanto, as condições de processamento destes alimentos, além do transporte e armazenamento são fatores que contribuem para a degradação do colesterol. Soma-se ao fato que os ácidos graxos ω -3 presentes em pescados são compostos extremamente suscetíveis à oxidação, originando os óxidos de colesterol. Desta forma, os níveis de óxidos de colesterol quantificados em diversos tipos de peixes processados sugerem algumas questões sobre a segurança potencial destes alimentos, normalmente considerados benéficos para a saúde.

3.5.3 Análises de POC's em pescados por HPLC

Os produtos de oxidação do colesterol em alimentos tem sido alvo de muitos estudos, a partir do desenvolvimento de novas técnicas, visando sua correta indentificação e quantificação. Contudo, estas análises são amplamente dificultadas pois, além de apresentarem-se em baixos teores (µg/g), há uma ampla variedade de matrizes de alimentos (ROSSMANN et al., 2007).

Os métodos utilizados para a sua determinação são técnicas cromatográficas, devido à facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas, em que pode ser utilizada isoladamente ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise. Fundamenta-se na migração dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis. A “fase fixa” (fase estacionária) tem uma grande área superficial, e a “fase móvel” é um fluido que se move através da fase estacionária (COLLINS, 1997; DEGANI et al., 1998). Exemplos destas técnicas são a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência com índice de refração (HPLC-IR).

Para a determinação dos óxidos é necessário o emprego de metodologias que evitem a formação de artefatos durante o processo analítico. A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido a técnica de eleição, uma vez que as análises são realizadas a temperaturas relativamente baixas, além de não haver necessidade de reações de derivatização como na cromatografia gasosa (CG). Embora o poder de resolução através do equipamento por HPLC-IR é teoricamente inferior ao da CG, a primeira pode fornecer um meio ideal para a recuperação e purificação da amostra, simplificar o processo de quantificação, encurtar o tempo de análise e introduzir menos artefatos, podendo ser mais adequada para a análise de rotina de POC's em amostras de alimentos (COLLINS, 1997; TAI et al., 1999).

Diversos autores aplicaram a técnica de HPLC com absorção ultravioleta (UV)-visível na identificação e quantificação do colesterol e a ocorrência dos seus produtos de oxidação em pescados processados, a exemplo de camarões salgados e secos (SAMPAIO et al., 2006), fritos (MOURA; TENUTA-FILHO, 2002; SIMON et al., 2012) e defumados (LIRA et al., 2014), além de pescadas e sardinhas grelhadas (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2007, 2008 e 2010). Todos os estudos demonstraram que os produtos de oxidação do colesterol estão presentes quando há condições abusivas para os pescados, influenciando a oxidação lipídica, sendo facilmente identificados pelas técnicas cromatográficas e confirmadas por Espectrometria de Massas com interface de ionização química por pressão atmosférica.

Saldanha e Bragagnolo (2008) quantificaram POC's em filés de pescada (*Merluccius hubbsi*) em diferentes condições de processamento e armazenamento, realizando determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol por HPLC. Os autores utilizaram o HPLC-APCI-MS para a confirmação do colesterol e dos seus produtos de oxidação além da identificação dos POC's 5,6 α - β -epóxidos e o colestanoetriol através do detector de índice de refração, tendo em vista que esses compostos não absorvem comprimentos de onda na região de UV-visível.

O HPLC acoplado ao detector de espectrometria de massas (HPLC-APCI-MS) tem sido uma das técnicas analíticas mais sensíveis e precisas em análise de lipídeos. Além de auxiliar na elucidação das suas estruturas químicas, contribui para a sua identificação, a exemplo de POC's (ZHANG, 2005; MAZALLI et al., 2006; SANCHO et al., 2011).

Saldanha et al. (2006) realizaram determinação simultânea de colesterol e 12 POC's por saponificação direta e quantificação precisa, utilizando HPLC de fase normal e detecção por UV. Dentre os POC's identificados nas amostras de peixes frescos e processados os autores destacaram os óxidos 19-hidroxicolesterol, 22(R)-hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 24(S)-hidroxicolesterol e 25(R)-hidroxicolesterol, detectados pela primeira vez em pescados. Os autores concluíram que a técnica para determinação simultânea de colesterol e produtos de oxidação do colesterol por HPLC-UV-RI é uma metodologia rápida, simples e sensível para detectar e quantificar os compostos, e suas estruturas podem ser identificadas e confirmadas através de espectrometria de massas com ionização química por pressão atmosférica (HPLC-APCI-MS).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

Foram coletadas conservas de atuns “em salmoura” e “em óleo” em supermercados da região metropolitana do Rio de Janeiro, em fevereiro de 2015. Foram adquiridas 6 latas de 3 marcas comerciais, de ambas as variedades, totalizando 36 latas dos produtos para a realização do experimento. Após coletadas, as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente até a realização das análises no Laboratório de Análise de Alimentos no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ. Como critério de identificação das marcas analisadas, as amostras foram intituladas AGC, APC e AQC, nas variedades “em óleo” e “em salmoura”.

4.2 Preparo das amostras

Para a realização das análises, separou-se os líquidos de coberturas das suas respectivas amostras de atuns em conservas. As amostras foram homogeneizadas e, em seguida, submetidas ao procedimento de determinação de umidade; as amostras restantes dos peixes, bem como os líquidos de coberturas, foram identificadas e secas sob estufa ventilada (Splabor, SP-102/27) a 40°C (3-5 dias) até a remoção total do conteúdo de água das amostras, para realização das subseqüentes análises em base seca.

4.3 Determinação de Umidade

Realizou-se determinação de umidade das amostras de atuns em conservas conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), em estufa convencional (Marconi, MA033/1) a 105°C (1-2 dias), até obtenção de peso constante.

4.4 Determinação de Lipídeos Totais

Os teores de Lipídeos Totais foram determinados pelo método de Bligh e Dyer (1959), com modificações propostas por Saldanha et al. (2007), e adaptados no presente estudo. Foram pesados 3g de amostras de atuns secos em tubos com tampa rosca com capacidade de 70mL. Em seguida, foram adicionados clorofórmio (20mL), metanol (10mL) e água (8mL), numa proporção de 2:1:0,8, e uma barra magnética pequena (“peixinho”) para homogeneização em agitador magnético (C-MAG HS7, IKAMAG), durante 2h. As amostras foram filtradas em funil de separação, com papel de filtro comum contendo 5g de sulfato de sódio anidro, para a separação das fases polar e apolar. Em seguida, recolheu-se a fase apolar, através de balões de fundo chato com boca esmerilhada de 250mL, previamente tarados. Os balões foram colocados no equipamento rota-evaporador (Tecnalise, SP/Brasil) até a secagem completa do clorofórmio. Após resfriados em dessecador, os balões contendo os conteúdos lipídicos foram pesados, obtendo-se, assim, a determinação de lipídeos totais das amostras de atuns em conservas.

4.5 Determinação dos ácidos graxos das amostras de pescados e dos respectivos líquidos de coberturas

Os extratos etéreos das amostras de atuns em conservas foram destinados para as análises dos perfis de ácidos graxos, de acordo com a metodologia proposta por Joseph e Ackman (1992).

Após a pesagem de 25mg de lipídeos em tubo de 20mL com tampa rosca, foram adicionados 1,5 mL de solução metanólica de NaOH 0,5N, fechando bem o tubo, e deixando em banho-maria a 100°C durante 5 minutos. Em seguida, resfriou-se os tubos em água corrente, adicionou-se 2mL de BF₃, vedando bem e deixando em banho-maria a 100°C durante 30min. Após esse procedimento, os tubos foram resfriados, adicionados 1mL de hexano e agitados em vortex. Após esta etapa, foi adicionado mais 1 mL de hexano, e novamente recolhida a fase apolar. Os extratos hexânicos foram secos sob N₂ gasoso e, por fim, deixados em freezer, a -18°C, até a realização das análises cromatográficas.

Realizou-se, ainda, a determinação de ácidos graxos dos líquidos de coberturas (óleos e salmouras), após o processo de filtração das conservas de atuns.

Para os líquidos de coberturas compostos por óleos, os mesmos foram preparados adicionando-se 10mL de clorofórmio e filtração com 5g de sulfato de sódio anidro, em papel filtro comum, para balões de 250mL de fundo chato com boca esmerilhada. Na sequência, procedeu-se a secagem em rota- evaporador a 40°C, para remoção do solvente orgânico.

Em relação aos líquidos compostos por salmouras, foi necessário a realização da secagem total das amostras (em estufa ventilada, à 40°C, durante 72h). Após a secagem, as amostras foram trituradas e, em seguida, adicionadas 5mL de clorofórmio (para cada 1,5g de amostra) e centrifugadas (por 10 minutos, a 3500 rotações/minuto) em centrífuga de bancada (Bunker, NI 1813). Por fim, foi realizada a filtração e secagem do solvente em nitrogênio gasoso, obtendo-se as concentrações lipídicas das salmouras.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinados de acordo com Saldanha et al. (2008). Utilizou-se um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC 2010, Tóquio, Japão), equipado com injetor *split* (1:50) e detector de ionização por chama. A separação cromatográfica foi obtida a partir de coluna capilar de sílica fundida (CP-SIL 88, 100 m x 0,25 mm ID, 0,20 µm de espessura de filme (Chrompack, Middelburg, Holanda). As condições cromatográficas foram: temperatura inicial de 100°C (5 minutos) seguida de 5°C/minuto até 160°C (zero minuto), 8°C/minuto até 230°C (12 minutos); as temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 280°C, respectivamente. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste (1 mL/minuto). Os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME 37, Supelco, Sigma Milford, EUA) foram usados para identificar os picos das amostras. A quantificação foi realizada por padronização interna, utilizando o ácido undecanoato de metila derivatizado (C:11, Supelco, Sigma Milford, EUA) como padrão interno. Os resultados foram apresentados em gramas de ácidos graxos/100 gramas de óleo, em base seca (SALDANHA et al., 2008).

4.6 Índices de Qualidade Nutricional (IQN) das frações lipídicas dos atuns em conservas

A qualidade nutricional dos lipídeos das amostras de atuns em conservas foram avaliadas através dos índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991), que correlaciona os ácidos aterogênicos (de C12:0, C14:0 e C16:0) com ácidos graxos anti-aterogênicos (monoinsaturados e ácidos graxos poliinsaturados ω3 e

$\omega 6$), bem como a razão H/H (SANTOS-SILVA, et al., 2002) a qual refere-se aos ácidos graxos hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos e está relacionada com o metabolismo colesterol, através das fórmulas a seguir (g/100g):

$$IA = [(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\Sigma AGMI + \Sigma \omega 6 + \Sigma \omega 3)$$

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma \omega 6) + (3 \times \Sigma \omega 3) + (\Sigma \omega 3 / \Sigma \omega 6)]$$

$$H/H = (C18:1n9 + C18:2n6 + C20:4n6 + C18:3n3 + C20:5n3 + C22:5n3 + C22:6n3) / (C14:0 + C16:0)$$

Os quais:

$\Sigma AGMI$ = somatório dos ácidos graxos monoinsaturados;

$\Sigma \omega 6$ = somatório dos ácidos graxos da família do ômega 6;

$\Sigma \omega 3$ = somatório dos ácidos graxos da família do ômega 3.

4.7 Determinação simultânea do colesterol e óxidos de colesterol por HPLC-DAD-IR

A extração e quantificação simultânea do colesterol e seus produtos de oxidação foram realizadas de acordo com Saldanha et al. (2006). O colesterol e os óxidos de colesterol foram obtidos através de saponificação direta (1 grama de amostra, pesado em tubo de 70 mL Pyrex^(R)) a temperatura ambiente, durante 22 horas na ausência de luz (4mL de solução aquosa de KOH a 50% e 6 mL de etanol).

Para a extração da matéria insaponificável, 5 mL de água destilada e 10 mL de hexano foram adicionados aos respectivos tubos e agitados em vortex. A fração hexânica foi separada, e essa extração com hexano foi repetida 3 vezes, perfazendo um total de 4 extrações. Subsequentemente, a solução foi seca em rota- evaporador, e o resíduo dissolvido em 3 mL de hexano, transferido para um tubo com tampa rosca, seco em N₂ gasoso e filtrado em membranas milipore (Maryland, MD, EUA) de 45 mm de diâmetro, para ser injetado em HPLC (SALDANHA et al., 2006). O extrato foi congelado a -18°C, e ressuspensionado para 1mL no momento das injeções.

As condições cromatográficas utilizadas foram: HPLC-DAD-IR-Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com os detectores DAD (Waters 2998) e índice de refração (RID-Waters, 2414) ligados em série. Injetor “Rheodyne” com loop de 20 μ L, sistema terciário de solventes (Waters 600), forno a temperatura de 32°C e software (“Empower 2”). A coluna analítica utilizada foi: coluna Ciano Phenomenex (250 mm x 4.3mm x 5.0 μ m partícula em poros); fase móvel n-hexano/isopropanol (97:3), fluxo de 1.0 mL/min. O DAD em comprimento de ondas entre 200-400 nm, sendo os cromatogramas obtidos a 210 nm.

Os solventes grau HPLC foram filtrados através de sistema Millipore (Bedford, MA, EUA), 22mm, sob vácuo, e os detectores foram utilizados em série. Devido aos produtos de oxidação 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -Ep) e 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -Ep) não possuírem ligações π e, por isso, não apresentam características adequadas de absorção na luz UV, foram detectados apenas pelo índice de refração.

O colesterol e os demais padrões, incluindo o 19-hidroxicolesterol (19-OH); 20 α -hidroxicolesterol (20 α -OH); 22(S)-hidroxicolesterol (22(S)OH); 22(R)-hidroxicolesterol (22(R)-OH); 25-hidroxicolesterol (25-OH); 7-cetocolesterol (7-ceto); 7 β -hidroxicolesterol(7 β -OH), 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -Ep) e 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -Ep) foram adquiridos da Sigma (St. Luis, EUA). Os padrões 25(R)-hidroxicolesterol (25(R)-OH) e 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) foram obtidos da Steraloids (Wilton, NH, EUA). O grau de pureza

dos padrões variou entre 95% a 99%. Os solventes grau HPLC n-hexano 2-propanol foram obtidos da Tedia Mscience (Brasil) e os solventes grau analítico da Vetec (Merck, Brasil).

O colesterol e seus produtos de oxidação foram quantificados por curvas de calibração dos compostos individuais, sendo que as mesmas continham 7 pontos. Para o colesterol as concentrações variaram entre 0,1 a 1 mg/mL. Para os óxidos de colesterol as concentrações dos pontos foram entre 10 a 150 µg/mL. As curvas de linearidade, representados pelo valor R², estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Equação de linearidade dos padrões de óxidos de colesterol.

Padrões	Equação da reta	Linearidade
7 α -hidroxicolesterol	$y = 46.159,89615x + 51.667$	R ² = 0,99489
7 β -hidroxicolesterol	$y = 11.979,78490x + 12.260$	R ² = 0,99768
7-cetocolesterol	$y = 22.108,87339x - 25.559$	R ² = 0,99772
20 α -hidroxicolesterol	$y = 11.979,78490x + 12.260$	R ² = 0,99768
22(S)-hidroxicolesterol	$y = 4.763,81652x + 12.308$	R ² = 0,99254
22(R)-hidroxicolesterol	$y = 5.515,22957x - 9.095$	R ² = 0,99511
25-hidroxicolesterol	$y = 11.202,89405x + 20.403$	R ² = 0,99140
25(R)-hidroxicolesterol	$y = 4.559,75151x + 18.639$	R ² = 0,98828

4.8 Confirmação das estruturas e dos óxidos de colesterol por UPLC-APCI-MS

No sentido de confirmar as estruturas dos produtos de oxidação do colesterol presentes nas amostras de atuns, salmouras e óleos, as mesmas foram analisadas em espectrômetro de massas. As análises cromatográficas foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance “UPLC”, “Acquity chromatographer WATERS” acoplado a espectrômetro de massas TQD “Acquity mass spectrometer” (Micromass-Waters Manchester, Inglaterra), nas seguintes condições cromatográficas: coluna Ciano Phenomenex (250 mm x 4.3mm x 5.0 µm partícula em poros), fase móvel isocrática contendo hexano: iso-propanol (97:3), fluxo 1mL/min, temperatura do forno 32°C, volume de injeção 20 µL.

Para ionização das moléculas utilizou-se a fonte APCI-MS (ionização química por pressão atmosférica acoplado a espectrometria de massas) modo positivo, varredura de m/z 300-450, temperatura da fonte 150°C, temperatura do probe 350°C, descarga Corona 21.00(uA), Cone 30.00(V), Extrator 5.00(V), fluxo do gás do cone 20(L/Hr), fluxo do gás de desolvatação 500(L/Hr). Os principais íons foram determinados no modo SIM (monitoramento individual dos íons), a partir das massas apresentadas na tabela 3, de acordo com o mecanismo de fragmentação e a ordem de eluição dos compostos (SALDANHA et al., 2006).

Tabela 3: Intensidade Relativa dos principais íons de colesterol e óxidos de colesterol em UPLC-APCI-MS.

Componentes*	Intensidade relativa % (m/z)				
	367	385	369	401	403
Colesterol	100	-	-	-	-
20 α -hidroxicolesterol	100	95	10	-	-
5,6 α -hidroxicolesterol	50	100	-	-	20
5,6 β -hidroxicolesterol	25	100	-	-	10
22R-hidroxicolesterol	100	30	-	-	-
22S-hidroxicolesterol	100	50	-	-	-
25-hidroxicolesterol	100	20	-	-	-
25R-hidroxicolesterol	1	100	-	-	-
7-cetocolesterol	-	-	-	100	10
7 α -hidroxicolesterol	100	30	-	-	-
7 β -hidroxicolesterol	100	30	-	-	-

*Espectros de massas do colesterol e seus óxidos de acordo com os íons moleculares: 367, 369, 385, 401 e 403.

4.9 Análises Estatísticas

Os resultados de umidade, lipídeos totais, ácidos graxos, colesterol e óxidos de colesterol foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a nível de 95% de significância, utilizando o *software* Origin 8.0. Os resultados das triplicatas foram expressos por meio de médias seguidas dos desvios-padrões (DP). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de umidade nas amostras de atuns em conservas

Em relação à quantificação de umidade nas amostras de atuns em conservas, foram observados teores reduzidos (entre 24,60 e 27,13g/100g) nos atuns em salmoura, comparados aos atuns em óleo (entre 31,93 e 42,30g/100g) (Tabela 4 e Figura 10).

Dentre as conservas comercializadas em salmouras como líquido de cobertura, teores superiores foram observados na marca AGC, com uma média de $27,13 \pm 0,03$ g/100g, e menores na marca AQC, com $24,60 \pm 0,12$ g/100g. Já em relação às amostras de atuns em óleo, a maior média de umidade foi observada na marca APC ($51,33 \pm 0,29$ g/100g) e a menor na marca AGC ($31,93 \pm 0,02$ g/100g).

Tabela 4: Média (g/100 gramas) de umidade das amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais.

Marcas	AGC	APC	AQC
Atum em salmoura	$27,13 \pm 0,03^a$	$26,92 \pm 0,02^b$	$24,60 \pm 0,12^c$
Atum em óleo	$31,93 \pm 0,02^c$	$51,33 \pm 0,29^a$	$42,30 \pm 0,05^b$

^{abc.} Médias, em uma mesma linha, para cada marca de atum em conservas, seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tanto as amostras de atuns em conservas em salmoura como as conservas em óleo apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas concentrações de umidade. Esse fato pode ter influência direta através das características individuais das amostras dos peixes, e também pelos diferentes ingredientes utilizados nos líquidos de coberturas, designados nos rótulos das marcas comerciais de ambas as variedades de conservas (Tabela 5).

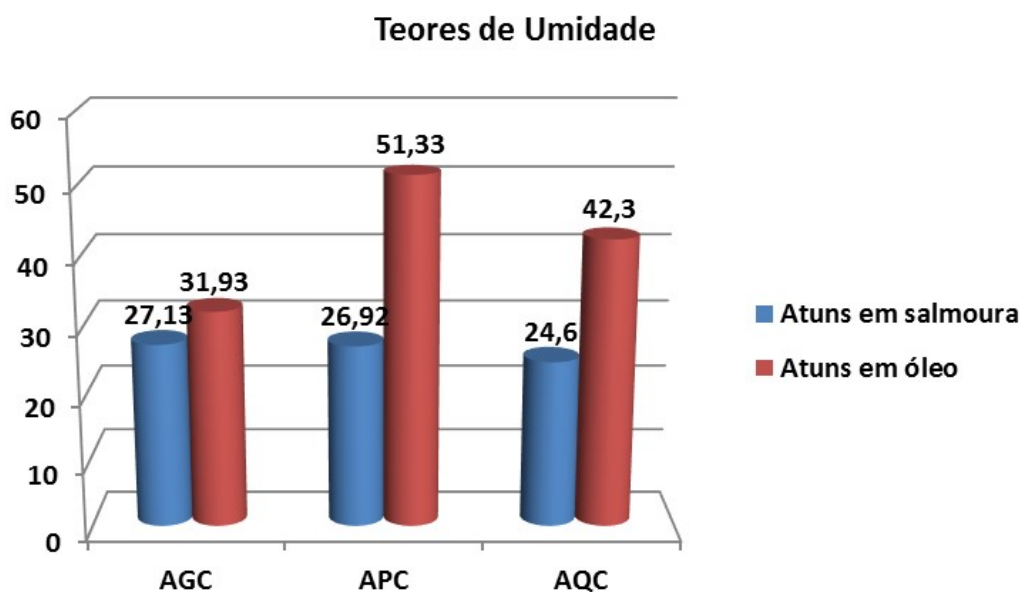


Figura 10: Concentrações de Umidade nas amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais e líquidos de coberturas.

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Conservas de Atuns e Bonitos (BRASIL, 2010), as conservas “em salmoura” ou “ao natural” devem apresentar em seu líquido de cobertura “uma salmoura fraca, adicionada ou não de substâncias aromáticas; este meio deve ser, no mínimo, 10% e, no máximo, 36% sobre o peso líquido declarado”. A Legislação também permite a elaboração de conservas de atuns com produtos vegetais, desde que aprovados pelo órgão competente. O caldo vegetal, se utilizado, não poderá exceder a 0,5% sobre o peso líquido declarado em atuns picados (ralados). Para os líquidos de coberturas nas conservas contendo óleo comestível, o mesmo deve apresentar percentual mínimo de 10% e máximo de 36% sobre o peso líquido declarado. Ainda segundo a Legislação, não é tolerável a presença de mais de 10% de água sobre o peso líquido declarado, exceto para o produto picado ou ralado (cuja tolerância é de, no máximo, 20% de água).

Os teores de umidade determinados nas conservas de atuns foram comparados com os dados da literatura, e diversos autores relataram que as mesmas podem variar entre 52-64g/100g, dependendo do binômio tempo x temperatura do processamento, do líquido de cobertura utilizado, além das características individuais dos pescados (GARCÍA-ARIAS et al., 1994; RASMUSSEN; MORRISSEY, 2007; STEPHEN et al., 2010; TACO, 2011; MOHAN et al. 2015).

Tabela 5: Ingredientes contidos nas amostras de atuns em conservas ralado em salmoura e em óleo.

Conservas de atuns	Ingredientes
<i>Em salmoura / AGC</i>	“Atum, água, sal e caldo vegetal”.
<i>Em salmoura / AQC</i>	“Atum, água, sal e extrato vegetal em pó (extratos de soja, cenoura e batata). Contém traços de soja. Pode conter traços de aipo, gergelim e leite/derivados”.
<i>Em salmoura / APC</i>	“Atum, água e sal”.
<i>Contendo óleo / AGC</i>	“Atum, óleo comestível e sal”.
<i>Contendo óleo / AQC</i>	“Atum, óleo de soja, água, sal e extrato vegetal em pó (extratos de soja, cenoura e batata). Contém traços de soja. Pode conter traços de aipo, gergelim e leite/derivados”.
<i>Contendo óleo / APC</i>	“Atum, óleo de soja e sal”.

*Fonte: Rótulos das marcas comerciais de atum ralado em óleo.

Os dados identificados na literatura estão próximos aos quantificados nas conservas em óleo AGC deste estudo (51,33g/100g). Contudo, considera-se que as concentrações salinas dos meios podem ter promovido, através do efeito osmótico, redução acentuada dos teores de umidade das conservas “em salmoura” (que variaram entre 24,60 a 27,13g/100g) tendo em vista a facilidade da saída de água do músculo desintegrado (ralado).

García-Arias et al. (1994) observaram as alterações nos teores de umidade em amostras de atuns após o enlatamento e esterilização durante os tempos de 55min e 90min, a 115°C. As amostras continham sal e óleo de soja em seu conteúdo e foram estocadas durante 1 e 3 anos, a temperatura ambiente. Os teores de umidade observados nos pescados *in natura* foram 70,0g/100g; contudo, após o processo térmico e estocagem, as amostras apresentaram alterações significativas, com destaque para as esterilizadas durante 55min e estocadas durante 3 anos, cuja concentração de umidade reduziu para 52,2g/100g. Segundo os autores,

os teores mais elevados de umidade (63,0g/100g) foram observados nas amostras esterilizadas durante 55min, e estocadas em tempo 0.

Rasmussen e Morrissey (2007) estudaram a composição química em amostras de atuns (*Thunnus alalunga*), enlatadas e submetidas ao tratamento térmico durante 75min a 117°C. Antes do processamento, as amostras apresentaram uma média de 63,9g/100g de umidade, e após o enlatamento os teores reduziram-se significativamente para 60,3g/100g.

Stephen et al. (2010) relataram uma média de 71,8g/100g na umidade dos atuns *in natura* e entre 60,0 a 60,2g/100g, nos atuns enlatados (em óleo), nos diferentes tempos e temperaturas de apertização (110°C/90 min; 115°C/70 min e 121°C/40 min).

De acordo com a TACO (2011), a média dos teores de umidade em atuns frescos é de 73,1g/100g, e em atuns enlatados em óleo é de 64,5g/100g.

Mohan et al. (2015) também verificaram que os teores de umidade reduziram após o processamento térmico de atuns, variando de 72,67g/100g nas amostras frescas, a 59,51g/100g nas amostras enlatadas em óleo de coco; 60,67g/100g nos atuns enlatados em óleo de girassol e 61,31g/100g nos atuns enlatados em óleo de amendoim (MOHAN et al., 2015).

Logo, os dados da literatura mostraram-se mais elevados aos identificados no presente estudo, que apresentaram teores extremamente reduzidos (entre 24,60±0,12 e 27,13±0,03), para os atuns processados em salmoura. Tal fato se deve, provavelmente, à perda de conteúdo aquoso durante o processamento térmico dos músculos desintegrados para os líquidos de coberturas compostos por salmouras. Em relação às amostras contendo óleos, esse fato não ocorreu, em que os teores de umidade podem ter sofrido influência dos cortes dos pescados e espécies de atuns utilizados para enlatamento, além da alimentação e época de captura (LUZIA et al., 2003; USYDUS et al., 2012).

5.2 Determinação de lipídeos totais dos atuns em conservas

Com relação aos teores de lipídeos totais determinados no presente estudo, os mesmos estão identificados na Tabela 6, e foram expressos em g/100gramas, em base seca.

Nas conservas em salmoura, teores mais elevados deste macronutriente foram identificados na amostra AGC (média: 5,59±0,18g/100g). Os teores inferiores foram obtidos na amostra AQC (4,21±0,18g/100g). Em relação às conservas de atuns em óleo, os maiores e menores conteúdos foram observados nas amostras APC (43,99±0,62g/100g) e AGC (23,70±0,04g/100g), respectivamente.

Tabela 6: Média (g/100gramas, base seca) de lipídeos totais das amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais.

Marcas	AGC	APC	AQC
Atuns em “salmoura”	5,59 ± 0,18 ^a	4,73 ± 0,42 ^{ab}	4,21 ± 0,18 ^b
Atuns em “óleo”	23,70 ± 0,04 ^c	43,99 ± 0,62 ^a	35,63 ± 0,03 ^b

^{abc}. Médias, em uma mesma linha, para cada marca de atum em conservas, seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Diferenças significativas (p<0,05) foram observadas nos teores de lipídeos totais das conservas de atuns em óleo, das 3 marcas comerciais avaliadas. Para as amostras de atuns em salmoura, diferenças significativas foram observadas entre as marcas comerciais AGC e AQC

($5,59 \pm 0,18$ g/100g e $4,21 \pm 0,18$ g/100g, respectivamente). A amostra em salmoura APC (média: $4,73 \pm 0,42$ g/100 gramas) não apresentou diferenças significativas em relação às demais.

As concentrações lipídicas das conservas “em salmoura” (entre 4,21 e 5,59g/100g) foram semelhantes aos identificados na literatura em amostras de atuns frescos e cozidos, tendo em vista a não incorporação lipídeos proveniente de óleos vegetais nos músculos dos pescados. Aubourg et al. (1996) observaram uma média de lipídios, em base seca, entre 7,16g/100g em atuns frescos, e 6,61g/100g em atuns cozidos, respectivamente. Já Aubourg et al. (1997) obtiveram uma média de 6,50g/100g nos teores de lipídeos nos músculos de atuns frescos.

Contudo, as conservas em óleo apresentaram valores elevados nas concentrações lipídicas (entre 23,70 a 43,99g/100g) comparados aos dados obtidos na literatura, apesar dos demais autores também relatarem a influência dos óleos incorporados às amostras, elevando os conteúdos de lipídeos totais em conservas de atuns (Figura 11).

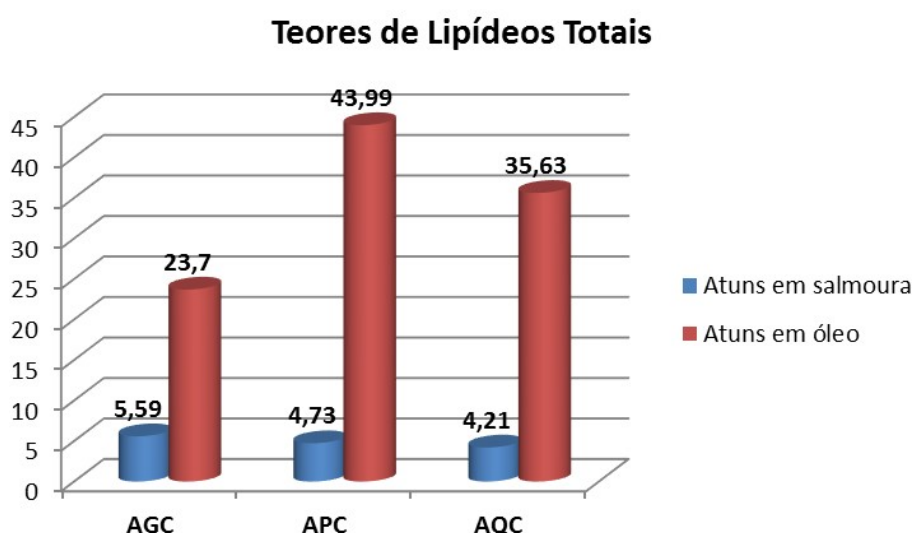


Figura 11: Concentrações de Lipídeos Totais das amostras de atuns em conservas nas diferentes marcas comerciais e em ambos líquidos de coberturas.

García-Arias et al. (1994) relataram que as amostras de atuns frescos apresentaram uma média de 6,4g/100g desse macronutriente em base seca, elevando-se significativamente (14,1 a 24,3g/100g) durante o enlatamento com óleo de soja, em diferentes tempos de esterilização e estocagem (com destaque durante estocagem de 1 ano). Segundo os autores, as amostras absorveram concentrações lipídicas do líquido de cobertura. Tal fato também foi observado por Stephen et al. (2010), que verificaram proporções de 9,5g/100g de lipídeos em atuns frescos e entre 18,6 a 19,5g/100g nos atuns enlatados com óleo vegetal, teores próximos aos valores observados no presente estudo, nas conservas da marca comercial AGC (23,70g/100g).

Mol et al. (2008) identificaram uma média de 2,6g/100g (em base seca) nas concentrações lipídicas de atuns frescos. Após o enlatamento dos atuns contendo salmoura como líquido de cobertura, os mesmos não apresentaram diferenças significativas (2,4g/100g de lipídeos). Quando comparados aos enlatados em óleo vegetal, os autores observaram elevação acentuada nos teores de lipídeos do produto final (13,5g/100g).

Mohan et al. (2015) identificaram que o processo de enlatamento de atuns com líquidos de coberturas contendo óleos vegetais resultou na elevação da concentração lipídica (de 1,8 para 8,05-8,97g/100g, nas amostras frescas e em conservas, respectivamente).

Logo, observa-se que maiores concentrações foram obtidas nas conservas de atuns em óleo, pela absorção de lipídeos provenientes dos líquidos de coberturas.

Contudo, as principais alterações nas concentrações e perfis lipídicos, também responsáveis pelas diferenças significativas identificadas nas amostras do presente estudo, ocorreram devido às características individuais dos pescados, como a alimentação, época do ano e local da pesca (BRAGAGNOLO, 1997; LUZIA et al., 2003; USYDUS et al., 2012; FERNANDES et al., 2014), além das possíveis espécies que podem ter sido utilizadas no enlatamento (ex.: *Thunnus alalunga* e *Thunnus albacares*, etc.).

5.3 Determinação de ácidos graxos das conservas em “salmoura”

5.3.1 Amostras de atuns em “salmoura”

Em relação aos perfis de ácidos graxos das amostras, a Tabela 7 apresenta os resultados, identificados a partir de seus ésteres metílicos, nos músculos dos atuns e seus respectivos líquidos de coberturas de ambas as variedades. Os ácidos graxos foram determinados em g de ácidos graxos/100 gramas de óleo, em base seca.

As concentrações totais dos ácidos graxos obtidos nos atuns em conservas em salmoura foram observadas na seguinte ordem: ácidos graxos saturados > ácidos graxos monoinsaturados > ácidos graxos poliinsaturados (Figura 12), com teores entre 54,66 a 59,84g/100g de AGS, entre 24,25 a 26,08g/100g de AGMI e entre 9,13 a 16,20g/100g de AGPI. Tais dados mostraram-se próximos aos identificados por Loiko (2011), em conservas de atuns contendo molho de tomates como líquido de cobertura (66,18g/100g de AGS, 29,97g/100g de AGMI e 13,95g/100g de AGPI).

Dentre os ácidos graxos saturados quantificados nas conservas de atuns em salmoura, destacam-se o C16:0 (entre 32,81 a 36,03g/100g) e o C18:0 (entre 10,67 a 12,84g/100g). Em relação aos AGMI, destaca-se o C18:1 ω 9cis (de 15,37 a 17,15g/100g) e, dentre os AGPI, maiores concentrações foram identificadas no ácido graxo C22:6 ω 3 (DHA) (entre 4,44 a 8,89g/100g).

Perfis de ácidos graxos: atuns em salmoura

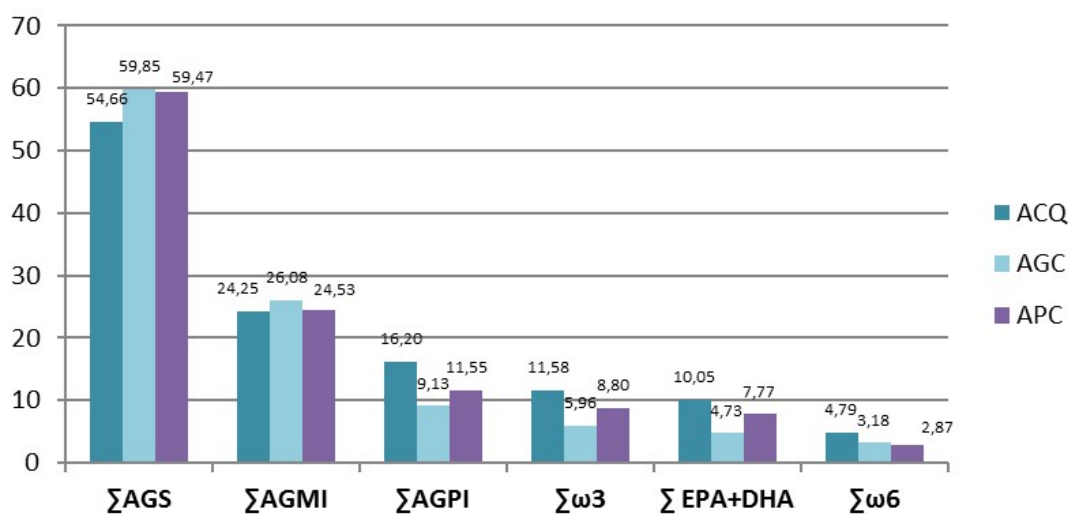


Figura 12: Concentrações de ácidos graxos dos atuns em conservas contendo “salmoura” como líquido de cobertura.

Tabela 7: Resultados de ácidos graxos dos atuns em conservas e respectivos líquidos de coberturas (g/100 gramas de lipídeos, base seca).

ÁCIDOS GRAXOS g/100g	Conservas em salmoura						Conservas em óleo					
	AQC		AGC		APC		AQC		AGC		APC	
	Atum	Líquido	Atum	Líquido	Atum	Líquido	Atum	Líquido	Atum	Líquido	Atum	Líquido
Saturados												
C6:0	ND	ND	ND	0,02 ± 0,01 ^B	ND	0,05 ± 0,00 ^A	ND	ND	0,02 ± 0,00 ^a	ND	0,01 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,06 ^A
C8:0	0,01 ± 0,00 ^c	0,01 ± 0,01 ^A	0,02 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^A	0,03 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^A	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^A	ND	0,04 ± 0,03 ^A	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,02 ^A
C10:0	0,01 ± 0,00 ^a	ND	0,01 ± 0,00 ^a	ND	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^A	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	0,08 ± 0,00 ^c	0,05 ± 0,00 ^C	0,16 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,00 ^B	0,11 ± 0,00 ^b	0,14 ± 0,00 ^A	0,01 ± 0,00 ^a	ND	0,01 ± 0,00 ^a	ND	ND	ND
C14:0	4,46 ± 0,03 ^b	3,71 ± 0,06 ^C	6,60 ± 0,05 ^a	4,85 ± 0,01 ^B	4,43 ± 0,07 ^b	5,35 ± 0,04 ^A	0,24 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,01 ^B	0,58 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,01 ^A	0,19 ± 0,01 ^c	0,11 ± 0,00 ^B
C15:0	1,28 ± 0,01 ^c	1,05 ± 0,01 ^C	1,56 ± 0,01 ^a	1,15 ± 0,00 ^B	1,44 ± 0,02 ^b	1,43 ± 0,01 ^A	0,07 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^B	0,18 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^A	0,05 ± 0,00 ^c	0,02 ± 0,00 ^B
C16:0	32,81 ± 0,23 ^b	27,57 ± 0,13 ^C	36,03 ± 0,26 ^a	29,66 ± 0,23 ^B	35,76 ± 0,89 ^a	38,78 ± 0,28 ^A	12,10 ± 0,16 ^b	11,19 ± 0,3 ^A	13,86 ± 0,10 ^a	12,22 ± 0,74 ^A	12,10 ± 0,39 ^b	11,59 ± 0,21 ^A
C17:0	1,72 ± 0,01 ^b	1,29 ± 0,02 ^B	1,97 ± 0,01 ^a	1,36 ± 0,02 ^B	1,99 ± 0,00 ^a	1,99 ± 0,01 ^A	0,26 ± 0,04 ^b	0,09 ± 0,11 ^A	0,36 ± 0,00 ^a	0,15 ± 0,04 ^A	0,18 ± 0,10 ^c	0,11 ± 0,03 ^A
C18:0	12,34 ± 0,09 ^a	8,62 ± 0,05 ^B	10,67 ± 0,08 ^a	8,29 ± 0,05 ^C	12,84 ± 0,94 ^a	12,04 ± 0,09 ^A	3,89 ± 0,16 ^b	3,36 ± 0,07 ^B	5,49 ± 0,04 ^a	4,54 ± 0,03 ^A	3,77 ± 0,10 ^b	3,47 ± 0,02 ^B
C20:0	0,52 ± 0,00 ^b	0,55 ± 0,01 ^B	0,58 ± 0,00 ^a	0,52 ± 0,00 ^C	0,49 ± 0,01 ^c	0,65 ± 0,00 ^A	0,33 ± 0,01 ^b	0,32 ± 0,00 ^B	0,43 ± 0,00 ^a	0,39 ± 0,03 ^A	0,34 ± 0,02 ^b	0,33 ± 0,00 ^B
C21:0	0,32 ± 0,00 ^b	0,34 ± 0,00 ^A	0,33 ± 0,00 ^b	0,34 ± 0,00 ^A	0,37 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,00 ^B	0,04 ± 0,02 ^a	0,05 ± 0,00 ^B	0,11 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,00 ^A	ND	0,06 ± 0,00 ^{AB}
C22:0	0,08 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,00 ^B	ND	0,11 ± 0,00 ^A	0,07 ± 0,00 ^b	0,05 ± 0,00 ^C	0,01 ± 0,01 ^a	ND	0,01 ± 0,00 ^a	ND	ND	0,01 ± 0,00 ^A
C23:0	0,02 ± 0,00 ^a	0,14 ± 0,20 ^A	ND	0,15 ± 0,17 ^A	0,02 ± 0,00 ^a	ND	ND	ND	0,01 ± 0,00 ^a	ND	ND	ND
C24:0	1,02 ± 0,01 ^b	4,02 ± 0,11 ^A	1,92 ± 0,01 ^a	3,27 ± 0,13 ^B	1,91 ± 0,15 ^a	1,65 ± 0,01 ^C	0,31 ± 0,03 ^b	0,03 ± 0,02 ^A	0,78 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,10 ^A	0,20 ± 0,04 ^b	0,03 ± 0,02 ^A
ΣAGS	54,66 ± 0,39 ^b	47,44 ± 0,14 ^A	59,85 ± 0,43 ^a	49,80 ± 0,13 ^A	59,47 ± 1,59 ^a	62,31 ± 0,44 ^A	17,28 ± 0,49 ^b	15,20 ± 0,35 ^A	21,82 ± 0,16 ^a	15,44 ± 2,29 ^A	16,74 ± 0,72 ^b	14,06 ± 2,34 ^A
Monoinsaturados												
C14:1 cis	0,06 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,05 ^A	ND	0,08 ± 0,00 ^A	ND	0,09 ± 0,00 ^A	ND	ND	0,01 ± 0,00 ^a	ND	ND	ND
C15:1	0,02 ± 0,00 ^a	ND	ND	0,01 ± 0,01 ^B	0,02 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^A	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:1 cis	4,17 ± 0,03 ^b	4,15 ± 0,07 ^B	5,34 ± 0,04 ^a	4,67 ± 0,01 ^A	3,60 ± 0,11 ^c	4,04 ± 0,03 ^B	0,29 ± 0,02 ^b	0,11 ± 0,00 ^B	0,73 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,00 ^A	0,20 ± 0,01 ^c	0,11 ± 0,00 ^B
C17:1	0,59 ± 0,00 ^b	0,70 ± 0,01 ^A	0,90 ± 0,01 ^a	0,43 ± 0,34 ^A	0,73 ± 0,07 ^b	0,17 ± 0,00 ^A	0,12 ± 0,03 ^a	0,00 ± 0,01 ^A	0,14 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,01 ^A	0,08 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,04 ^A
C18:1 ω6 t	0,17 ± 0,00 ^a	0,11 ± 0,15 ^A	0,01 ± 0,00 ^c	0,12 ± 0,14 ^A	0,12 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^A	0,01 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,03 ^A	ND	0,12 ± 0,09 ^A	0,05 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,08 ^A
C18:1 ω9 cis	15,37 ± 0,11 ^b	20,43 ± 0,33 ^A	17,15 ± 0,12 ^a	20,26 ± 0,15 ^A	17,01 ± 0,42 ^a	15,48 ± 0,11 ^B	24,07 ± 0,61 ^{ab}	25,53 ± 0,05 ^A	21,76 ± 0,15 ^b	23,95 ± 1,48 ^A	25,96 ± 1,13 ^a	25,96 ± 0,08 ^A
C20:1 ω9	2,32 ± 0,02 ^a	2,17 ± 0,02 ^B	1,55 ± 0,01 ^b	2,71 ± 0,03 ^A	1,58 ± 0,05 ^b	1,44 ± 0,01 ^C	5,08 ± 0,16 ^a	5,22 ± 0,10 ^A	4,44 ± 0,03 ^a	5,07 ± 0,14 ^A	4,92 ± 0,40 ^a	5,26 ± 0,35 ^A
C22:1 ω9	0,33 ± 0,00 ^a	0,37 ± 0,01 ^C	0,25 ± 0,00 ^b	0,44 ± 0,00 ^B	0,33 ± 0,02 ^a	0,72 ± 0,01 ^A	0,01 ± 0,01	ND	0,08 ± 0,00	ND	ND	ND
C24:1 ω9	1,21 ± 0,01 ^b	0,90 ± 0,01 ^B	0,88 ± 0,01 ^c	1,10 ± 0,01 ^A	1,39 ± 0,03 ^a	0,86 ± 0,01 ^C	0,05 ± 0,02 ^a	0,01 ± 0,00 ^A	0,19 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^A	ND	0,01 ± 0,01 ^A
ΣAGMI	24,25 ± 0,17 ^a	28,87 ± 0,85 ^A	26,08 ± 0,19 ^a	29,81 ± 0,67 ^A	24,53 ± 1,12 ^a	22,84 ± 0,16 ^B	29,63 ± 0,51 ^a	30,93 ± 0,07 ^A	27,34 ± 0,19 ^b	29,44 ± 1,41 ^A	31,22 ± 0,73 ^a	31,46 ± 0,31 ^A

Polinsaturados												
C18:2 ω6 t	0,56 ± 0,00 ^a	0,38 ± 0,00 ^A	0,48 ± 0,00 ^c	0,34 ± 0,00 ^B	0,51 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^C	0,01 ± 0,01 ^b	ND	0,07 ± 0,00 ^a	ND	0,01 ± 0,01 ^b	ND
C18:2 ω6 cis	1,72 ± 0,01 ^a	1,87 ± 0,00 ^B	1,73 ± 0,01 ^a	1,68 ± 0,22 ^B	1,62 ± 0,33 ^a	3,48 ± 0,02 ^A	46,27 ± 1,39 ^a	48,58 ± 0,39 ^A	41,24 ± 0,29 ^b	49,61 ± 0,97 ^A	48,69 ± 1,38 ^a	49,17 ± 1,84 ^A
C18:3 ω6	0,06 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,01 ^A	0,05 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,04 ^A	0,04 ± 0,00 ^b	0,03 ± 0,00 ^A	0,10 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,00 ^A	0,29 ± 0,00 ^a	0,19 ± 0,21 ^A	0,21 ± 0,00 ^a	0,21 ± 0,01 ^A
C18:3 ω3	0,16 ± 0,00 ^a	0,11 ± 0,00 ^B	0,18 ± 0,00 ^a	0,14 ± 0,00 ^A	0,11 ± 0,02 ^b	0,14 ± 0,00 ^A	0,02 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^A	0,05 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^A	ND	0,03 ± 0,00 ^A
C20:2 ω6	0,29 ± 0,00 ^a	0,23 ± 0,00 ^C	0,32 ± 0,00 ^a	0,27 ± 0,00 ^B	0,28 ± 0,03 ^a	0,39 ± 0,00 ^A	0,41 ± 0,01 ^a	0,42 ± 0,00 ^A	0,40 ± 0,00 ^a	0,43 ± 0,03 ^A	0,43 ± 0,02 ^a	0,43 ± 0,01 ^A
C20:3 ω6	1,85 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^B	0,46 ± 0,00 ^b	1,75 ± 0,02 ^A	0,14 ± 0,01 ^c	0,28 ± 0,00 ^B	0,11 ± 0,03 ^a	ND	0,06 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^A	ND	0,01 ± 0,0 ^A
C20:3 ω3	1,37 ± 0,01 ^a	1,26 ± 0,02 ^A	1,06 ± 0,01 ^{ab}	1,06 ± 0,03 ^B	0,92 ± 0,17 ^b	0,15 ± 0,00 ^C	0,16 ± 0,04 ^b	0,02 ± 0,00 ^B	0,27 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,01 ^A	ND	0,01 ± 0,01 ^B
C20:4 ω6	0,13 ± 0,00 ^b	0,09 ± 0,00 ^A	0,14 ± 0,00 ^{ab}	0,09 ± 0,01 ^A	0,15 ± 0,01 ^a	ND	0,03 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,05 ^A	0,06 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^A	ND	0,03 ± 0,02 ^A
C20:5 ω3 (EPA)	1,17 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,00 ^B	0,29 ± 0,00 ^c	0,20 ± 0,01 ^B	0,34 ± 0,00 ^b	0,35 ± 0,00 ^A	0,18 ± 0,00 ^a	0,11 ± 0,06 ^A	0,21 ± 0,00 ^a	0,10 ± 0,14 ^A	0,09 ± 0,02 ^a	0,12 ± 0,07 ^A
C22:6 ω3 (DHA)	8,89 ± 0,06 ^a	14,98 ± 0,51 ^A	4,44 ± 0,03 ^c	10,48 ± 0,37 ^B	7,43 ± 0,60 ^b	5,11 ± 0,04 ^C	1,54 ± 0,25 ^b	0,12 ± 0,07 ^A	3,40 ± 0,02 ^a	0,31 ± 0,44 ^A	0,49 ± 0,16 ^c	0,11 ± 0,09 ^A
ΣAGPI	16,20 ± 0,12 ^a	19,47 ± 0,54 ^A	9,13 ± 0,06 ^c	16,04 ± 0,55 ^B	11,55 ± 0,45 ^b	9,94 ± 0,07 ^C	48,80 ± 0,97 ^a	49,55 ± 0,26 ^A	46,06 ± 0,33 ^a	50,80 ± 0,92 ^A	49,92 ± 1,67 ^a	50,13 ± 2,04 ^A
Σω3	11,58 ± 0,08 ^a	16,58 ± 0,54 ^A	5,96 ± 0,04 ^c	11,87 ± 0,38 ^B	8,80 ± 0,78 ^b	5,75 ± 0,04 ^C	1,91 ± 0,32 ^b	0,28 ± 0,13 ^A	3,93 ± 0,03 ^a	0,50 ± 0,30 ^A	0,59 ± 0,23 ^c	0,27 ± 0,17 ^A
Σω6	4,79 ± 0,03 ^a	3,00 ± 0,15 ^B	3,18 ± 0,02 ^b	4,28 ± 0,02 ^A	2,87 ± 0,32 ^b	4,21 ± 0,03 ^A	46,90 ± 1,31 ^a	49,33 ± 0,43 ^A	42,13 ± 0,30 ^b	50,42 ± 1,30 ^A	49,39 ± 1,39 ^a	49,95 ± 1,79 ^A
ΣEPA+DHA	10,05 ± 0,07 ^a	15,20 ± 0,51 ^A	4,73 ± 0,03 ^c	10,67 ± 0,36 ^B	7,77 ± 0,6 ^b	5,46 ± 0,04 ^C	1,73 ± 0,25 ^b	0,23 ± 0,13 ^A	3,61 ± 0,03 ^a	0,41 ± 0,30 ^A	0,59 ± 0,23 ^c	0,23 ± 0,16 ^A
ω3/ω6	2,42	-	1,88	-	3,10	-	0,04	-	0,09	-	0,01	-
ω6/ω3	0,41	-	0,53	-	0,33	-	25,02	-	10,71	-	95,36	-
ΣTrans	0,74 ± 0,01 ^a	0,48 ± 0,15 ^A	0,49 ± 0,00 ^c	0,46 ± 0,14 ^A	0,64 ± 0,02 ^b	0,04 ± 0,00 ^A	0,02 ± 0,00 ^c	0,06 ± 0,04 ^A	0,07 ± 0,00 ^a	0,12 ± 0,09 ^A	0,06 ± 0,00 ^b	0,09 ± 0,09 ^A

^{abc}. Médias em uma mesma linha, para cada variedade de atuns em conservas, seguidas de letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); médias em uma mesma linha, para cada variedade de líquidos de coberturas, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Concentrações elevadas de ácidos graxos $\omega 3$ foram observadas na amostra AQC ($11,58 \pm 0,07 \text{g}/100\text{g}$), com destaque para a soma dos ácidos graxos EPA e DHA ($10,05 \pm 0,07 \text{g}/100\text{g}$). Menores conteúdos de ácidos graxos $\omega 3$ ($5,96 \pm 0,04 \text{g}/100\text{g}$) além da soma de EPA e DHA ($4,73 \pm 0,03 \text{g}/100\text{g}$) foram observados na amostra AGC.

Teores superiores de ácidos graxos da família $\omega 6$ foram destacados na amostra AQC ($4,79 \pm 0,03 \text{g}/100\text{g}$), não sendo observadas diferenças significativas entre as demais marcas (de 2,87 a 3,18 $\text{g}/100\text{g}$). Os maiores e os menores teores de AGPI foram observadas na amostra AQC e AGC, com valores de $16,20 \pm 0,12 \text{g}/100\text{g}$ e $9,13 \pm 0,06 \text{g}/100\text{g}$, respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas nos teores totais de ácidos graxos saturados entre as amostras AGC e APC, que se destacaram com médias entre 59,47 a 59,85 $\text{g}/100\text{g}$. Diferenças significativas foram identificadas nas concentrações de ácidos graxos monoinsaturados nas 3 marcas de atuns em salmoura (médias entre 24,25 a 26,08 $\text{g}/100\text{g}$).

Siriamornpun et al. (2007) relataram a influência do aquecimento e a presença do sal em conservas de atuns em salmoura, além da pressão exercida durante os processos de enlatamento, como fatores que induzem a oxidação lipídica. Os autores estudaram o efeito do tempo de armazenamento (0-12 meses) nos perfis de ácidos graxos dos atuns e observaram que as concentrações de AGS aumentaram de 26,91 para 34,66 $\text{g}/100\text{g}$, enquanto os teores de AGPI diminuíram de 59,21 para 49,65 $\text{g}/100\text{g}$, $\omega 3$ de 46,84 para 37,88 $\text{g}/100\text{g}$ e $\omega 6$ de 12,37 para 11,78 $\text{g}/100\text{g}$, nos tempos 0 e 12 meses, respectivamente. Proporções de ácidos graxos $\omega 3/\omega 6$ reduziram de 3,80 a 3,22 nos tempos 0 e após 12 meses, respectivamente. Em relação às proporções entre os ácidos graxos $\omega 3/\omega 6$, resultados mais elevados foram obtidos aos valores quantificados nos atuns em salmouras deste estudo (entre 1,88 e 3,10).

Aubourg et al. (1996) identificaram concentrações de ácidos graxos $\omega 3/\omega 6$ entre 4,4 e 8,1 em diferentes espécies de atuns cozidos com vapor de água, em que os autores identificaram elevadas concentrações de ácidos graxos da série $\omega 3$, como EPA e DHA.

Ingestões elevadas na proporção $\omega 3/\omega 6$ indicam boas fontes lipídicas do pescado, prevenindo o desbalanceamento nos ácidos graxos do organismo que contribuem com disfunções fisiológicas (SIMOPOULOS 2008).

O aumento nas concentrações de $\omega 6$ leva à oxidação do LDL, agregação plaquetária e interfere na incorporação de EPA na membrana fosfolipídica. Já a elevada ingestão de ácidos graxos $\omega 3$, em especial EPA e DHA, pode reduzir a formação de ácido araquidônico (C20:4, $\omega 6$) nos lipídeos dos tecidos e, conseqüentemente, a redução da ação anti-inflamatória e agregação plaquetária (SIMOPOULOS, 2008). Os ácidos graxos EPA e DHA apresentam diferentes efeitos nas diversas funções nos leucócitos, secreção insulínica e células endoteliais. Essas diferenças são associadas com seus efeitos nas propriedades físico-químicas das membranas, sinalização intracelular e expressão do gene (SIMOPOULOS, 2006; GORJÃO, 2009).

5.3.2 Líquidos de coberturas contendo “salmoura”

Assim como os músculos dos atuns, as concentrações de ácidos graxos quantificados nos líquidos de cobertura das salmouras apresentaram a seguinte ordem: ácidos graxos saturados > ácidos graxos monoinsaturados > ácidos graxos poliinsaturados (Figura 13). Elevadas concentrações de AGS (entre 47,44 a 62,31 $\text{g}/100\text{g}$) foram destacados pela presença dos ácidos graxos C16:0 (entre 29,66 a 38,78 $\text{g}/100\text{g}$) e C18:0 (entre 8,29 a 12,04 $\text{g}/100\text{g}$). Concentrações superiores de AGMI (entre 22,84 a 29,81 $\text{g}/100\text{g}$) foram observadas, com

prevalência do ácido graxo C18:1 ω 9 (entre 15,45 a 20,43g/100g). Dentre os AGPI (de 9,94 a 19,47g/100g), destaca-se o DHA (C22:6 ω 3) (entre 5,11 a 14,98g/100g), com diferenças significativas entre as salmouras.

Elevados teores de AGS se devem pela migração de de ácidos graxos dos pescados, com destaque para o C16:0. A amostra APC apresentou os teores mais elevados de AGS (62,31 \pm 0,44 g/100g), além das menores concentrações de AGMI (22,84 \pm 0,16g/100g) dentre as amostras analisadas.

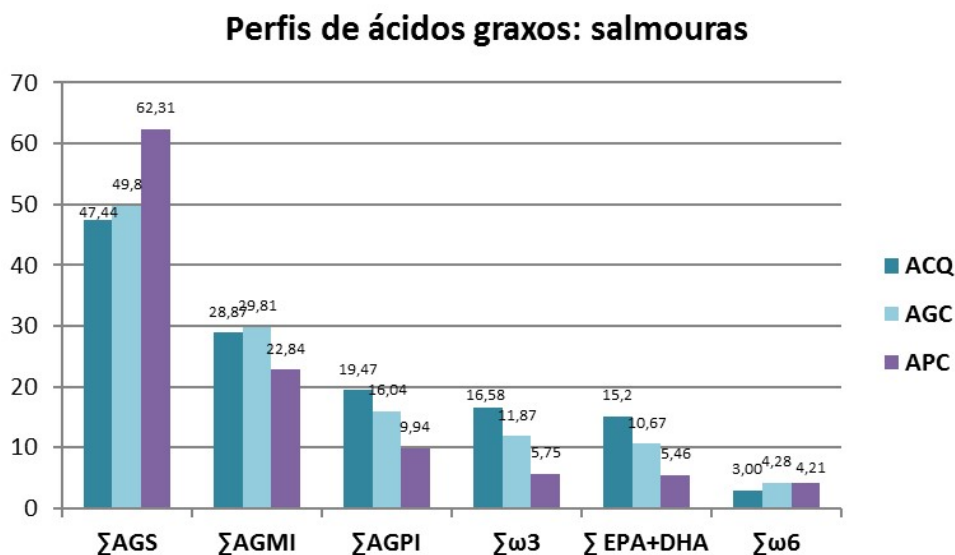


Figura 13: Concentrações de ácidos graxos dos líquidos contendo “salmoura”.

Diferenças significativas foram observadas nos teores de AGPI nas salmouras das 3 marcas comerciais, com menores concentrações na amostra APC (9,94 \pm 0,07g/100g) e maiores na AQC (19,47 \pm 0,54 g/100g). Além disso, concentrações superiores de ácidos graxos ω 3 (16,58 \pm 0,54g/100g) foram quantificadas nas salmouras da marca AQC, em especial EPA + DHA (15,20 \pm 0,51g/100g), obviamente oriundos dos pescados. Os teores mais reduzidos de ω 3 foram obtidos na marca APC (5,75 \pm 0,04g/100g), além da soma dos ácidos graxos poliinsaturados EPA + DHA (5,46 \pm 0,04g/100g).

De acordo com Gonçalves (2011), a maior parte da umidade do pescado está envolvida na estrutura miofibrilar e do tecido conjuntivo, cuja estrutura pode se romper facilmente pela sua constituição em actina/miosina (proteínas miofibrilares) em detrimento a colágeno e elastina (proteínas do estroma). Dessa forma, durante o preparo das conservas raladas, e conseqüente processamento térmico, as fibras musculares são facilmente rompidas. Através deste processo, os lipídeos, principalmente os que contêm ácidos graxos insaturados, que tem menor ponto de fusão, liquefazem-se e migram para os líquidos de cobertura. Entretanto, devido as diferenças de viscosidade entre os meios em salmoura e em óleo, os ácidos graxos poliinsaturados (em especial EPA e DHA) e até mesmo os ácidos graxos saturados, que apresentam maior ponto de fusão, migram e se dispersam mais facilmente para a salmoura. Isso pode explicar os resultados obtidos, cujas concentrações de ácidos graxos foram elevadas nas amostras de salmouras, indicando a interação entre os componentes dos músculos e esse tipo de líquido de cobertura.

5.4 Determinação de ácidos graxos das conservas em “óleo”

5.4.1 Amostras de atuns em “óleo”

Em relação às amostras de atuns em conservas de óleo, as concentrações foram identificadas na seguinte ordem: ácidos graxos poliinsaturados > ácidos graxos monoinsaturados > ácidos graxos saturados (Figura 14). Destaque foi dado para os elevados conteúdos de AGPI (entre 46,06 a 49,92g/100g), nas 3 marcas comerciais (sem diferenças significativas), além das reduzidas concentrações de ácidos graxos da série $\omega 3$ (entre 0,59 a 3,93g/100g). Em relação aos AGPI, destaca-se o ácido linoléico (C18:2, $\omega 6$), variando de 41,24 a 48,69g/100g.

Os resultados foram comparados aos da literatura, e se mostraram similares aos identificados por Loiko (2011) em amostras de atuns em conservas em óleo e em molho de tomates como líquidos de coberturas. O autor também comparou 3 marcas comerciais em ambas variedades de conservas, e identificou concentrações de AGPI variando entre 52,86 a 54,74g/100g, em atuns em óleo, e entre 48,44 a 52,91g/100g em atuns contendo molho de tomates. As concentrações do ácido linoléico (C18:2, $\omega 6$) variaram de 43,81 a 48,87g/100g nos atuns em óleo e de 40,18 a 43,85g/100g em duas marcas de atuns em molho de tomates, similares ao do presente estudo.

Pode-se considerar que ocorreu absorção lipídica dos óleos vegetais durante a apertização, através do ambiente apolar promovido pelos líquidos de coberturas e pela elevada superfície de contato das amostras, fato que promoveu alterações nos perfis lipídicos dos atuns. Essas alterações nas concentrações de ácidos graxos nos atuns em conservas (figura 14) foram evidenciadas pelos elevados teores de AGPI, em especial os da série $\omega 6$ (entre 42,14 a 49,39g/100g), a exemplo do ácido linoleico.

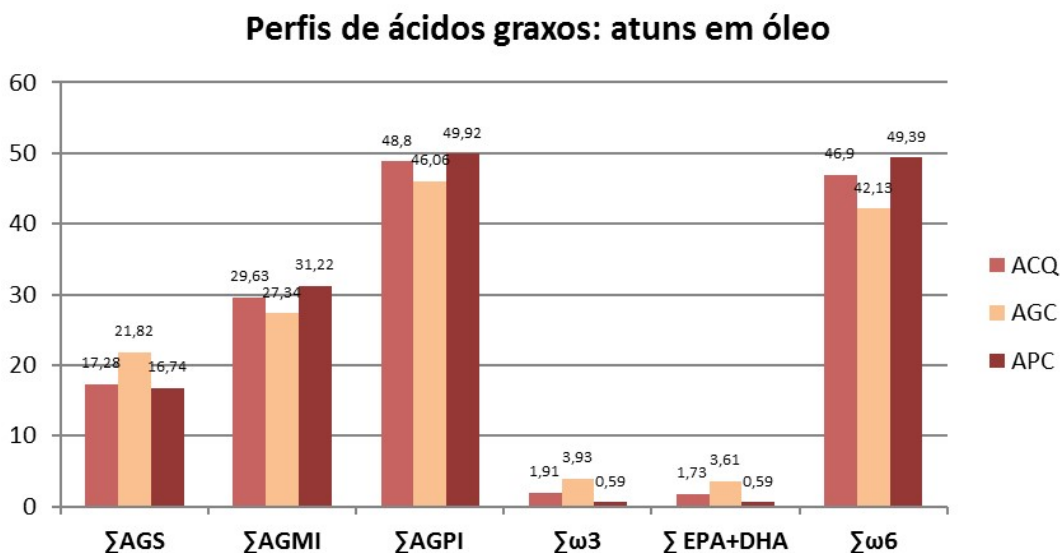


Figura 14: Concentrações de ácidos graxos nas amostras de atuns em “óleo”.

Teores superiores de ácidos graxos da família $\omega 6$ foram identificados na amostra APC (49,39±1,39g/100g), sendo observados ainda na referida amostra, os menores teores de ácidos graxos da série $\omega 3$ (0,59±0,23g/100g), de AGS (16,74±0,72g/100g), e concentrações

superiores de AGMI ($31,22 \pm 0,73$ g/100g), quando comparadas as demais amostras de atuns em conservas em óleo.

Já concentrações inferiores de ácidos graxos monoinsaturados ($27,34 \pm 0,19$ g/100g) e ácidos graxos poliinsaturados ($46,06 \pm 0,33$ g/100g), bem como os teores superiores de ácidos graxos saturados ($21,82 \pm 0,16$ g/100g) foram observadas na amostra AGC. Também foram observadas as maiores concentrações de ácidos graxos da série $\omega 3$ ($3,93 \pm 0,03$ g/100g), em especial EPA + DHA ($3,61 \pm 0,03$ g/100g), ácidos graxos naturalmente presentes em pescados cuja ênfase está no seu potencial efeito anti-inflamatório (CANDELA et al, 2011; PITTAWAY et al., 2015).

Loiko (2011) identificou concentrações de ácidos graxos $\omega 6$ entre 44,11 e 47,79g/100g em conservas de atuns em óleo e entre 40,23 e 44,15g/100g em atuns em molho de tomates, respectivamente, estado próximas às identificadas no presente estudo. Entretanto, concentrações de $\omega 3$ variaram entre 6,28 e 8,74g/100g e entre 8,21 e 13,21g/100g nos atuns contendo óleo vegetal e em molho de tomates como líquidos de coberturas, respectivamente, em que as concentrações se mostraram mais elevadas às determinadas no presente estudo (entre 0,59 a 3,93g/100g).

Stephen et al. (2010) identificaram concentrações de 65,2g/100g de AGPI, com 40,1g/100g nas concentrações de $\omega 6$ em conservas de atuns enlatados a 121°C por 40min. Embora os autores identificaram uma média de 10,65g/100g nas concentrações de $\omega 3$, o ácido graxo principal desse grupo foi o α -linolênico (C18:3), que está presente no líquido de cobertura da amostra em óleo. Além disso, os autores não identificaram concentrações significativas de ácidos graxos EPA e DHA nestas amostras.

A soma nos teores de ácidos graxos EPA+DHA do presente estudo variaram entre 0,59 e 3,61g/100g, em que a maior concentração foi identificada na amostra AGC. Os valores quantificados nas amostras APC e AQC foram 0,59 e 1,91g/100g, respectivamente e são próximos aos identificadas por outros autores.

Sirot (2008), obteve teores de 0,59g/100g na soma de EPA e DHA em conservas de atuns consumidos na França. Tenore et al. (2014) obtiveram teores de 1,15g/100 nos ácidos graxos EPA + DHA em conservas de atuns rabilhos. Em todos os estudos os líquidos de coberturas eram compostos por óleos vegetais.

Os teores de EPA+DHA identificados por Loiko (2011) variaram entre 2,02 a 3,87g/100 nas conservas em óleo, valores próximos aos identificados na amostra AGC em óleo do presente estudo.

Assim como observado no presente trabalho, interações entre os atuns enlatados e os respectivos líquidos de coberturas também foram identificados por Aubourg et al. (1997). Os autores relataram alterações nos teores de ácidos graxos nas amostras de atuns em conservas contendo azeite como líquido de cobertura, com destaque para o ácido oleico, C18:1 $\omega 9$ (entre 26,3 e 32,7g/100g), concentrações próximas aos deste estudo (entre 21,76 e 25,96g/100g), indicando a absorção dos ácidos graxos tipicamente dos líquidos de coberturas contendo óleos vegetais.

Em relação aos ácidos graxos saturados identificados neste trabalho, destaca-se o C16:0 (entre 12,10 a 13,86g/100g). Aubourg et al. (1997) identificaram concentrações superiores (entre 16,2 a 17,7g/100g de lipídeos) nas conservas de atuns estudadas.

Segundo Tarley et al. (2004), o transporte entre os lipídeos dos pescados e dos óleos presentes nos líquidos de coberturas em conservas de sardinhas alteraram os perfis de ácidos graxos e os valores nutricionais das conservas. A migração dos ácidos graxos linoleico ($\omega 6$, C18:2) e α -linolênico ($\omega 3$, C18:3) dos óleos para os músculos sardinhas foram evidenciados

pelos autores, elevando a concentração desses ácidos graxos nos pescados e reduzindo os teores de EPA e DHA.

As concentrações entre os ácidos graxos $\omega 3/\omega 6$ deste estudo variaram de 0,01 a 0,09g/100g, valores reduzidos comparados aos da literatura, embora outros autores também relataram baixas concentrações nesta proporção em conservas pescados contendo óleos como líquidos de coberturas (TARLEY et al., 2004; STEPHEN, 2010).

Stephen et al. (2010) identificaram em conservas de atuns em óleo proporções de ácidos graxos $\omega 3/\omega 6$ variando entre 0,26 a 0,92, valores superiores aos identificados nas amostras de atuns em óleo, das 3 marcas comerciais do presente estudo.

No que se refere às proporções de ácidos graxos $\omega 6/\omega 3$, as concentrações deste estudo variaram entre 10,71 a 95,36 nas conservas em óleo. Considera-se tais valores mais elevados aos identificados na literatura, em pescados e conservas de pescados. Contudo, as elevadas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, em especial $\omega 6$ nos óleos podem ter elevado às proporções de $\omega 6/\omega 3$ nas amostras de atuns contendo óleo, através da migração lipídica promovida pelos líquidos de cobertura (óleos) para os músculos dos pescados, também observados por Caponio et al. (2011).

Loiko et al. (2011) quantificou teores de $\omega 6/\omega 3$ variando de 5:1 e 7:1 em conservas de atuns em óleo e em atuns contendo molho de tomates como líquidos de coberturas.

Proporções entre os ácidos graxos $\omega 6/\omega 3$ variando de 2:1 a 4:1 têm maior importância, em especial para pessoas com hábitos alimentares que resultam em uma baixa ingestão de EPA e DHA, e têm sido recomendadas por possibilitar uma maior conversão do ácido α -linolênico em DHA (MARTIN et al., 2006).

Logo, alterações nos perfis lipídicos de conservas de pescados pode ocorrer através da absorção dos ácidos graxos dos óleos vegetais utilizados nos líquidos de coberturas, elevando os teores de AGPI (principalmente $\omega 6$) e redução nas concentrações de $\omega 3$ (AUBOURG et al., 1996; STEPHEN et al. 2010; NASERI et al., 2011), como evidenciado nas conservas de atuns do presente estudo.

Além disso, sua estabilidade oxidativa é dependente, ainda, da qualidade da matéria prima e das condições de produção e processamento (binômio tempo x temperatura) (STEPHEN et al., 2010; DEREWIKA; OBIEDZIŃSKI, 2012; SKIPNES, 2014). Schneedorferová et al. (2015) afirmam a necessidade da realização de estudos individualizados com pescados de determinadas localidades para avaliar o tratamento térmico ideal na preservação dos AGPI.

Com os resultados obtidos, conclui-se que os perfis lipídicos das conservas estudadas apresentaram alterações significativas nos músculos dos pescados e nos líquidos de coberturas, com possível degradação de ácidos graxos presentes em pescados, como EPA e DHA, que apresentam diversos benefícios potenciais à saúde. Além disso, com as concentrações extremamente elevadas de ácidos graxos $\omega 6$, pode-se inferir que as conservas não apresentam fontes desejáveis de ácidos graxos saudáveis.

5.4.2 Líquidos de coberturas contendo óleo vegetal

Em relação aos perfis lipídicos dos líquidos de cobertura em “óleos”, verifica-se que, assim como nos músculos dos pescados, os óleos apresentaram concentrações de ácidos graxos na seguinte ordem: ácidos graxos poliinsaturados > ácidos graxos monoinsaturados > ácidos graxos saturados (Figura 15). Os conteúdos de AGPI variaram entre 49,55 a 50,80g/100, sendo elevadas as concentrações de ácidos graxos $\omega 6$ (entre 49,33 a

50,42g/100g), com destaque para o ácido graxo linoleico (C18:2 cis, ω 6), com teores de 48,58 a 49,61g/100g.

Foram identificadas baixas concentrações de ácidos graxos ω 3 (entre 0,27 a 0,50g/100g), em especial os ácidos graxos EPA+DHA (entre 0,23 e 0,41g/100g). Já as concentrações de ácidos graxos monoinsaturados variaram de 29,44 a 31,46g/100g, com teores mais elevados para o ácido graxo oléico (C18:1cis, ω 9) (entre 23,95 a 25,96g/100g). Os teores de ácidos graxos saturados variaram de 14,06 a 15,44g/100g, destacando-se o ácido graxo C16:0 (entre 11,19 a 12,22g/100g). Não foram identificadas diferenças significativas em relação aos AGS, AGMI e AGPI, nos líquidos de coberturas contendo óleo das 3 marcas comerciais. Conforme designados nos rótulos dessa variedade de conservas, as amostras AQC e APC possuem óleo de soja como líquido de cobertura, enquanto a amostra AGC contém a designação “óleo comestível”, o qual também pode ser óleo de soja, devido à similaridade aos perfis lipídicos dos demais líquidos de cobertura referidos.

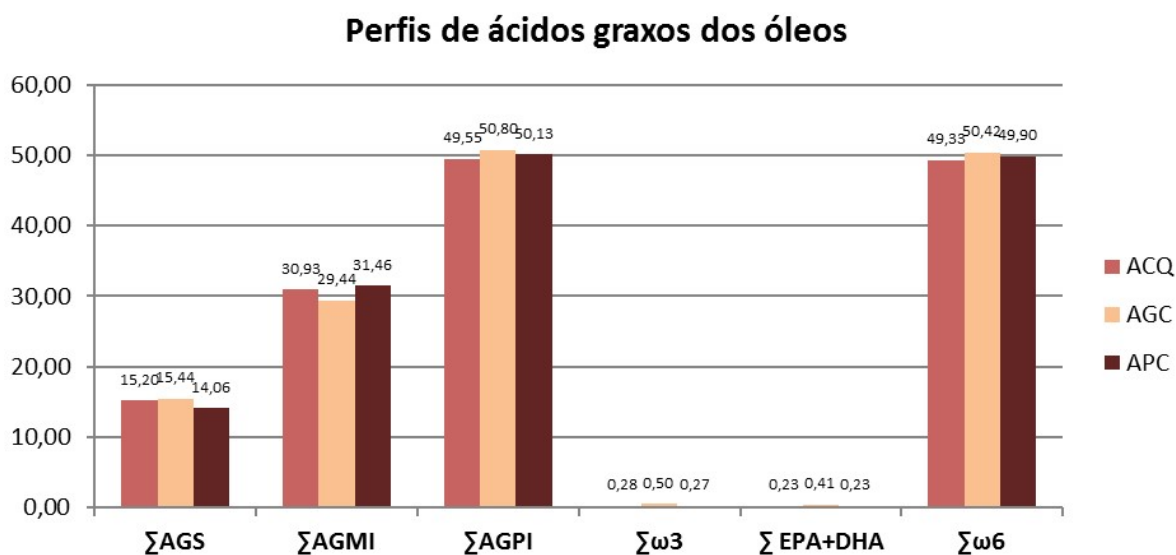


Figura 15: Concentrações de ácidos graxos dos líquidos contendo “óleo”.

Os resultados de AGPI dos líquidos de cobertura contendo óleo deste estudo (entre 49,55 a 50,80g/100) estão próximos aos identificados por outros autores. Lago e Antoniassi (2000), identificaram concentrações variando de 57,62 a 58,31g/100g nos líquidos de sardinhas em conservas contendo óleo vegetal. Tarley et al. (2004) observaram teores de entre 40,36 a 55,23g/100g e entre 53,62 a 60,19g/100g nos AGPI em líquidos de coberturas de conservas de sardinhas em molho de tomates e em óleo, respectivamente. Em ambos os estudos os autores identificaram concentrações de ácidos graxos dos líquidos de cobertura na seguinte ordem: AGPI>AGMI>AGS, tal como observado no presente estudo. Além disso, verificaram as presenças de ácidos graxos constituintes dos pescados nos líquidos de coberturas, concluindo a ocorrência da transferência dos ácidos graxos entre os meios (LAGO, ANTONIASSI 2000; TARLEY et al. 2004).

Ressalta-se que os óleos vegetais promoveram um ambiente apolar que favoreceu, durante o processamento das conservas, a migração entre os ácidos graxos dos músculos dos pescados e dos líquidos de coberturas. Outros autores confirmaram a ocorrência desse

processo de migração lipídica entre os líquidos de coberturas e as conservas de pescados (AUBOURG; GALLARDO, 1990; GARCÍA-ARIAS et al., 1994; NASERI et al., 2011).

Aubourg (1997) avaliou alterações lipídicas em conservas de atuns e nos seus respectivos dos líquidos de coberturas (azeite de oliva) após o enlatamento e o armazenamento das conservas. Segundo os autores, os líquidos de coberturas foram comparados a um grupo controle, e os resultados demonstraram que ocorreram alterações lipídicas entre os meios devido a absorção de lipídeos provenientes dos filés de atuns.

Caponio et al. (2003) investigaram os óleos usados nos líquidos de cobertura atuns enlatados e verificaram elevadas concentrações de ácidos graxos típicos dos lipídeos de pescados. Concentrações de AGS foram evidenciados pelo ácido graxo C16:0, que apresentou conteúdos variando entre 10,20 a 12,00g/100g nas amostras contendo óleo de soja como líquidos de coberturas, valores próximos aos obtidos no presente estudo (11,19-12,22g/100g). Segundo os autores, as concentrações de EPA+DHA variaram de 0,02 a 2,04g/100g nas amostras de óleos vegetais, com uma média de 0,46g/100g nos óleos de soja, próximos aos observados neste trabalho (0,23-0,41g/100g de EPA+DHA).

Selmi et al. (2008) avaliaram o efeito do processo de enlatamento e o tempo de armazenamento sobre atuns e sardinhas apertizados, contendo óleo de oliva e molho de tomates como líquidos de coberturas. Segundo os autores, o processo térmico afetou significativamente ($p < 0,05$) as concentrações lipídicas das amostras de atuns, que absorveram os líquidos de coberturas durante a esterilização, induzindo uma maior concentração de ácidos graxos oleico (C18:1, $\omega 9$) e linoléico (C18:2, $\omega 6$) dos líquidos para os pescados através da migração de ácidos graxos, como ocorrido no presente estudo.

Conforme Naseri et al. (2011), a composição lipídica de pescados enlatados apresenta perfil lipídico similar ao tipo de lipídeo (óleo) utilizado como líquido de cobertura.

Caponio et al. (2011) verificaram a composição de ácidos graxos e seus percentuais de degradações em diferentes óleos de coberturas nas conservas de pescados. Foram avaliadas 34 latas de atuns em conservas: 7 em azeite extra virgem, 18 em azeite de oliva e 9 em óleos de soja, de girassol e de milho como líquidos de coberturas, respectivamente. Elevadas concentrações de AGMI foram identificados nos líquidos de coberturas de atuns (61,55g/100g), seguido de AGPI (23,27g/100g) e AGS (14,98g/100g). Segundo os autores, o tipo de peixe não apresentou influência na extensão da degradação oxidativa e hidrolítica, com exceção dos óleos de coberturas das sardinhas, que apresentaram maiores concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, índices de degradação oxidativa primária e os maiores valores de triacilgliceróis oxidados (1,32%), comparados aos enlatados atuns (0,93%).

5.5 Índices de Qualidade Nutricional (IQN) das frações lipídicas

Em relação aos Índices de Qualidade Nutricional (IQN) das frações lipídicas, a Tabela 8 apresenta os resultados identificados nas amostras de atuns em conservas de ambas as variedades. As concentrações do índice aterogênico (IA) dos atuns foram respectivamente entre 1,25 e 1,78 nas amostras em salmoura e entre 0,16 e 0,22 e nas conservas em óleo. Já os valores do índice de trombogenicidade (IT) variaram entre 0,96 e 1,55 nas conservas em salmoura e de 0,37 a 0,43 nas amostras de atuns em óleo. Em relação às concentrações entre H/H, os maiores valores foram identificados nas amostras de atuns em óleo (entre 4,62 a 6,12), comparadas aos atuns em salmoura (entre 0,56 a 0,74), com destaque para a amostra APC em óleo (6,12).

Tabela 8: Resultados dos IQN das frações lipídicas nas amostras de atuns em conservas.

Atuns em conservas	IA	IT	H/H
Contendo óleo / AQC	0,17	0,37	5,85
Contendo óleo / AGC	0,22	0,43	4,62
Contendo óleo / APC	0,16	0,38	6,12
Em salmoura / AQC	1,25	0,96	0,74
Em salmoura / AGC	1,78	1,55	0,56
Em salmoura / APC	1,48	1,23	0,66

Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) relacionam os ácidos graxos pró e anti-aterogênicos e pró e anti-trombogênicos, respectivamente. Quanto mais reduzidos os valores de ambos os índices, melhor é a qualidade nutricional da dieta como fator de redução do potencial de risco de incidência de doenças cardiovasculares (ULBRICHT, SOUTHGATE, 1991). Em relação às proporções de ácidos graxos H/H (Σ ácidos graxos hipocolesterolêmicos/ Σ ácidos graxos hipercolesterolêmicos), valores mais elevados são desejáveis sob o ponto de vista nutricional. Não foram identificados dados na literatura que indiquem as concentrações mínimas e máximas dos índices de qualidade nutricional lipídica, para que os alimentos sejam considerados potencialmente saudáveis.

Entretanto, outros autores também avaliaram estes índices de qualidade dos lipídeos em pescados. Simon et al. (2012) identificaram concentrações de 0,29 e 0,20 nos índices trombogênico e aterogênico, respectivamente, e 4,27 na proporção H/H de camarões fritos em óleo vegetal, valores próximos aos identificados nas conservas em óleo do presente estudo. Os autores relataram aumento nas concentrações de lipídeos, devido à incorporação de óleo durante o processo de fritura, além da redução de ácidos graxos ω 3 e aumento nos ácidos graxos ω 6.

Maulvault (2009) observou valores entre 0,39 e 0,47 no índice aterogênico e de 0,19 a 0,27 no índice trombogênico em pescados consumidos em Portugal. Lira et al. (2014) identificaram níveis de 0,62 e 0,82 nos índices trombogênico e aterogênico, respectivamente, em camarões defumados, além de 2,44 na proporção de H/H. Fernandes et al. (2014) identificaram variações de 0,26 a 0,48 e entre 0,20 a 0,44 nos índices aterogênicos e trombogênicos, respectivamente, além de 0,87 a 2,43 nas razões H/H em pescados consumidos no Brasil. Os autores consideraram que as amostras apresentaram índices de qualidade lipídicas favoráveis para o consumo saudável.

Embora as maiores concentrações de EPA e DHA foram identificadas nas amostras de atuns em salmoura, comparadas aos atuns em óleo, os índices de qualidade nutricional das frações lipídicas evidenciaram que as conservas em salmoura apresentaram reduzidos conteúdos de ácidos graxos potencialmente saudáveis. Já em relação às amostras de atuns em óleo, observou-se melhores índices de qualidade nutricional lipídica em detrimento das conservas em salmoura, porém ressalta-se os conteúdos extremamente reduzidos nos ácidos graxos ω 3, em especial EPA e DHA, e elevadas proporções ω 6/ ω 3 (>4:1), pode ocasionar a redução na produção de ácidos graxos saudáveis e contribuir para o desenvolvimento de doenças inflamatórias.

Os ácidos graxos ω 3 apresentam efeitos cardioprotetores, devido a sua inibição da agregação plaquetária, comparados aos ω 6, cuja ingestão excessiva induzir a sua atividade pró-inflamatória (HARRIS et al., 2008; DEFILIPPIS et al., 2010).

5.6 Determinação de colesterol dos atuns em conservas e dos líquidos de coberturas

As concentrações de colesterol nas amostras de atuns em conservas e nos seus respectivos líquidos de coberturas (mg/100 gramas de amostras, base seca) estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Concentração média de colesterol nas amostras de atuns em conservas e nos líquidos de coberturas, nas diferentes variedades e marcas comerciais (mg/100 gramas de amostras, base seca).

Conservas / Marcas Comerciais	Músculo dos pescados	Líquidos de coberturas
Em salmoura / AGC	399,28 ± 2,26 ^a	19,61 ± 0,77 ^B
Em salmoura / AQC	190,95 ± 6,51 ^c	37,10 ± 1,11 ^A
Em salmoura / APC	271,38 ± 1,75 ^b	18,99 ± 0,86 ^B
Contendo óleo / AGC	191,92 ± 2,61 ^a	113,09 ± 1,22 ^C
Contendo óleo / AQC	207,19 ± 6,44 ^a	259,12 ± 0,90 ^A
Contendo óleo / APC	135,90 ± 2,60 ^b	240,70 ± 1,45 ^B

^{abc.} Médias em uma mesma coluna, para cada variedade de atuns em conservas, seguidas de letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); médias em uma mesma coluna, para cada variedade de líquidos de coberturas, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os teores de colesterol nas amostras de pescados variaram entre 190,95 a 399,28mg/100g nos atuns em salmoura e de 135,90 a 207,19mg/100g nas conservas em óleo. Os níveis mais elevados de colesterol nas conservas de atuns foram identificados nas amostras AGC em salmoura ($399,28 \pm 2,26$ mg/100g) e AQC em óleo ($207,19 \pm 6,44$ mg/100g).

Observa-se que ocorreu uma migração significativa do colesterol para os líquidos de coberturas (Figuras 16 e 17), em especial para as conservas em óleo. Altas concentrações do colesterol foram identificadas nesta variedade de conservas, que variaram de 113,09 a 259,12mg/100g, respectivamente, sendo mais evidentes na marca AQC, contendo $259,12 \pm 0,90$ mg/100g.

Teores de colesterol: conservas em salmoura

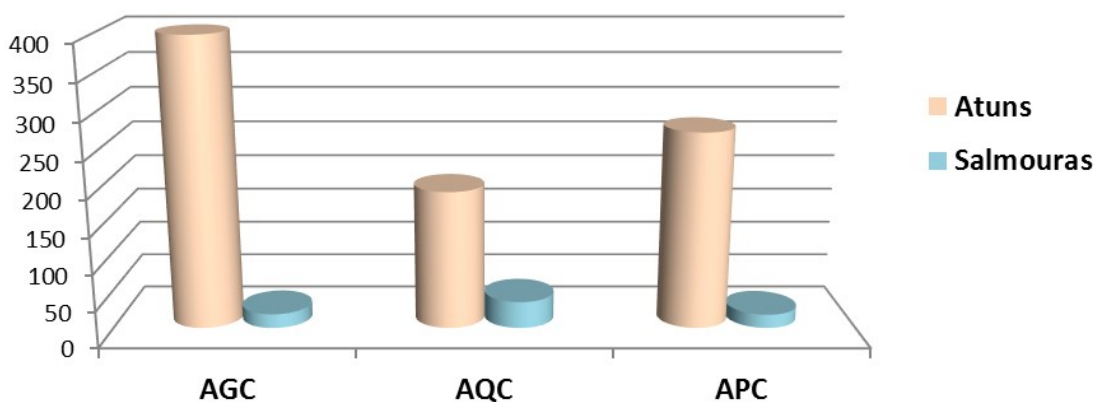


Figura 16: Concentrações de colesterol nos atuns e líquidos de cobertura das conservas em “salmoura”.

Teores de colesterol: conservas em óleo

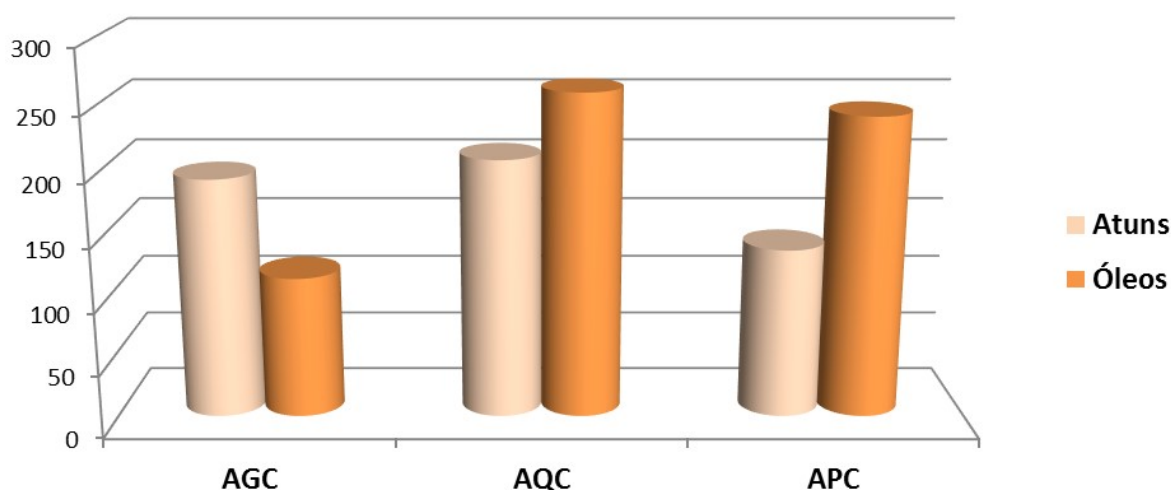


Figura 17: Concentrações colesterol nos atuns e líquidos de cobertura das conservas em “óleo”.

Em relação às amostras de salmouras, concentrações inferiores de colesterol foram identificadas, entre 18,99 a 37,10mg/100g, quando comparadas aos atuns em óleos. Isso deve-se ao fato que a estrutura da molécula do colesterol apresenta maior afinidade com o ambiente apolar promovido pelos líquidos de cobertura compostos por óleos. A marca AQC também apresentou teores mais elevados de colesterol entre as amostras de salmouras (37,10±1,11mg/100g), não sendo observadas diferenças significativas entre as demais marcas AGC e AQC, com 18,99 e 19,61mg/100g, respectivamente.

As concentrações de colesterol nas conservas de atuns podem variar conforme as espécies dos peixes, além das condições de produção e processamento, tornando esse composto vulnerável quanto à formação dos seus produtos de oxidação. Conforme a TACO (2011), os teores médios de colesterol em conservas de atuns em óleo foi 530mg/100g, superiores aos determinados nos atuns em conservas do presente estudo de ambas as variedades (entre 190,95 a 399,28mg/100g).

Os dados de colesterol obtidos nos músculos dos atuns foram mais elevados aos identificados por Stephen et al. (2010), que variou concentrações entre 71,61 a 74,31mg/100g em conservas de atuns contendo óleo vegetal. Segundo os autores, as amostras frescas apresentaram concentrações de 82mg/100g de colesterol.

Não foram identificados na literatura dados sobre os teores de colesterol em líquidos de coberturas nas conservas de atuns. Contudo, este estudo demonstrou a ocorrência da migração do colesterol dos atuns para os respectivos líquidos, sendo mais evidentes nas amostras em óleo, devido a migração desse composto para o meio predominantemente apolar.

5.7 Determinação de POC's dos atuns em conservas e dos líquidos de coberturas

A partir dos métodos utilizados foram obtidos nas amostras de atuns e nos seus respectivos líquidos de coberturas os seguintes produtos de oxidação do colesterol: 20 α -hidroxicolesterol (20 α), 22(R)-hidroxicolesterol (22R), 22(S)-hidroxicolesterol (22S), 25-hidroxicolesterol (25OH), 25R-hidroxicolesterol (25R), 7cetocolesterol (7ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α), 7 β (7 β -hidroxicolesterol), 5,6 α -e 5,6 β -epóxidos. Entretanto, os óxidos 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -Ep) e 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -Ep) ficaram abaixo do limite de quantificação do equipamento, sendo somente detectados e não quantificados.

Nas amostras de atuns em conservas (Tabela 10), foram identificadas elevadas concentrações de produtos de oxidação do colesterol, totalizando valores médios entre 321,42 a 414,94 µg/g nas conservas em salmoura e de 110,97 a 194,13 µg/g nas conservas em óleo. Destacam-se as amostras AGC em salmoura (414,94±1,49 µg/g) e AQC em óleo (194,13±4,52 µg/g). Menores teores de POC's foram identificados na amostra da marca APC em óleo, com uma média de 110,97±1,88 µg/g.

Tabela 10: Concentração média de colesterol e produtos de oxidação do colesterol (POC's) nas amostras de atuns em conservas nas diferentes variedades e marcas comerciais.

Composto (µg/g)	At. em Salm. AQC	At. em Salm. AGC	At. em Salm. APC	At. em óleo AQC	At. em óleo AGC	At. em óleo APC
20-α	85,91 ± 0,19 ^c	153,02 ± 0,36 ^b	165,17 ± 2,39 ^a	49,68 ± 2,65 ^b	27,16 ± 0,33 ^c	74,89 ± 0,53 ^a
22(R)	31,11 ± 1,72 ^b	ND	68,54 ± 0,61 ^a	22,05 ± 0,16 ^a	6,87 ± 0,05 ^c	15,21 ± 0,86 ^b
22(S)	21,11 ± 0,92 ^b	51,53 ± 0,33 ^a	ND	26,49 ± 0,38 ^a	ND	9,22 ± 0,69 ^b
25-OH	10,81 ± 1,48 ^b	68,77 ± 1,67 ^a	4,99 ± 0,04 ^c	ND	1,85 ± 0,01 ^a	ND
25(R)	25,50 ± 1,63 ^c	104,04 ± 1,76 ^a	33,78 ± 0,84 ^b	ND	ND	ND
7-ceto	60,69 ± 3,33 ^a	33,23 ± 1,72 ^b	32,94 ± 1,82 ^b	52,84 ± 1,64 ^a	32,55 ± 0,29 ^b	11,65 ± 0,2 ^c
7-α	47,99 ± 1,62 ^a	ND	8,87 ± 0,26 ^b	16,33 ± 0,12 ^a	3,60 ± 0,03 ^b	ND
7-β	34,89 ± 1,02 ^a	4,35 ± 0,19 ^c	14,84 ± 0,78 ^b	26,73 ± 0,19 ^a	ND	ND
TOTAL	321,42 ± 2,81^b	414,94 ± 1,49^a	329,12 ± 6,22^b	194,13 ± 4,52^a	132,91 ± 0,41^b	110,97 ± 1,88^c

^{abc}. Médias, em uma mesma linha, para cada marca comercial de atuns em conservas com o mesmo líquido de cobertura (salmoura ou óleo), seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os resultados de produtos de oxidação do colesterol das conservas em salmoura foram comparados aos obtidos por Zunin et al. (2001), que analisaram atuns em conservas em salmoura de diferentes marcas da Itália. Os autores identificaram conteúdos variando entre 37,7 a 328,9 µg/g de produtos de oxidação de colesterol, com níveis mais elevados dos óxidos 7-cetocolesterol (de 10,1 a 139,2 µg/g), 7β-hidroxicolesterol (de 7,0 a 50,1 µg/g) e 5,6β-epoxicolesterol (de 3,1 a 52,8 µg/g), respectivamente. Embora os autores não tenham quantificado as concentrações de colesterol das amostras, os mesmos concluíram que os teores de POC's mostraram-se elevados, quando comparados aos teores de lípidos das mesmas (0,5 a 1g/100g). Entretanto, ressalta-se que os autores não analisaram os produtos de oxidação da cadeia lateral e, dessa forma, os teores totais de óxidos foram reduzidos aos identificados nos atuns em salmouras do presente estudo (283,11 a 414,94 µg/g de produtos de oxidação do colesterol, em concentrações de 4,21 a 5,50g/100g de lipídeos).

Concentrações elevadas de POC's também foram identificados por Hernández-Becerra et al. (2014), em camarões salgados e secos. Os autores evidenciaram que os tratamentos de secagem e desidratação ao sol elevaram drasticamente (8,6 vezes) a formação de POC's, com uma média de 372,9 µg/g e, com após 90 dias de armazenamento, alcançou teores de 886,6 µg/g. Tais valores estiveram superiores aos quantificados nas amostras de pescados em conservas do presente estudo.

Neste estudo, o óxido 20α-hidroxicolesterol apresentou elevadas concentrações em todas as amostras de atuns em conservas, com destaque para as amostras da marca APC de ambas as variedades, com valores de 74,89±0,53 µg/g e de 165,17±2,39 µg/g nas conservas em óleo e em salmoura, respectivamente. O 25-hidroxicolesterol também apresentou concentrações significativas, entretanto, apenas nos músculos de atuns em salmoura, com concentrações superiores na marca AGC, totalizando 68,77±1,67 µg/g.

Os óxidos 20α-hidroxicolesterol e 25-hidroxicolesterol são produtos de oxidação do colesterol originados da cadeia lateral, provenientes dos carbonos terciários da molécula de

colesterol e estão suscetíveis ao ataque de radicais livres, em especial os superóxidos em conjunto com os peróxidos de hidrogênio (VALENZUELA et al., 2004). Os demais produtos da cadeia lateral incluem o 25(R)-hidroxicolesterol, 22(R)-hidroxicolesterol e 22(S)-hidroxicolesterol (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2008; FREITAS et al., 2015).

Concentrações significativas de 25-hidroxicolesterol foram quantificados por Saldanha et al. (2008) em sardinhas grelhadas, em especial nas amostras que haviam sido armazenadas congeladas durante 120 dias ($48,0 \mu\text{g/g}$).

Em relação aos demais produtos de oxidação da cadeia lateral do colesterol, teores mais elevados de 22(R)-hidroxicolesterol foram identificados nas conservas da marca APC em salmoura ($68,54 \pm 0,61 \mu\text{g/g}$) e, nas amostras em óleo, destaca-se a marca AQC ($22,05 \pm 0,16 \mu\text{g/g}$). Em relação ao 22(S), os teores mais elevados foram identificados nas amostras AGC em salmoura ($51,53 \pm 0,33 \mu\text{g/g}$) e AQC em óleo ($26,49 \pm 0,38 \mu\text{g/g}$). As amostras APC em salmoura e AGC em óleo não apresentaram concentrações significativas para este óxido, nas suas variedades de conservas. Tais valores estiveram superiores aos quantificados por Saldanha e Bragagnolo (2008), que identificaram concentrações entre $18,2$ e $22,7 \mu\text{g/g}$ de 22(R)-hidroxicolesterol e entre $14,4$ e $19,4 \mu\text{g/g}$ de 22(S)-hidroxicolesterol em filés de pescadas envolvidas em diferentes embalagens (com alta e baixa permeabilidade de oxigênio).

Em relação ao 25(R)-hidroxicolesterol, foram identificadas concentrações significativas apenas nas conservas em salmoura, com destaque para a marca AGC ($104,04 \pm 1,76 \mu\text{g/g}$). Já os menores teores de 25(R)-hidroxicolesterol foram identificados na marca AQC ($25,50 \pm 1,63 \mu\text{g/g}$) em salmoura, próximo ao quantificado por Saldanha e Bragagnolo (2007) ($29,40 \mu\text{g/g}$) em amostras de pescadas grelhadas e armazenadas por 120 dias.

No que se refere ao óxido 7-cetocolesterol, destaca-se a marca AQC nas amostras em salmoura ($60,69 \pm 3,33 \mu\text{g/g}$) e em óleo ($52,84 \pm 1,64 \mu\text{g/g}$), respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas entre as demais marcas AGC e APC em salmoura (entre $32,94$ e $33,23 \mu\text{g/g}$). Em relação às conservas em óleo, a menor concentração desse produto de oxidação foi identificada na amostra APC ($11,65 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), próximos aos quantificados por Freitas et al. (2015), que identificaram valores entre $11,54$ e $13,94 \mu\text{g/g}$ de 7-cetocolesterol, em pescadas brancas, assadas e cozidas em forno combinado e microondas, respectivamente.

Outros produtos de oxidação do colesterol originados do carbono 7 foram quantificados no presente estudo. Concentrações significativas de 7α -hidroxicolesterol foram identificadas nas amostras de AQC em óleo ($16,33 \pm 0,12 \mu\text{g/g}$) e em salmoura ($47,99 \pm 1,62 \mu\text{g/g}$). O 7β -hidroxicolesterol também foi destaque para a amostra AQC nas conservas em óleo ($26,73 \pm 0,19 \mu\text{g/g}$) e em salmoura ($34,89 \pm 1,02 \mu\text{g/g}$), estando próximos aos teores mínimos de 7β -hidroxicolesterol identificados por Sampaio et al. (2006), em camarões salgados e secos, em que os autores quantificaram concentrações variando entre $34,63$ a $72,56 \mu\text{g/g}$.

Conforme Lira et al. (2014), um importante fator que influencia a formação dos produtos de oxidação do colesterol em produtos de pescados (a exemplo de defumados) é, além da exposição do alimento ao calor, o uso do sal, o qual pode ser um potente fator pró-oxidante. Isso explica a obtenção de concentrações mais elevadas destes compostos as amostras contendo salmoura. Assim, ressalta-se que as elevadas concentrações de POC's, em especial nas amostras de atuns em salmoura, se deve pelos fatores pró-oxidantes exercidos pelo sal, justificando os resultados obtidos.

Guizani et al. (2014) analisaram os efeitos da concentração de sal sobre a oxidação lipídica de atuns (*Thunnus albacares*) defumados, e observaram elevados teores de produtos de rancidez oxidativa nas diferentes concentrações salinas.

Conforme Kong et al. (2008), a adição de sal em produtos à base de pescados solubiliza proteínas miofibrilares, o que pode resultar em interações entre proteína-proteína e proteína-água. Quando esses produtos são aquecidos, ocorre um processo de geleificação contribuindo com a emulsificação da gordura e retenção de água, podendo resultar na oxidação lipídica.

Também é importante que seja realizado o monitoramento de conservas de pescado no que diz respeito a elementos tóxicos que afetam a saúde humana. A contaminação de conservas de peixe por traços de metais pode ocorrer pelo próprio ecossistema marinho, ao longo do tempo durante o manuseamento e o processamento comercial, e de acordo com as condições da matéria-prima (KHANSARI et al., 2005; TUZEN; SOYLAK, 2007; MOL, 2011).

Não foram identificados outros estudos que avaliem a ocorrência da formação de produtos de oxidação do colesterol em conservas de pescados.

Em relação aos produtos de oxidação do colesterol quantificados nos líquidos de coberturas (Tabela 11), concentrações elevadas foram identificadas nas amostras AQC em salmoura ($477,12 \pm 2,48 \mu\text{g/g}$), além das amostras APC e AQC em óleo (entre $148,59$ a $151,18 \mu\text{g/g}$). Esse fato está compatível com as altas concentrações de POC's observadas nas amostras de atuns em conservas em salmoura e em óleo destas marcas, que podem ter sido formadas nos pescados e migrado para os líquidos de coberturas, em especial nas salmouras, cujas concentrações salinas induziram a formação de produtos de oxidação do colesterol.

Assim como nas amostras de atuns em conservas, concentrações superiores do 20α -hidroxicolesterol, formado a partir da cadeia lateral da molécula de colesterol, foram identificadas nos líquidos de cobertura. As concentrações elevadas desse óxido foram observadas na salmoura da amostra AQC ($94,88 \pm 0,93 \mu\text{g/g}$) e óleo da marca APC ($135,18 \pm 1,29 \mu\text{g/g}$).

Tabela 11: Concentração média de colesterol e produtos de oxidação do colesterol (POC's) nos líquidos de coberturas das diferentes variedades e marcas comerciais de atuns em conservas.

Composto ($\mu\text{g/g}$)	Salm. AQC	Salm. AGC	Salm. APC	ÓLEO AQC	ÓLEO AGC	ÓLEO APC
20-α	$94,88 \pm 0,93^a$	$30,58 \pm 0,36^b$	$11,98 \pm 1,26^c$	$130,90 \pm 0,67^b$	$26,42 \pm 1,06^c$	$135,18 \pm 1,29^a$
22(R)	$94,50 \pm 0,96^a$	$37,80 \pm 0,84^b$	$25,39 \pm 1,49^c$	$10,62 \pm 0,19^a$	$10,66 \pm 0,29^a$	$9,44 \pm 0,16^b$
22(S)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25OH	$52,39 \pm 0,29^a$	$44,60 \pm 0,15^b$	$28,54 \pm 0,03^c$	ND	ND	ND
7-ceto	$51,68 \pm 1,5^b$	$108,23 \pm 1,82^a$	$11,20 \pm 1,09^c$	$7,07 \pm 0,40^a$	$7,07 \pm 0,37^a$	$6,55 \pm 0,02^a$
25(R)	$85,53 \pm 0,68^c$	$93,01 \pm 1,03^b$	$121,36 \pm 0,24^a$	ND	ND	ND
7-α	$85,52 \pm 0,68^a$	$57,38 \pm 0,27^b$	$13,82 \pm 0,73^c$	ND	ND	ND
7-β	$12,61 \pm 0,44^c$	$29,66 \pm 0,44^a$	$18,26 \pm 0,41^b$	ND	ND	ND
TOTAL	$477,12 \pm 2,48^a$	$401,25 \pm 3,23^b$	$230,54 \pm 1,38^c$	$148,59 \pm 0,88^a$	$44,15 \pm 0,98^b$	$151,18 \pm 0,44^a$

^{abc}. Médias, em uma mesma linha, para cada marca comercial de atuns em conservas com o mesmo líquido de cobertura (salmoura ou óleo), seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O 25-hidroxicolesterol, foi quantificado apenas nas amostras de salmouras - com destaque para a marca AQC ($52,39 \pm 0,29 \mu\text{g/g}$) - não sendo identificado nas amostras de óleos.

Concentrações de 22(R)-hidroxicolesterol nas amostras em salmouras variaram de $25,39$ a $94,50 \mu\text{g/g}$, com maiores concentrações identificadas na salmoura AQC ($94,50 \pm 0,96 \mu\text{g/g}$). As amostras de óleos apresentaram concentrações entre $9,44$ e $10,66 \mu\text{g/g}$, em os óleos

das marcas AQC e AGC não apresentaram diferenças significativas (entre 10,62 e 10,66 $\mu\text{g/g}$) neste óxido.

Não foram detectadas concentrações do óxido 22(S)-hidroxicolesterol entre os líquidos de coberturas analisados. Além disso, nas amostras de óleos, não foram observados teores significativos dos óxidos 25(R)-hidroxicolesterol, 7 α -hidroxicolesterol e 7 β -hidroxicolesterol, assim como nas amostras de atuns em óleo das 3 marcas comerciais (com exceção do 7 β -hidroxicolesterol, que apresentou 26,73 \pm 0,19 $\mu\text{g/g}$ no atum em óleo da marca AQC).

O 7-cetocolesterol apresentou baixas concentrações nos óleos e sem diferenças significativas entre as marcas comerciais (6,55 a 7,07 $\mu\text{g/g}$). Já as amostras de salmouras apresentaram diferenças significativas, com destaque para a marca AGC (108,23 \pm 1,82 $\mu\text{g/g}$), em que o 7-cetocolesterol foi o principal produto de oxidação identificado nesta amostra.

Zhang (2005) investigou os efeitos de óleos de origem vegetal (óleo de milho, óleo de canola, óleo de soja e óleo de oliva) sobre a oxidação do colesterol em amostras de salmão submetidas ao aquecimento sob diferentes tempos e temperaturas. O autor analisou os produtos de oxidação 5,6 α -epóxidos e 7-cetocolesterol, o principal produto de oxidação detectado (2,11 $\mu\text{g/mL}$) quando aquecido a 150° C, durante 30 min. Nestas mesmas condições ocorreu perda de 70% de colesterol. O autor concluiu que, dentre os óleos estudados, o óleo de soja apresentou a maior capacidade na prevenção da oxidação do colesterol, pois continha maiores níveis de alfa e gama-tocoferol, componentes antioxidantes. Considera-se que as concentrações de POC's identificadas pelo autor se mostram reduzidas comparadas ao presente estudo, tendo em vista as menores quantidades de produtos de oxidação do colesterol analisados em relação a esta pesquisa.

Al-Saghir et al. (2004) analisaram amostras de salmão submetidas a preparos térmicos por cozimento, na grelha e fritura com diferentes tipos de óleos (óleo de oliva, óleo de milho e óleo vegetal "parcialmente hidrogenado"). Os autores observaram um aumento significativo na concentração total de óxidos de colesterol das amostras aquecidas quando comparadas às amostras cruas. Dentre os produtos de oxidação do colesterol identificados, os de maiores concentrações foram o 7-cetocolesterol, que atingiu média de 49% dentre todas as amostras avaliadas, seguido do 7 β -hidroxicolesterol. As concentrações de 5,6-epóxidos e 7 α -hidroxicolesterol mostraram-se abaixo de 15% do total de óxidos determinados. Dentre os métodos de processamento, o cozimento resultou em teores médios de POC's ligeiramente superiores (9,88 $\mu\text{g/g}$) que foi atribuído ao tempo de aquecimento mais longo (12 min), comparado as amostras grelhadas, que obtiveram 5,98 $\mu\text{g/g}$. Nas amostras fritas com diferentes óleos foram observadas concentrações entre 3,34 $\mu\text{g/g}$ e 4,38 $\mu\text{g/g}$ de óxidos de colesterol, respectivamente.

Embora não tenha sido objeto de estudo, considera-se que a presença de tocoferol nos óleos vegetais pode ter exercido ação protetora sobre o colesterol, reduzindo a formação dos POC's no presente estudo, em detrimento as amostras de salmouras.

A partir do método utilizado, foi possível identificar e confirmar as estruturas dos produtos anteriormente quantificados através do UPLC-APCI-MS (Figuras em anexo). Considera-se que as conservas apresentaram elevadas concentrações de POC's, nos atuns e líquidos de coberturas analisados.

Com as altas concentrações de ácidos graxos insaturados naturalmente presentes (no caso dos óleos) ou migrados dos pescados para os líquidos de coberturas de ambas as variedades, a formação de produtos de oxidação do colesterol é um processo inevitável, podendo ser induzida, ainda, durante a oxidação dos ácidos graxos. Os hidroperóxidos de ácidos graxos e radicais livres formados durante a oxidação lipídica desempenham um

importante papel e facilitam a formação de produtos de oxidação do colesterol através das espécies reativas de oxigênio formadas (MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2002; SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2010; VICENTE et al., 2012).

Outros fatores como presença de traços de íons metais nas latas, bem como as técnicas de manipulação e armazenamentos inadequados dos pescados antes do processo térmico, são fatores que influenciam a formação dos POC's (VICENTE et al., 2012).

Além disso, a qualidade do corte da matéria prima, que pode conter diferentes partes do pescado, como no atum “ralado” pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento de oxidação do colesterol. Conforme Zunin et al. (2001), a carne desintegrada em especial com elevado teor de AGPI e colesterol, como nas conservas de atuns, pode favorecer o desenvolvimento da produção de óxidos de colesterol, em que as boas práticas de produção e condições de fabricação utilizadas, em conjunto uma cuidadosa escolha das melhores cortes de atum, são necessárias para reduzir a formação de produtos de oxidação do colesterol.

Tendo em vista que ainda não são conhecidas as quantidades individuais e/ou totais que promoveriam os efeitos biológicos deletérios dos POC's, há a necessidade da condução de pesquisas com metodologias padronizadas no sentido da verificação dos níveis de contribuição dos produtos provenientes da dieta, esclarecendo os dados contraditórios presentes na literatura (MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2002).

Além disso, com as alterações fisiológicas associadas a diversas patologias através da ingestão excessiva desses compostos, os profissionais envolvidos na produção de alimentos (bioquímicos, químicos de alimentos, engenheiros de alimentos, tecnólogos e indústria alimentar) devem estar preparados para desenvolver e implementar novas tecnologias para inibir e/ou minimizar a formação POC's durante as diversas etapas durante o preparo e o processamento de pescados (DANTAS et al., 2015).

6 CONCLUSÕES

- Teores reduzidos de umidade dos atuns em conservas, em especial, nas amostras em “salmoura”, foram determinados pelos músculos desintegrados (“ralados”) e promovidos pelo efeito osmótico dos líquidos de coberturas.
- Teores superiores de lipídeos totais foram observados nos atuns das conservas contendo óleos vegetais, devido à migração dos óleos para os pescados.
- A migração lipídica dos líquidos de coberturas das conservas em óleos elevou as concentrações de ácidos graxos da série $\omega 6$ nos pescados e sua relação $\omega 6/\omega 3$.
- Nas conservas em “salmoura”, a solubilização das proteínas miofibrilares promovidas pelo sal permitiu a migração das frações lipídicas dos pescados para as salmouras.
- Em ambas as variedades de atuns em conservas, observou-se baixas concentrações de ácidos graxos potencialmente saudáveis, com destaque para as conservas “em salmoura”, evidenciados na avaliação da qualidade nutricional dos lipídios. Todas as amostras estudadas apresentaram os índices trombogênicos, aterogênicos e relação H/H pouco favoráveis ao consumo alimentar.
- Nas condições cromatográficas utilizadas foi possível quantificar o colesterol e os seus produtos de oxidação: 20 α -hidroxicolesterol, 22(R)-hidroxicolesterol, 22(S)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 25(R)-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 β -hidroxicolesterol e 7 α -hidroxicolesterol, através da HPLC-DAD-IR e identificados e confirmados através do UPLC-APCI-MS.
- Migrações significativas do colesterol dos atuns para os líquidos de coberturas foram evidenciados nas amostras, com destaque para os “óleos”, devido ao ambiente apolar promovido por este tipo de líquido de cobertura.
- Elevadas concentrações de produtos de oxidação do colesterol foram identificadas em todas as conservas de atuns e nos respectivos líquidos de coberturas de ambas as variedades, com teores superiores nas amostras “em salmoura”, devido ao efeito pró-oxidante promovido pelo sal.
- O consumo de pescados em conservas não deve estar associado às dietas saudáveis, em virtude aos potenciais efeitos deletérios dos POC’s quantificados no presente estudo.
- Considera-se, ainda, essencial a condução de novas pesquisas que avaliem as alterações nas qualidades nutricionais dos lipídeos, além da ocorrência de compostos indesejáveis, como os óxidos de colesterol, em produtos de pescados.

7 REFERÊNCIAS

ADDIS, P. B.; EMANUEL, H. A.; BERGMANN, S. D.; ZAVORALT, J. H. Capillary GC quantification of cholesterol oxidation products in plasma lipoproteins of fasted humans. **Free Radic BiolMed**, v.7, p. 179–82, 1989.

AFONSO, C.; LOURENÇO, H. M.; CARDOSO, C.; et al. From fish chemical characterisation to the benefit-risk assessment - Part A. **Food Chemistry**, v. 137, n. 1-4, p. 99–107, 2013.

AL-SAGHIR, S.; THURNER, K.; WAGNER, K. H.; FRISCH, G.; LUF, W.; RAZZAZI-FAZELI, E.; ELMADFA, I. Effects of different cooking procedures on lipid quality and cholesterol oxidation of farmed salmon fish (*Salmo salar*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5290–5296, 2004.

AUBOURG, S.; SOTELO, C. G.; GALLARDO, J. M. Changes in flesh lipids and fill oils of albacore (*Thunnus alalunga*) during canning and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 809–812, 1990.

AUBOURG, S.; GALLARDO, J. M.; MEDINA, I. Changes in lipids during different sterilizing conditions in canning albacore (*Thunnus alalunga*) in oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 32, p. 427–431, 1997.

AUBOURG, S. P.; MEDINA, I.; PEREZMARTIN, R. Polyunsaturated fatty acids in tuna phospholipids: distribution in the sn-2 location and changes during cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 1983, p. 585–589, 1996.

AUBOURG, S. P. Review: Loss of quality during the manufacture of canned fish products. **Food Science & Technology International**, v. 7, n. 3, p. 199–215, 2001.

BARROSO, R. M.; WIEFELS, A.C. O mercado de pescado da região metropolitana do Rio de Janeiro. In: **O mercado do pescado nas grandes cidades Latino-Americanas**. Mejoramiento del Acceso a los Mercados de Productos Pesqueros y Acuícolas de la Amazonia, 2010.

BELL, J. W.; FARKAS, B. E.; HALE, S. A.; LANIER, T. C. Effect of Thermal Treatment on Moisture Transport during Steam Cooking of Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, p. 307–313, 2001.

BJÖRKHEM, I. Do oxysterols control cholesterol homeostasis? **Journal of Clinical Investigation**, v. 110, n. 6, p. 725–730, 2002.

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

BOSINGER, S.; LUF, W.; BRANDL, E. 'Oxysterols': Their Occurrence and Biological Effects. **International Dairy Journal**, v. 3, p. 1-33, 1993.

BRAGAGNOLO, N. Fatores que influenciam o nível de colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em camarão e carne. 123 f. **Tese** (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto-Lei nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 458, de 10 de setembro de 2010: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de conserva de atuns e bonitos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura: Brasil 2010**. Brasília: MPA, 2010. 128p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia Alimentar para a População Brasileira**. 2ªed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Plano de Desenvolvimento da Aquicultura Brasileira - 2015/2020**. Brasília: MPA, 2015. 61p.

BROWN, A. J.; JESSUP, W. Oxysterols and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, 142, p. 1-28, 1999.

CALDER, P. C. Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 10, p. 1280–1300, 2014.

CANDELA, C. G.; LÓPEZ, L. M. B.; KOHEN, V. L. Importancia del equilibrio del índice omega-6/omega-3 en el mantenimiento de un buen estado de salud. Recomendaciones nutricionales. **Nutricion Hospitalaria**, v. 26, n. 2, p. 323–329, 2011.

CAPONIO, F.; GOMES, T.; SUMMO, C. Quality assessment of edible vegetable oils used as liquid medium in canned tuna. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 2, p. 104–108, 2003.

CAPONIO, F.; SUMMO, C.; PASQUALONE, A.; GOMES, T. Fatty acid composition and degradation level of the oils used in canned fish as a function of the different types of fish. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 8, p. 1117–1122, 2011.

CARDENIA, V.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; BALDACCI, E.; LERCKER, G. Health-related lipids components of sardine muscle as affected by photooxidation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 32–38, 2013.

CARPENTER, K. L. H., TAYLOR, S. E., VAN DER VEEN, C. et al. Lipids and oxidized lipids in human atherosclerotic lesions at different stages of development. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 1245, p. 141-150, 1995.

CHEN, J.-S.; YEN, G.-C. Cholesterol oxidation products in small sun-dried fish. **Food Chemistry**, v. 50, p. 167–170, 1994.

CHIEN, J. T.; WANG, H. C.; CHEN, B. H. Kinetic model of the cholesterol oxidation during heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8561, n. 97, p. 2572–2577, 1998.

CHURCH, M. W.; JEN, K. L. C.; DOWHAN, L. M.; ADAMS, B. R.; HOTRA, J. W. Excess and deficient omega-3 fatty acid during pregnancy and lactation cause impaired neural transmission in rat pups. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 30, n. 2, p. 107–117, 2008.

COLLINS, Carol H. Princípios básicos de cromatografia. In: **Introdução a métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. p.11-27.

CORELLA, D.; ORDOVÁS, J. M. Interactions between dietary n-3 fatty acids and genetic variants and risk of disease. **The British Journal of Nutrition**, v. 107 Suppl, n. 0 2, p. S271–83, 2012.

CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; SANT'ANA, H. M. P. Efeitos do processamento industrial de alimentos na estabilidade de vitaminas. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 83–95, 2008.

DANTAS, N. M.; SAMPAIO, G. R.; FERREIRA, F. S.; et al. Cholesterol Oxidation in Fish and Fish Products. **Journal of Food Science**, v. 80, p. 2627-2639, 2015.

DEFILIPPIS, A. P.; SPERLING, L. S. Understanding omega-3's. **American Heart Journal**, v. 151, p. 564–570, 2006.

DEFILIPPIS, A. P.; BLAHA, M. J.; JACOBSON, T. A. Omega-3 Fatty acids for cardiovascular disease prevention. **Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine**, v. 12, n. 4, p. 365–80, 2010.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. **Cromatografia**: um breve ensaio. *Atualidades em Química*, n.7, p.21-25, 1998.

DEREWIAKA, D.; OBIEDZIŃSKI, M. Phytosterol oxides content in selected thermally processed products. **European Food Research and Technology**, v. 234, p. 703–712, 2012.

DOMINGUEZ-VIDAL, A.; PANTOJA-DE LA ROSA, J.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; AYORA-CAÑADA, M. J. Authentication of canned fish packing oils by means of Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 190, p. 122–127, 2016.

ECHARTE M, ZULET M. A., ASTIASARAN I. Oxidation process affecting fatty acids and cholesterol in fried and roasted salmon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p. 5662-5667, 2001.

ECHARTE, M.; CONCHILLO, A.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Evaluation of the nutritional aspects and cholesterol oxidation products of pork liver and fish patés. **Food Chemistry**, v. 86, p. 47–53, 2004.

ECHARTE, M.; CONCHILLO, A.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Óxidos de colesterol en langostinos frescos y congelados, crudos y a la plancha. **Nutricion Hospitalaria**, v. 20, p. 293–296, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Manual on fish canning**. Rome, 1988. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/003/t0007e/T0007E00.htm#Contents>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2015.

FAO. Food and Agricultural Organization of the United Nations. **Fats and fatty acids in human nutrition**. Rome, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2014.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Fish to 2030. Prospects for Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/019/i3640e/i3640e.pdf>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2016.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Fisheries and aquaculture—processing fish and fish products**. Rome, 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/utilization_trade/en>. Acesso em: 18 de março de 2015.

FERDERBAR S.; PEREIRA, E. C.; APOLINÁRIO, E.; BERTOLAMI, M. C. et al. Cholesterol oxides as biomarkers of oxidative stress in type 1 and type 2 *diabetes mellitus*. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**., v. 23, n. 1, p. 35-42, 2007.

FERNANDES, C. E.; VASCONCELOS, M. A. D. S.; RIBEIRO, M. D. A.; et al. Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. **Food Chemistry**, v. 160, p. 67–71, 2014.

FIESP/IBOPE. Pesquisa Nacional sobre o Perfil do Consumo de Alimentos no Brasil. **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.brazilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/index.html>. Acesso em: 15 de outubro de 2014.

FISHBASE. **A global information system on fishes**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/search.php>> Acesso em: 27 de setembro de 2014.

FRANKEL, E. N. Secondary products of lipid oxidation. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 44, p.73–85, 1987.

FREITAS, M. T.; AMARAL, C. A. A.; COUTRIM, M. X.; AFONSO, R. J. C. F.; JUNQUEIRA, R. G. Effect of cooking method on the formation of 7-ketocholesterol in Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*) and smooth weakfish (*Cynoscion leiarchus*) filets. **LWT - Food Science and Technology**, 2015.

GARCÍA -ARIAS, M. T., SÁNCHEZ-MUNIS, F. J.; CASTRILLÓN, A. M., NAVARRO, M. P. White tuna canning, total fat, and fatty acid changes during processing and storage. **Journal of Food and Analysis**, v. 7, p. 119–130, 1994.

GAVIGLIO, A.; DEMARTINI, E.; MAURACHER, C.; PIRANI, A. Consumer perception of different species and presentation forms of fish: An empirical analysis in Italy. **Food Quality and Preference**, v. 36, p. 33–49, 2014.

GDOURA, N.; ABDELMOULEH, A.; MURAT, J. C.; CHAABOUNI, K.; MAKNI-AYEDI, F.; ELFEKI, A. Is frequent consumption of tuna fish safe? Evidence of liver damages in rats fed on red or white meat from tuna fish caught in the Gulf of Gabes (*Tunisian coast*). **Environmental Chemistry Letters**, v. 9, n. 4, p. 485, 2011.

GEORGIU, C. A.; CONSTANTINOU, M. S.; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, C. P. Sample preparation: A critical step in the analysis of cholesterol oxidation products. **Food Chemistry**, v. 145, p. 918–926, 2014.

GONÇALVES, A. A. Aspectos Gerais do Pescado. In: **Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Ateneu, 2011. 608p.

GORJÃO, R.; AZEVEDO-MARTINS, A. K.; RODRIGUES, H. G.; et al. Comparative effects of DHA and EPA on cell function. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 122, n. 1, p. 56–64, 2009.

GOW, R. V.; HIBBELN, J. R. Omega-3 fatty acid and nutrient deficits in adverse neurodevelopment and childhood behaviors. **Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America**, v. 23, n. 3, p. 555–590, 2014.

GRIFFITHS, W.; JÖRNVALL, H. Oxysterols. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, p. 645–646, 2014.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: Current status. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 2, p. 193–211, 1996.

GUIZANI, N.; RAHMAN, M. S.; AL-RUZEIQI, M. H.; AL-SABAHI, J. N.; SURESHCHANDRAN, S. Effects of brine concentration on lipid oxidation and fatty acids profile of hot smoked tuna (*Thunnus albacares*) stored at refrigerated temperature. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 3, p. 577–582, 2014.

HAMILTON, A.; LEWIS, A.; McCOY, M. A.; HAVICE, E.; CAMPLING, L. **Market and industry dynamics in the global tuna supply chain**. Forum Fisheries Agency, Honiara. 2011.

HARPER, C. R.; JACOBSON, M. D. New perspectives on the management of low levels of High-Density-Lipoprotein-Cholesterol. **Archives of Internal Medicine Journal**, v. 159, p. 1049-1057, 1999.

HARRIS, W. S.; MILLER, M.; TIGHE, A. P.; DAVIDSON, M. H.; SCHAEFER, E. J. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: Clinical and mechanistic perspectives. **Atherosclerosis**, v. 197, n. 1, p. 12–24, 2008.

HE, K. Fish, long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and prevention of cardiovascular disease-eat fish or take fish oil supplement? **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 52, n. 2, p. 95–114, 2009.

HEE-KIM, J.; JANG, S. J.; YONG-JU, K. Formation of cholesterol oxides in saury (*Cololabis seira*) during pan frying, deep fat frying, and microwave cooking. **Food Science and Biotechnology**. v. 9, n. 1, p. 48-51, 2000.

HEINZ, G.; HAUTZINGER, P. **Meat processing technology for small to medium-scale producers**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Regional Office for Asia and the Pacific, 2007.

HELLBERG, R. S.; MIRELES DEWITT, C. A.; MORRISSEY, M. T. Risk-Benefit Analysis of Seafood Consumption: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 5, p. 490–517, 2012.

HERNÁNDEZ BECERRA, J. A.; OCHOA FLORES, A. A.; VALERIO-ALFARO, G.; et al. Cholesterol oxidation and astaxanthin degradation in shrimp during sun drying and storage. **Food Chemistry**, v. 145, p. 832–839, 2014.

HONG, J., RYU, H., KIM, H. Cholesterol content and formation of oxidized cholesterols in processed squids. **Journal of Food Sciences and Nutrition**, n.1, p.196–202, 1996.

HUR, S. J.; NAM, K. C.; MIN, B.; et al. Effects of dietary cholesterol and its oxidation products on pathological lesions and cholesterol and lipid oxidation in the rabbit liver. **BioMed Research International**, n. 2014, p.1-7, 2014.

HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation o cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v. 18, p. 939–947, 2007.

HUTTON, J. **Oxysterols and other cholesterol derivatives**. The AOCS Lipid Library Scotland, 2014. Disponível em: <http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/chol_der/index.htm>. Acesso em: 05 de outubro de 2014.

IKEGAMI, T.; HONDA, A.; MIYAZAKI, T.; KOHJIMA, M.; NAKAMUTA, M. Biochemical and Biophysical Research Communications Increased serum oxysterol concentrations in patients with chronic hepatitis C virus infection. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 736–740, 2014

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed, v.1, São Paulo: IAL, 2008.

JANG E. R.; LEE, C. S. 7-ketocholesterol induces apoptosis in differentiated PC12 cells via reactive oxygen species-dependent activation of NF-kappaB and Akt pathways. **Neurochemistry International**, v. 58, p.52–9, 2011.

JURADO, M. C. Efeito dos oxisteróis na sinalização através de cavéolas e sua relevância na aterosclerose. 107 f. **Tese** (Doutorado em Ciências Médicas). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl-esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 488-506, 1992.

KAO, Y-M, HWANG, L.S. Analysis of cholesterol oxidation products in dried squid. **Food Science**, 24:242–57, 1997.

KIM, S. K.; NAWAR, W. W. Parameters influencing cholesterol oxidation. **Lipids**, v. 28, p. 917–922, 1993.

KHANSARI, F. E.; GHAZI-KHANSARI, M.; ABDOLLAHI, M. Heavy metals content of canned tuna fish. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 293–296, 2005.

KONG, F.; OLIVEIRA, A.; TANG, J.; RASCO, B.; CRAPO, C. Salt effect on heat-induced physical and chemical changes of salmon fillet (*O. gorbuscha*). **Food Chemistry**, v. 106, p. 957–966, 2008.

KHATIB, S.; VAYA, J. Oxysterols and symptomatic versus asymptomatic human atherosclerotic plaque. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 709–13, 2014.

KULIG, W.; CWIKLIK, L.; JURKIEWICZ, P.; ROG, T.; VATTULAINEN, I. Cholesterol oxidation products and their biological importance. **Chemistry and Physics of Lipids** (2016).

LAGO, R. C. A.; ANTONIASSI, ROSEMAR. Composição de ácidos graxos do óleo de cobertura de sardinhas em conserva armazenadas em temperatura ambiente. **Boletim do CEPPA**, v. 18, n. 2, p. 177–192, 2000.

LANGE, Y.; YE, J., STREBEL, F. Movement of 25-hydroxycholesterol from the plasma membrane to the rough endoplasmic reticulum in cultured hepatoma cells. **Journal of Lipid Research**, v. 36, p.1092-1097, 1995.

LARSSON, D.; BAIRD, S.; NYHALAH, J. D.; YUAN, X. M.; LI, W. Oxysterol mixtures, in atheroma-relevant proportions, display synergistic and proapoptotic effects. **Free Radical Biology and Medicine**, v.4, p. 902-910, 2006.

LEAF, A.; KANG, J. X.; XIAO, Y. F.; BILLMAN, G.E. n-3 Fatty acids in the prevention of cardiac arrhythmias. **Lipids**. 1999, n.34, p. 187-189.

LEE, H. W.; CHIEN, J. T.; CHEN, B. H. Inhibition of cholesterol oxidation in marinated foods as affected by antioxidants during heating. **Food Chemistry**, v. 108, p. 234–244, 2008.

LEONARDUZZI, G., SOTTERO, B., POLI, G. Oxidized products of cholesterol: dietary and metabolic origin, and proatherosclerotic effects (review). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, p.700–710, 2002.

LEVY, D.; LUIS, J.; RUIZ, M.; et al. Biochemical and Biophysical Research Communications Short-term effects of 7-ketocholesterol on human adipose tissue mesenchymal stem cells in vitro. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, p. 720–725, 2014.

LIRA, G. M.; BARROS SILVA, K. W.; FIGUEIREDO, B. C.; BRAGAGNOLO, N. Impact of smoking on the lipid fraction and nutritional value of seabob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller, 1862). **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 183–187, 2014.

LOIKO, M. R. Avaliação físico-química e perfil lipídico de Sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e Atum (*Thunnus tynnus*) em óleo e molho com tomate. **Monografia** (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011, 38p.

LYONS, M. A., SAMMAN, S., GATTO, L., BROWN, A. J. Rapid hepatic metabolism of 7-ketocholesterol in vivo: implications for dietary oxysterols. **The Journal of Lipid Research**, v.40, p.1846-1856, 1999.

LOZOVVOY, M.; SIMÃO, A.; MORIMOTO, H.; et al. Fish oil n-3 fatty acids increase adiponectin and decrease leptin levels in patients with systemic lupus erythematosus. **Marine Drugs**, v. 13, n. 2, p. 1071–1083, 2015.

LUZIA, L. A.; SAMPAIO, G. R.; CASTELLUCCI, C. M. N.; TORRES, E. A. F. S. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 93–97, 2003.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, 2006.

MAULVAULT, A. L. M. C. Valor nutricional de algumas espécies consumidas em Portugal. Faro, 2009. 84p. **Dissertação** (Mestrado em Biologia Marinha) - Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente, Universidade do Algarve, Faro, 2009.

MAZALLI, M. R.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC method for quantification and characterization of cholesterol and its oxidation products in eggs. **Lipids**, v. 41, n. 6, p. 0–7, 2006.

MEDINA-MEZA, I. G.; BARNABA, C. Kinetics of cholesterol oxidation in model systems and foods: current status. **Food Engineering Reviews**, v. 5, p. 171–184, 2013.

MIYOSHI, N.; IULIANO, L.; TOMONO, S.; OHSHIMA, H. Implications of cholesterol autoxidation products in the pathogenesis of inflammatory diseases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 702–708, 2014.

MOHAN, C. O.; REMYA, S.; MURTHY, L. N.; RAVISHANKAR, C. N.; ASOK KUMAR, K. Effect of filling medium on cooking time and quality of canned yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). **Food Control**, v. 50, p. 320–327, 2015.

- MOL, S. Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 66–69, 2011.
- MORAES, I. V. M. Dossiê Técnico – Tecnologia do pescado. **Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2007.
- MORALES-AIZPURÚA, I. C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 431–442, 2002.
- MORI, T. A. Omega-3 Fatty Acids and Hypertension in Humans. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, n. 9, p. 842–846, 2006.
- MORZYCKI, J. W. Recent advances in cholesterol chemistry. **Steroids**, v. 83, p. 62–79, 2014.
- MOURA, A. F. P. DE; TENUTA-FILHO, A. Efeito do processamento sobre os níveis de colesterol e 7-cetocolesterol em camarão-rosa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 117–121, 2002.
- NASERI, M.; REZAEI, M.; MOIENI, S.; HOSSEINI, H.; ESKANDARI, S. Effects of different filling media on the oxidation and lipid quality of canned silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 6, p. 1149–1156, 2011.
- NES, W. D.; LUKYANENKO, Y. O.; JIA, Z. H.; QUIDEAU, S.; HOWALD, W. N.; PRATUM, T. K.; WEST, R. R.; HUTSON, J. C. Identification of the lipophilic factor produced by macrophages that stimulates steroidogenesis. **Endocrinology**, v. 141, p. 953–8, 2000.
- NIKI, E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1840, n. 2, p. 809–817, 2014.
- NOGUCHI, N.; SAITO, Y.; URANO, Y. Diverse functions of 24(S)-hydroxycholesterol in the brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 692–6, 2014.
- NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C.A.; FILHO, D. R.; MELLO, E.D.; BERTOLUCCI, P. H. F.; FALCÃO, M.C. I Consenso da Sociedade Brasileira de Nutrologia sobre recomendações de DHA durante gestação, lactação e infância. **Anais de Congresso (XVIII Congresso Brasileiro de Nutrologia)**. International Journal of Nutrology, p. 1-13, 2014.
- NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. The ω -3 and ω -6 fatty acids importance for disease prevention and in the human health. **Revista Salus**, v. 2, p. 77-87, 2008.
- OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado**. v.1, Livraria Varela. São Paulo, p. 191-99, 1999.

OHSHIMA, T.; LI, N.; KOIZUMI, C. Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70, n. 6, p. 595–600, 1993.

OHSHIMA, T.; SHOZEN, K.; USHIO, H.; KOIZUMI, C. Effects of Grilling on Formation of Cholesterol Oxides in Seafood Products Rich in Polyunsaturated Fatty Acids. **LWT - Food Science and Technology**, v. 29, p. 94–99, 1996.

OLIVEIRA, F. R. Óxidos de colesterol em pescado. **Boletim do CEPPA**, p. 143–152, 2009.

OSADA, K., KODAMA, T., LI, C., YAMADA, K.; SUGANO, M. Levels and formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 41, p. 1893-1898, 1993.

OTERO-RAVIÑA, F.; GRIGORIAN-SHAMAGIAN, L.; BLANCO RODRÍGUEZ, R.; et al. Modificaciones en el perfil lipídico tras el consumo regular de conservas de pescado. Influencia de la adición de isoflavonas, ácidos grasos omega-3 y fitoesteroles. **Medicina Clínica**, v. 129, n. 3, p. 81–85, 2007.

PATTERSON, E.; R. WALL.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health Implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 4, n. 11, p. 1554–1565, 2012.

PITTAWAY, J. K.; CHUANG, L. T.; AHUJA, K. D. K. Omega-3 dietary Fatty Acid status of healthy older adults in Tasmania, Australia: an observational study. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 19, n. 5, p. 505–10, 2015.

POIROT, M.; SILVENTE-POIROT, S. Cholesterol-5,6-epoxides: Chemistry, biochemistry, metabolic fate and cancer. **Biochimie**, v. 95, p. 622-631, 2013.

POLI G.; SOTTERO, B., GARGIULO, S.; LEONARDUZZI, G. Cholesterol oxidation products in the vascular remodeling due to atherosclerosis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, p.180–189, 2009.

RAATZ, S. K.; SILVERSTEIN, J. T.; JAHNS, L.; SR, M. J. review issues of fish consumption for cardiovascular disease risk reduction. **Nutrients**, v.5, p.1081-1097, 2013.

RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. **Influence of processing on lipids and lipid oxidation in aquatic foods**. In: Antioxidants and functional components in aquatic foods. Reino Unido: Kristinsson, 2014. 344p.

RASMUSSEN, R. S.; MORRISSEY, M. T. Effects of canning on total mercury, protein, lipid, and moisture content in troll-caught albacore tuna (*Thunnus alalunga*). **Food Chemistry**, v. 101, p. 1130–1135, 2007.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; GARCIA-LLATAS, G.; LAGARDA, M. J. 7-ketocholesterol as marker of cholesterol oxidation in model and food systems: When and how. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 792–797, 2014.

SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; et al. PUFAs in fish: Extraction, fractionation, importance in health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 59–74, 2009.

SAITO, Y.; NOGUCHI, N. 7-Hydroxycholesterol as a possible biomarker of cellular lipid peroxidation: Difference between cellular and plasma lipid peroxidation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 446, n. 3, p. 741–744, 2014.

SALDANHA, T.; BENASSI, M. T.; BRAGAGNOLO, N. Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1301–1309, 2008.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxidation is increased and PUFA decreased by frozen storage and grilling of atlantic hake fillets (*Merluccius hubbsi*). **Lipids**, v. 42, p. 671–678, 2007.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Effects of grilling on cholesterol oxide formation and fatty acids alterations in fish. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 385–390, 2010.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Relation between types of packaging, frozen storage and grilling on cholesterol and fatty acids oxidation in Atlantic hake fillets (*Merluccius hubbsi*). **Food Chemistry**, v. 106, p. 619–627, 2008.

SALDANHA, T.; FRANKLAND SAWAYA, A. C. H.; EBERLIN, M. N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: Comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4107–4113, 2006.

SAMPAIO, G. R.; BASTOS, D. H. M.; SOARES, R. A. M.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. F. S. Fatty acids and cholesterol oxidation in salted and dried shrimp. **Food Chemistry**, v. 95, p. 344–351, 2006.

SANCHO, R. A. S.; DE LIMA, F. A.; COSTA, G. G.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 6, 2011.

SANTOS, W.; GONÇALVES, A. A. Enlatamento de Pescado. In: **Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Ateneu, 2011. 608p.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, p. 187–194, 2002.

SARTORI, A. G. D. O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 11, p. 83–93, 2012.

SCHNEEDORFEROVÁ, I.; TOMČALA, A.; VALTEROVÁ, I. Effect of heat treatment on the n-3/n-6 ratio and content of polyunsaturated fatty acids in fish tissues. **Food Chemistry**, v. 176, p. 205–211, 2015.

SCHROEPFER, G. J. Oxysterols: Modulators of cholesterol metabolism and other process. **Physiol. Rev.**, v. 80, n.1, p. 361-554, 2000.

SELMİ, S.; MONSER, L.; SADOK, S. The influence of local canning process and storage on pelagic fish from Tunisia: Fatty acid profiles and quality indicators. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, p. 443–457, 2008.

SELMİ, S.; SADOK, S. change in lipids quality and fatty acids profile of two small pelagic fish: *sardinella aurita* and *sardina pilchardus* during canning process in olive oil and tomato sauce respectively **Bull. Inst. Natn. Sci. Tech. Mer de Salammbô**, v. 34, p. 91–97, 2007.

SHOZEN, K.; OHSHIMA, C.; USHIO, H. Formation of Cholesterol Oxides in Marine Fish Products Induced by Grilling. **Fisheries Science**, v. 61, n. 5, p. 817–821, 1995.

SHOZEN, K.; OHSHIMA, T.; USHIO, H.; TAKIGUCHI, A.; KOIZUMI, C. Effects of Antioxidants and Packing on Cholesterol Oxidation in Processed Anchovy during Storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 30, p. 2–8, 1997.

SIKORSKI Z. E. **Seafood**: resources, nutritional composition and preservation. Ed. Z.S. Sikorski. CRC Press Inc. Boca Raton Florida. 1990. 256p.

SIGUEL, E. A new relationship between total high density lipoprotein cholesterol and polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, 31, 51-56, 1991.

SIMON, S. J. G. B.; SANCHO, R. A S.; LIMA, F. A.; et al. Interaction between soybean oil and the lipid fraction of fried pitu prawn. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 120–126, 2012.

SIMOPOULOS, A P. Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 79, p. 961–970, 2000.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 9, p. 502–507, 2006.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365–379, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.17, n. SUPPL. 1, p. 131–134, 2008.

SIRIAMORNPNUN, S.; YANG, L.; KUBOLA, J.; LI, D. U. O. Changes of omega-3 fatty acid content and lipid composition in canned tuna during 12-month storage. **Journal of Food Lipids**, v. 15, n. 2008, p. 164–175, 2007.

SIROT, V.; OSEREDCZUK, M.; BEMRAH-AOUACHRIA, N.; VOLATIER, J. L.; LEBLANC, J. C. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 8–16, 2008.

SKIPNES, D. Heat processing of fish. **Seafood Processing: Technology, Quality and Safety**, p. 61–81, 2014.

SMITH, L. L. Cholesterol autoxidation. **Chemistry and Physics of Lipids.**, v. 44, p. 44-87, 1987.

SMITH, L. L.; JOHNSON, B. H. Biological activities of oxysterols. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 7, p. 285–332, 1989.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.

STEINBERG, D. Antioxidants and atherosclerosis. **Circulation.**, v.81, n. 1420-1425, 1991.

STEPHEN, N. M.; SHAKILA, J. R.; JEYASEKARAN, G.; SUKUMAR, D. Effect of different types of heat processing on chemical changes in tuna. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. April, p. 174–181, 2010.

STROBEL, C.; JAHREIS, G.; KUHNT, K. Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. **Lipids in health and disease**, v. 11, p. 144, 2012.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ª Ed. Campinas, SP: UNICAMP, 2011.

TARLEY, C. R.; VISENTAINER, J. V; MATSUSHITA, M.; DE SOUZA, N. E. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 1–6, 2004.

TARLEY, C. R.; VISENTAINER, J. V; MATSUSHITA, M.; DE SOUZA, N. E. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 1–6, 2004.

TENORE, G. C.; CALABRESE, G.; RITIENI, A.; et al. Canned bluefin tuna, an in vitro cardioprotective functional food potentially safer than commercial fish oil based pharmaceutical formulations. **Food and Chemical Toxicology**, v. 71, p. 231–235, 2014.

TESORIERE, L.; ATTANZIO, A.; ALLEGRA, M.; CILLA, A; GENTILE, C.; LIVREA, M. A. Oxysterol Mixture in Hypercholesterolemia-Relevant Proportion Causes Oxidative Stress-Dependent Eryptosis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 34, p.1075-1089, 2014.

TUZEN, M.; SOYLAK, M. Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. **Food Chemistry**, 10, 1378–1382, 2007.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, London, v. 338, p. 985-992, 1991.

USYDUS, Z.; SZLIFDER-RICHERT, J.; ADAMCZYK, M. Variations in proximate composition and fatty acid profiles of Baltic sprat (*Sprattus sprattus balticus*). **Food Chemistry**, v. 130, n. 1, p. 97–103, 2012.

VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.; NIETO, S. Cholesterol oxidized products in foods: potential health hazards and the role of antioxidants in prevention. **Grasas y Aceites**, v. 55, n. 3, p. 312–320, 2004.

VEJUX, A.; MALVITTE, L.; LIZARD, G. Side effects of oxysterols: Cytotoxicity, oxidation, inflammation, and phospholipidosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, n. 7, p. 545–556, 2008.

VICENTE, S. J. V.; SAMPAIO, G. R.; FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Oxidation of Cholesterol in Foods and Its Importance for Human Health. **Food Reviews International**, v. 28, p. 47–70, 2012.

ZHANG T. 2005. Cholesterol oxidation in roasted salmon fish with different cooking oils. **Thesis** (Master on Food Science). State University and Agricultural and Mechanical College. Disponível em: <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-01212005-144136/unrestricted/Zhang_thesis.pdf>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2015.

ZHENG, J. S.; HU, X. J.; ZHAO, Y. M.; YANG, J.; LI, D. U. O. Intake of fish and marine n-3 polyunsaturated fatty acids and risk of breast cancer: meta-analysis of data from 21 independent prospective cohort studies. **British Medical Journal**, n. 346, p.3706-16, 2013.

ZUNIN, P.; BOGGIA, R.; EVANGELISTI, F. Identification and quantification of cholesterol oxidation products in canned tuna. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 10, p. 1037–1040, 2001.

8 ANEXOS

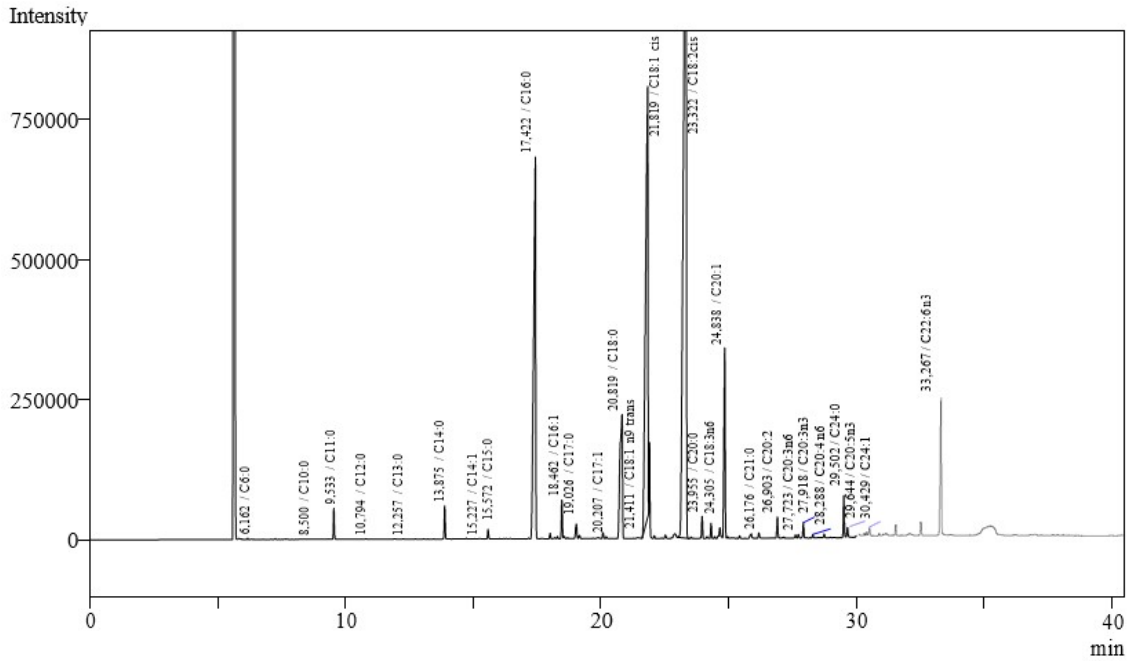


Figura 18: Perfil de ácidos graxos de atuns em óleo - marca AQC.

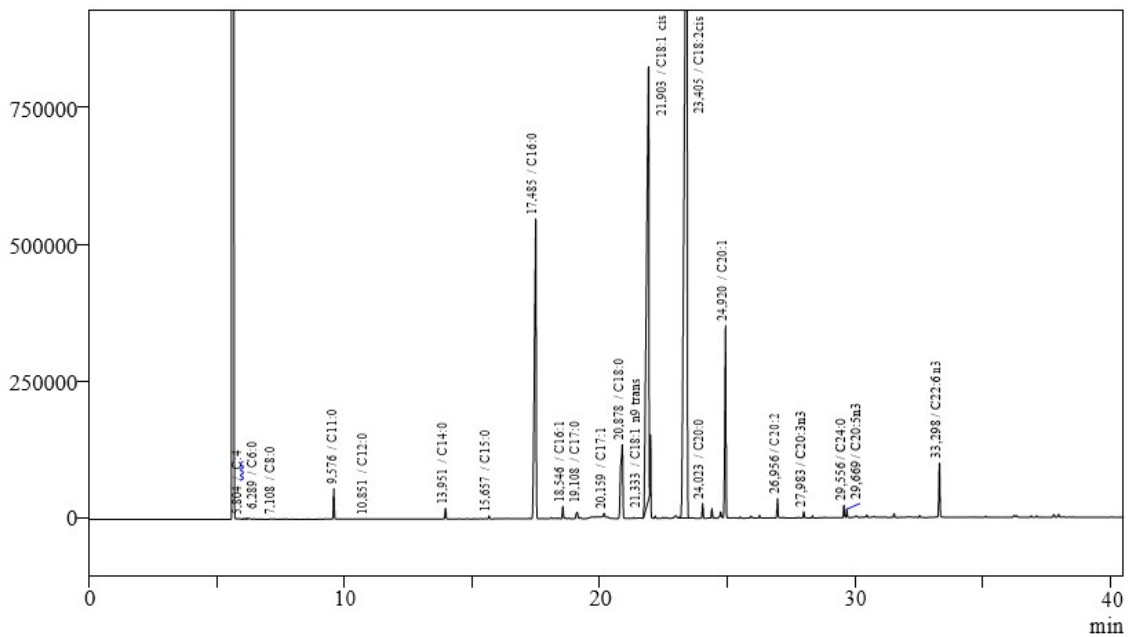


Figura 19: Perfil de ácidos graxos de atuns em óleo – marca AGC.

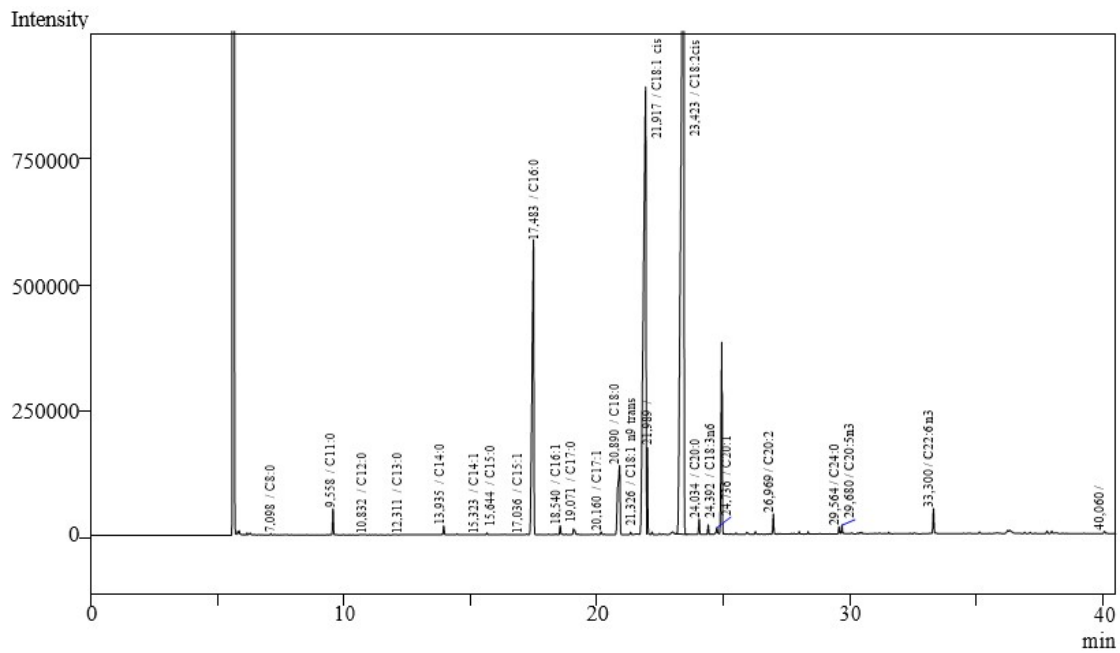


Figura 20: Perfil de ácidos graxos de atuns em óleo – marca APC.

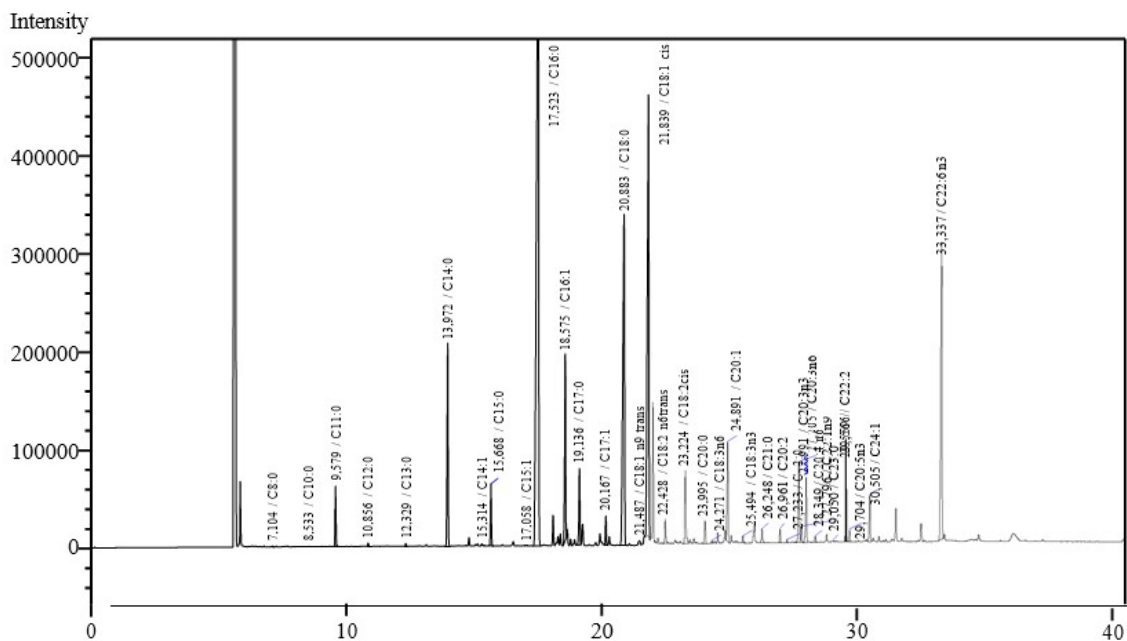


Figura 21: Perfil de ácidos graxos de atuns em salmoura – marca AQC.

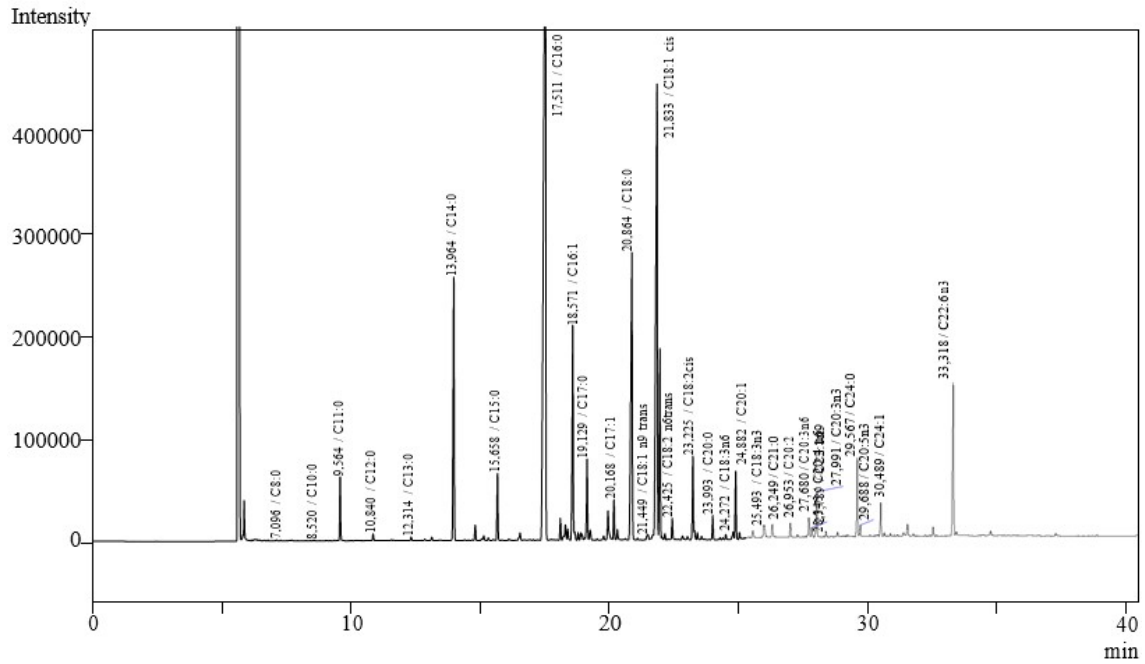


Figura 22: Perfil de ácidos graxos de atuns em salmoura – marca AGC.

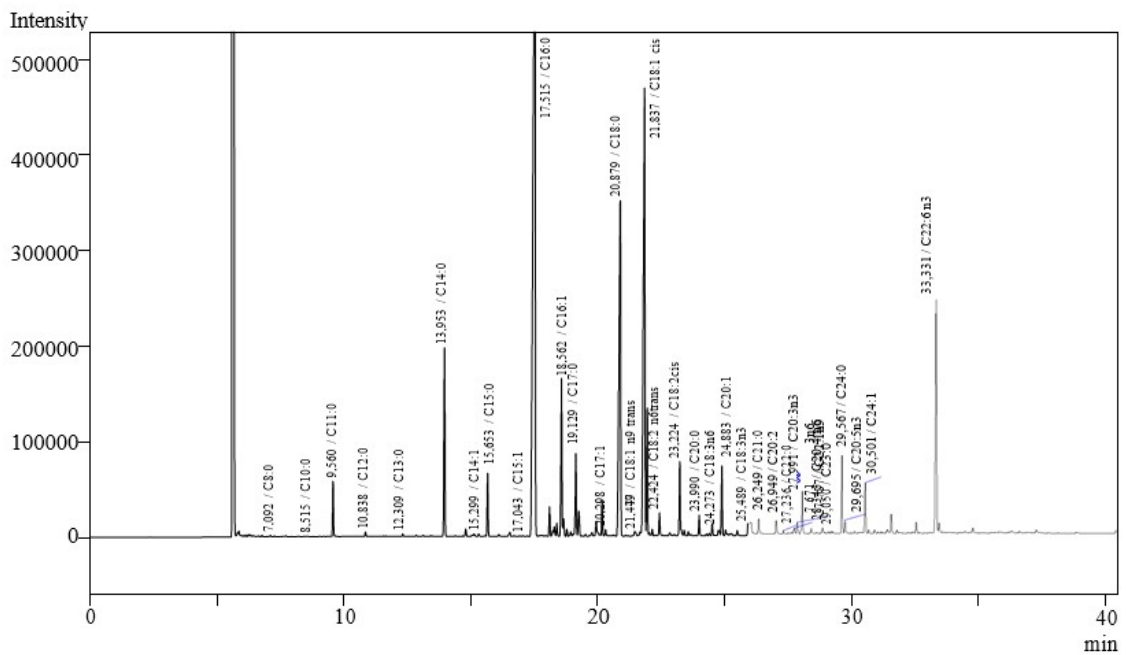


Figura 23: Perfil de ácidos graxos de atuns em salmoura – marca APC.

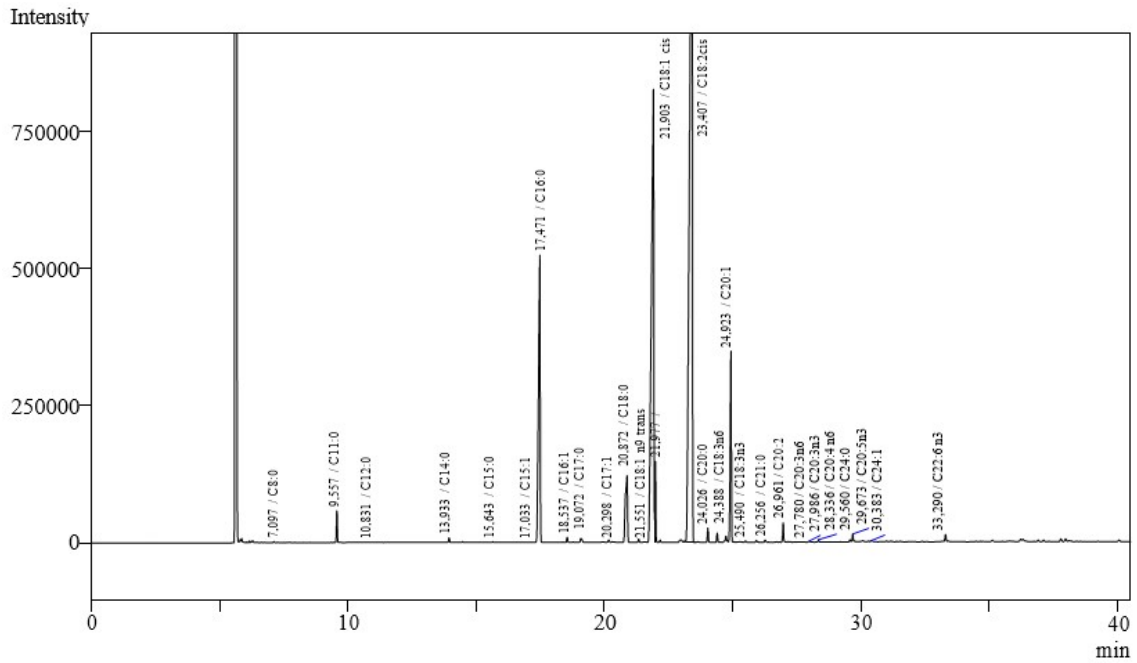


Figura 24: Perfil de ácidos graxos de óleo – marca AQC.

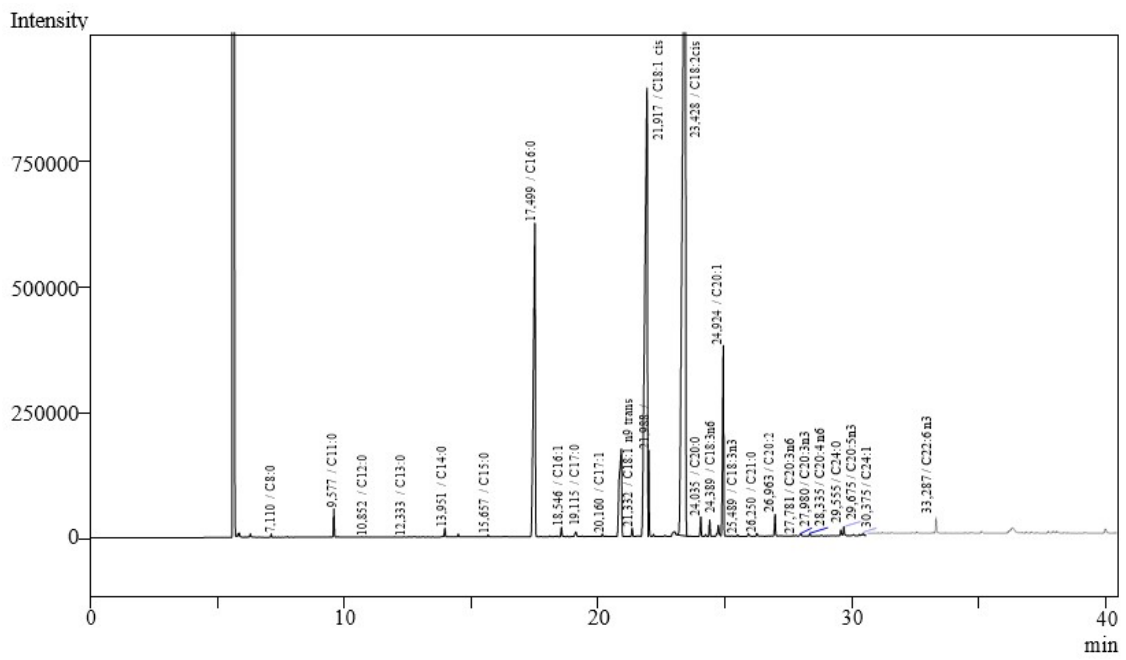


Figura 25: Perfil de ácidos graxos de óleo – marca AGC.

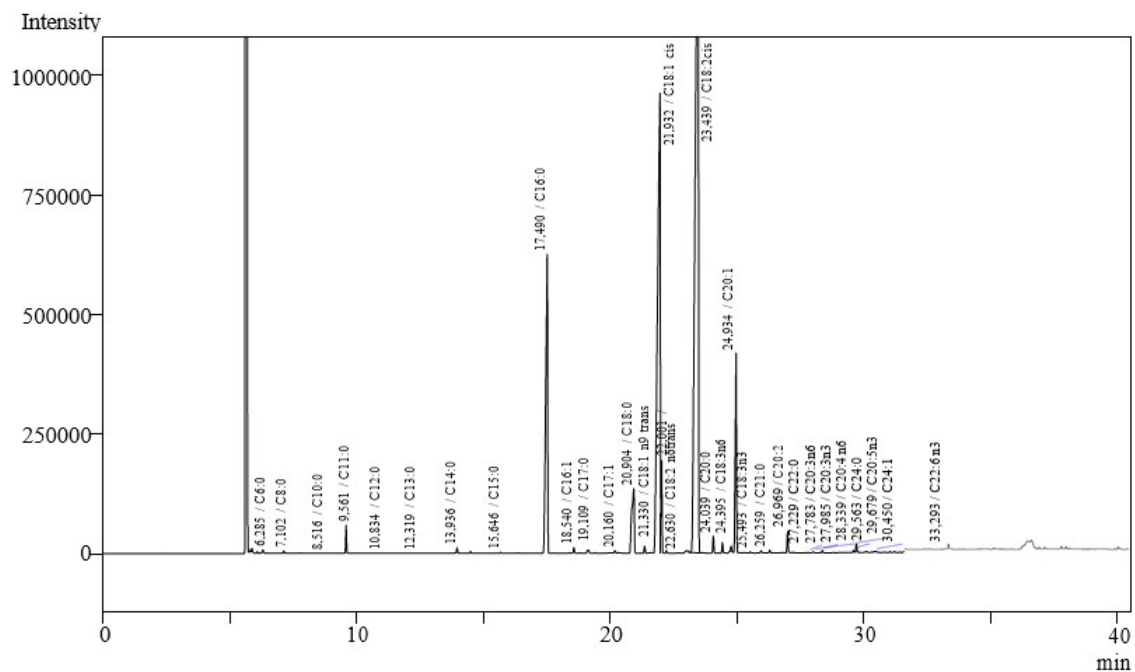


Figura 26: Perfil de ácidos grasos de óleo – marca APC.

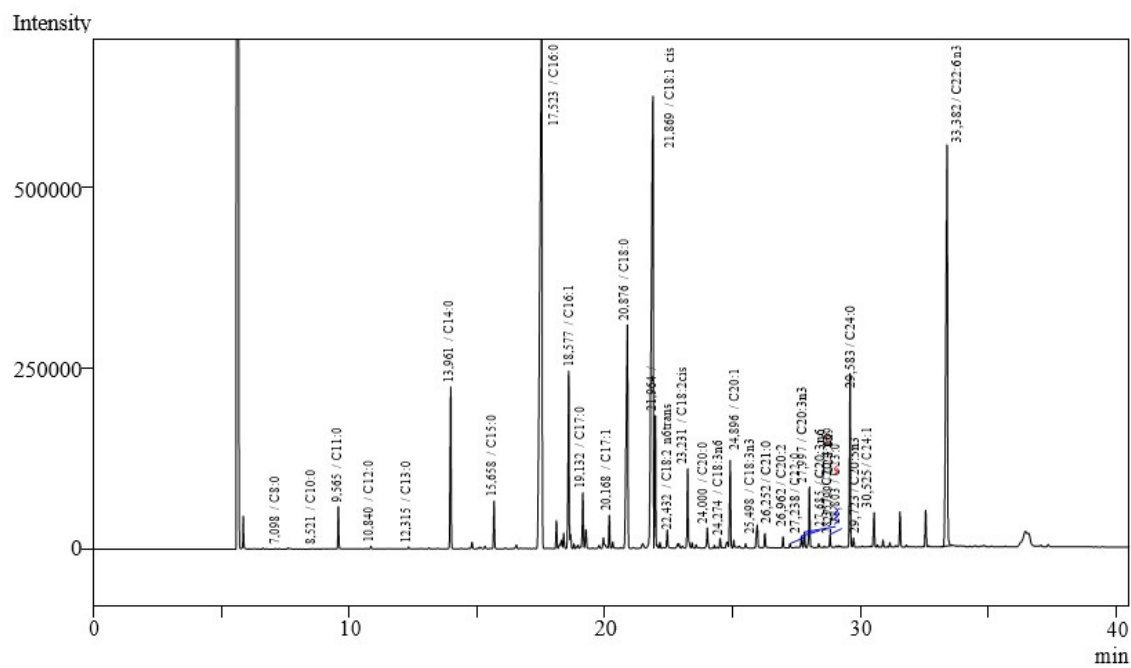


Figura 27: Perfil de ácidos grasos de salmoura – marca AQC.

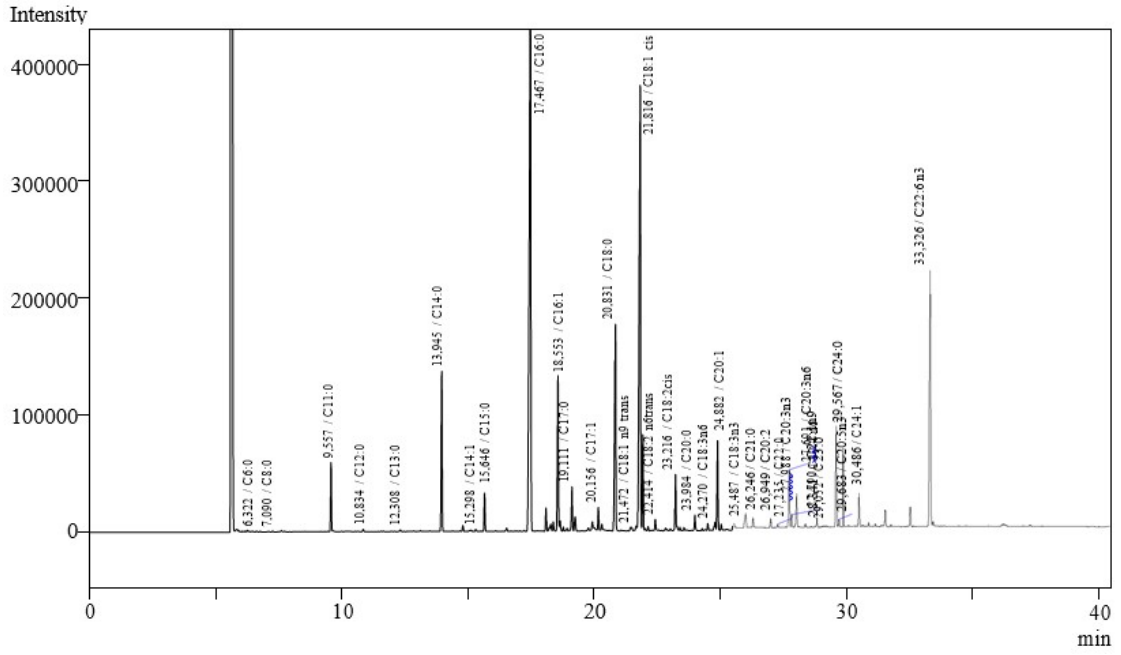


Figura 28: Perfil de ácidos grasos de salmouira – marca AGC.

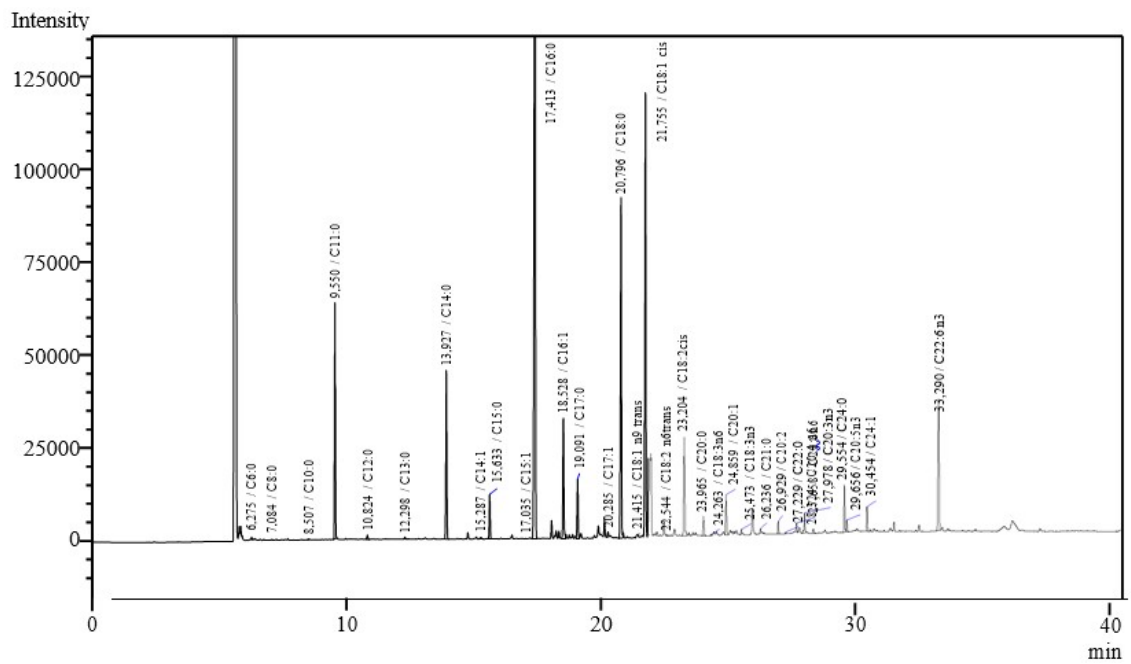


Figura 29: Perfil de ácidos grasos de salmouira – marca APC.

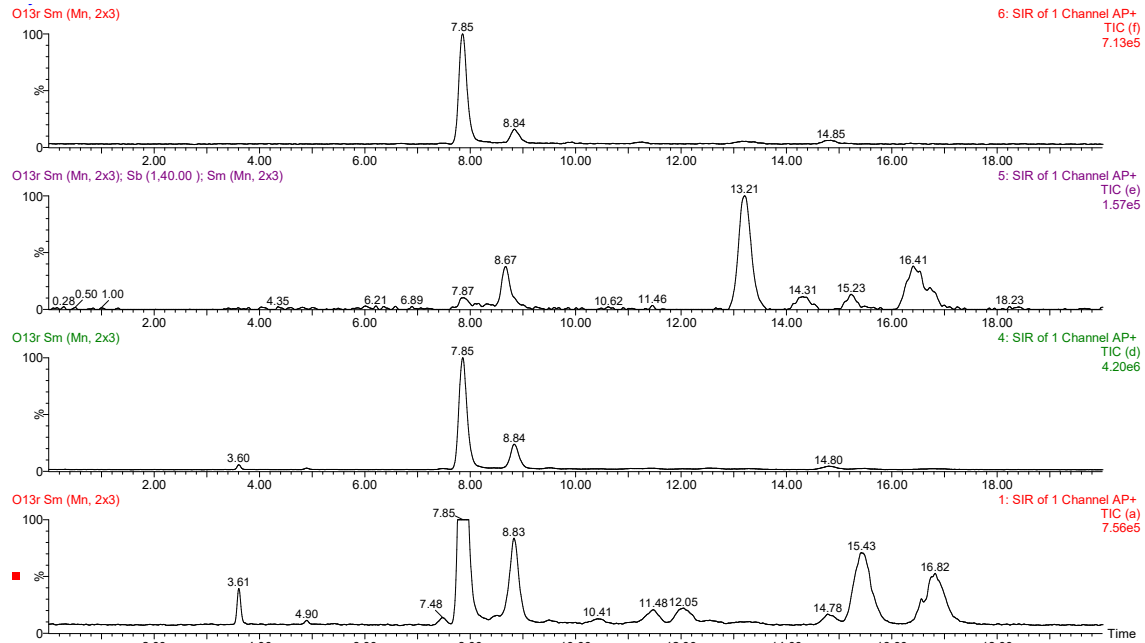


Figura 31: Pool dos padrões no UPLC-APCI-MS.

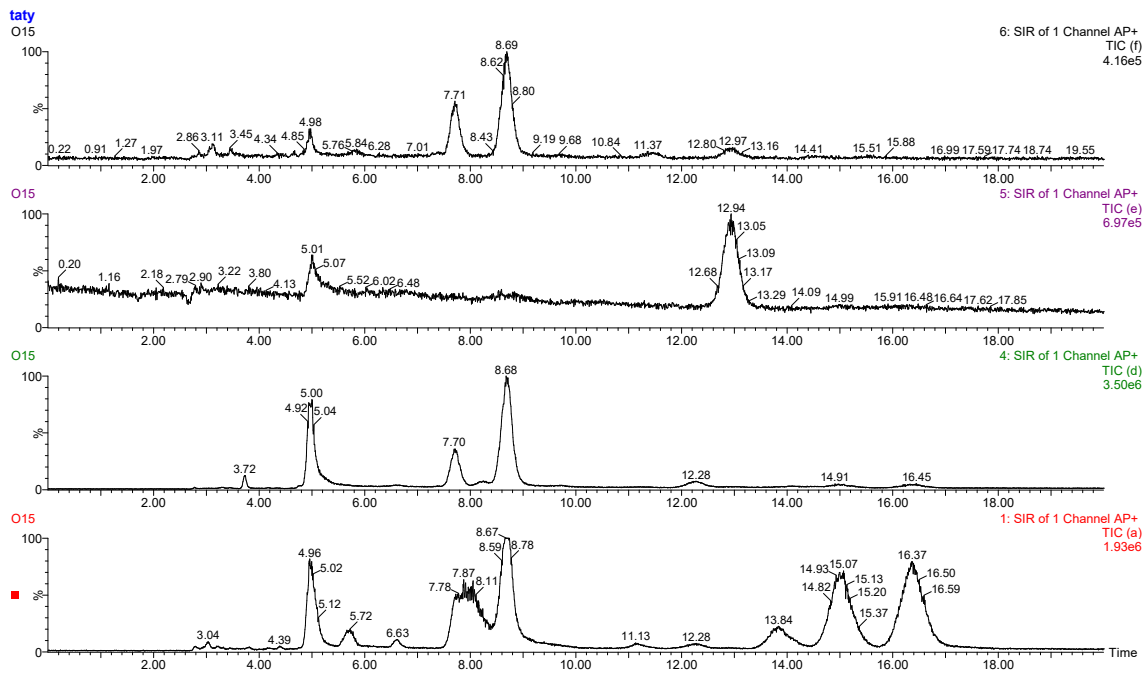


Figura 30: Amostra de salmoura no UPLC-APCI-MS.

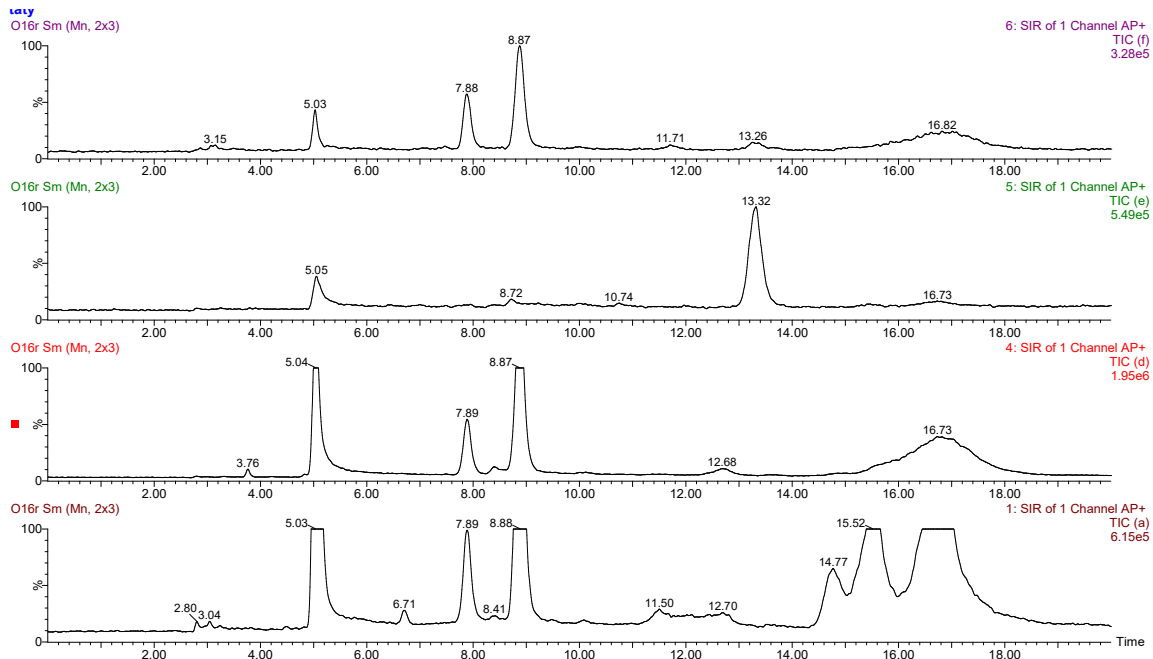


Figura 32: Amostra de salmoura no UPLC-APCI-MS.

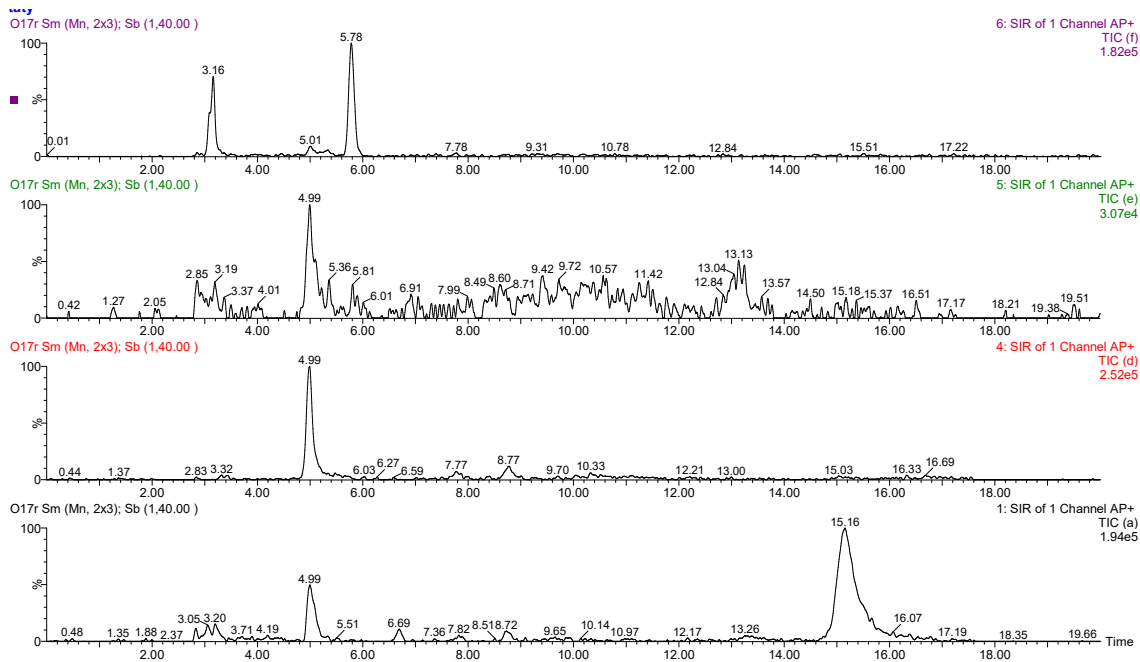


Figura 33: Amostra de óleo no UPLC-APCI-MS.

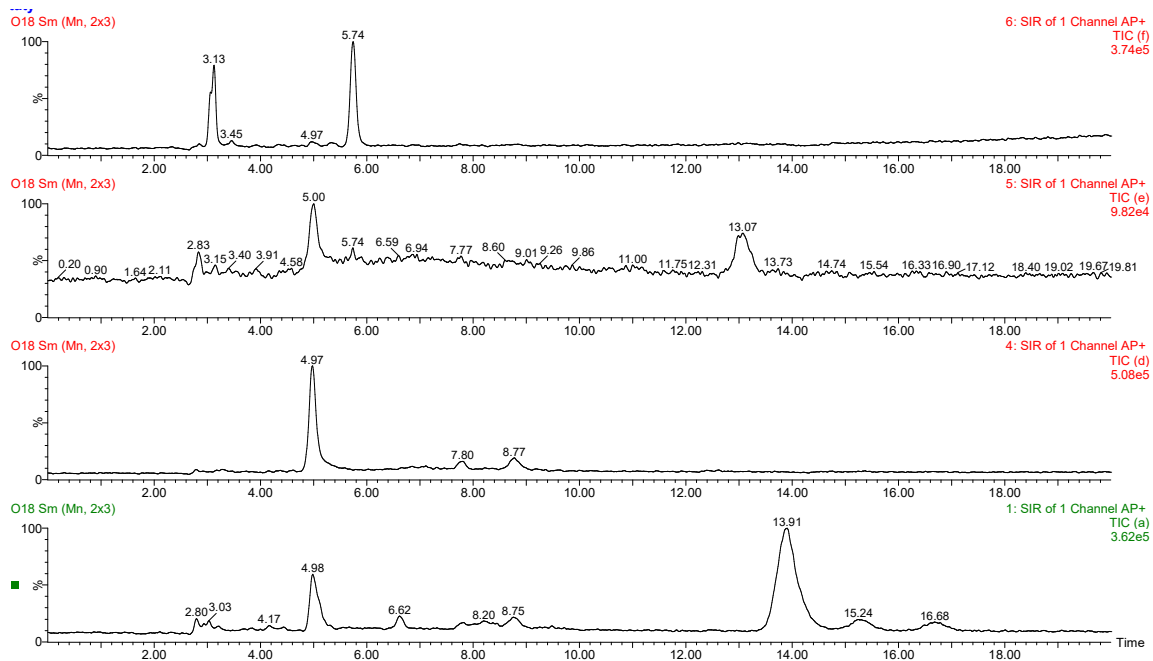


Figura 34: Amostra óleo no UPLC-APCI-MS.

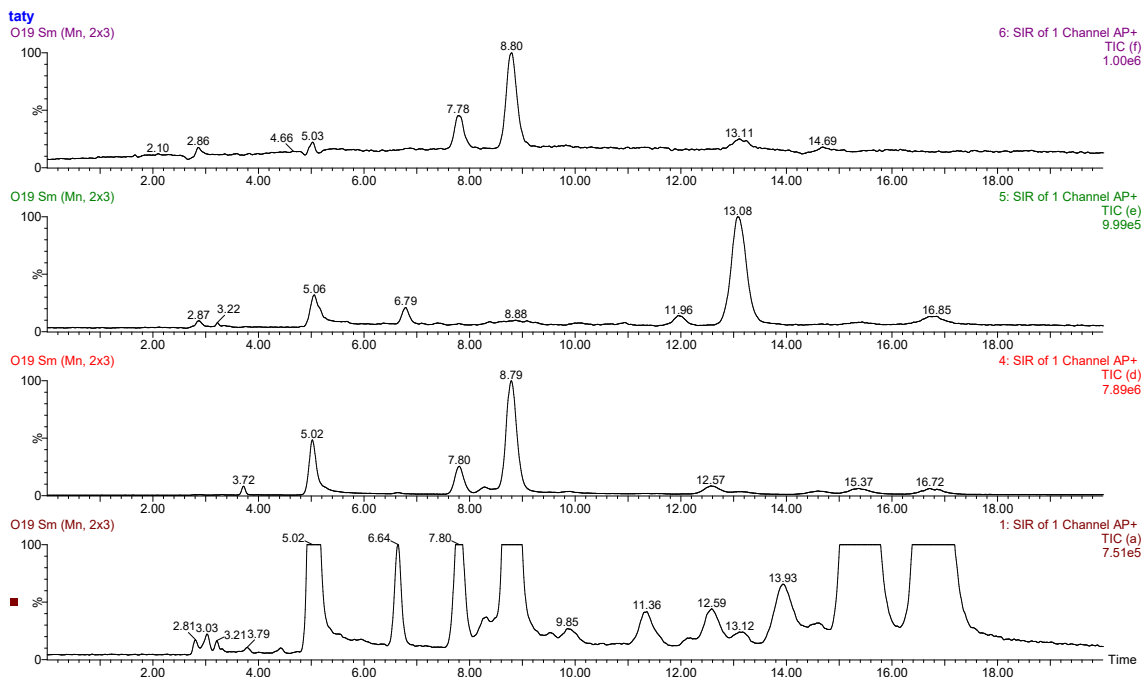


Figura 35: Amostra de atum em salmoura no UPLC-APCI-MS.

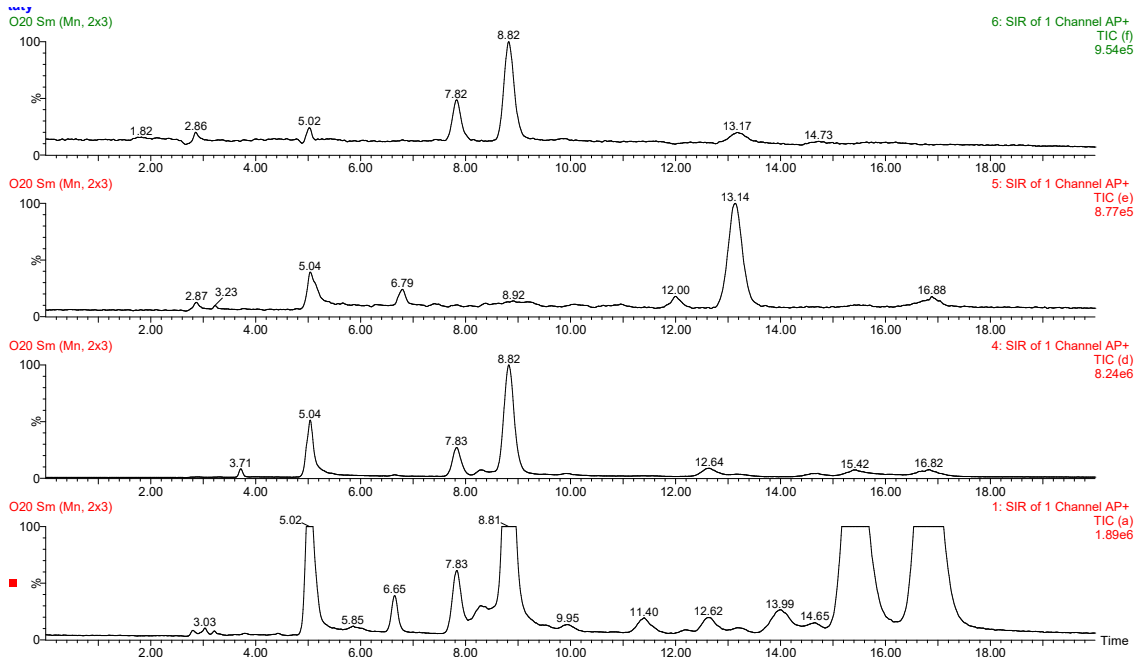


Figura 36: Amostra de atum em salmora no UPLC-APCI-MS.

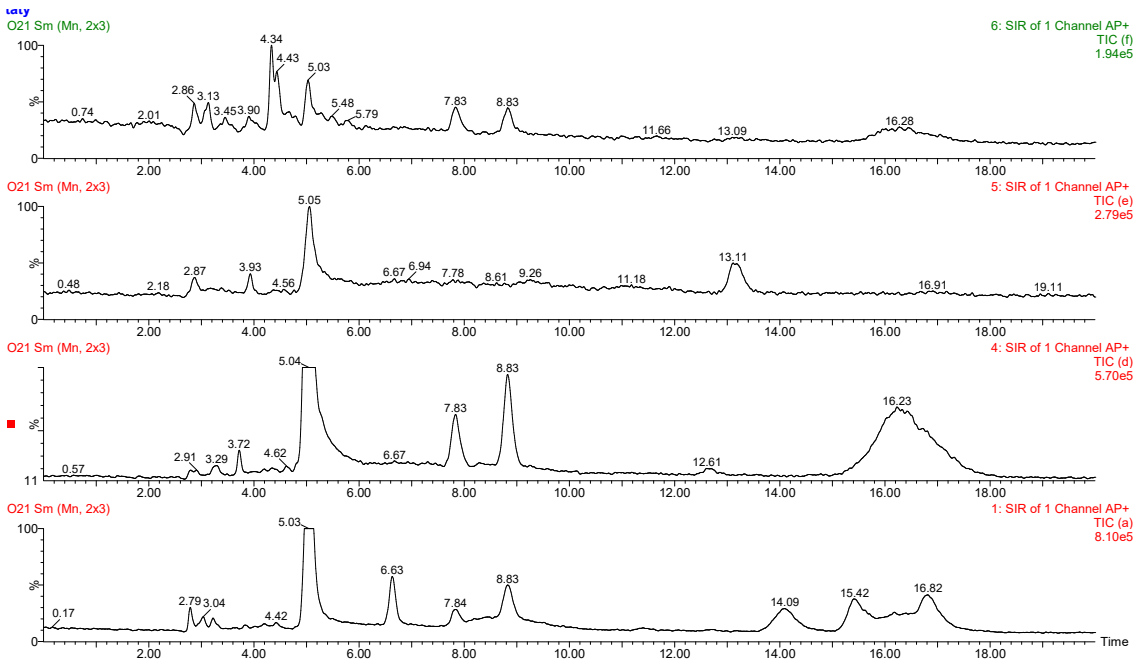


Figura 37: Amostra de atum em óleo no UPLC-APCI-MS.

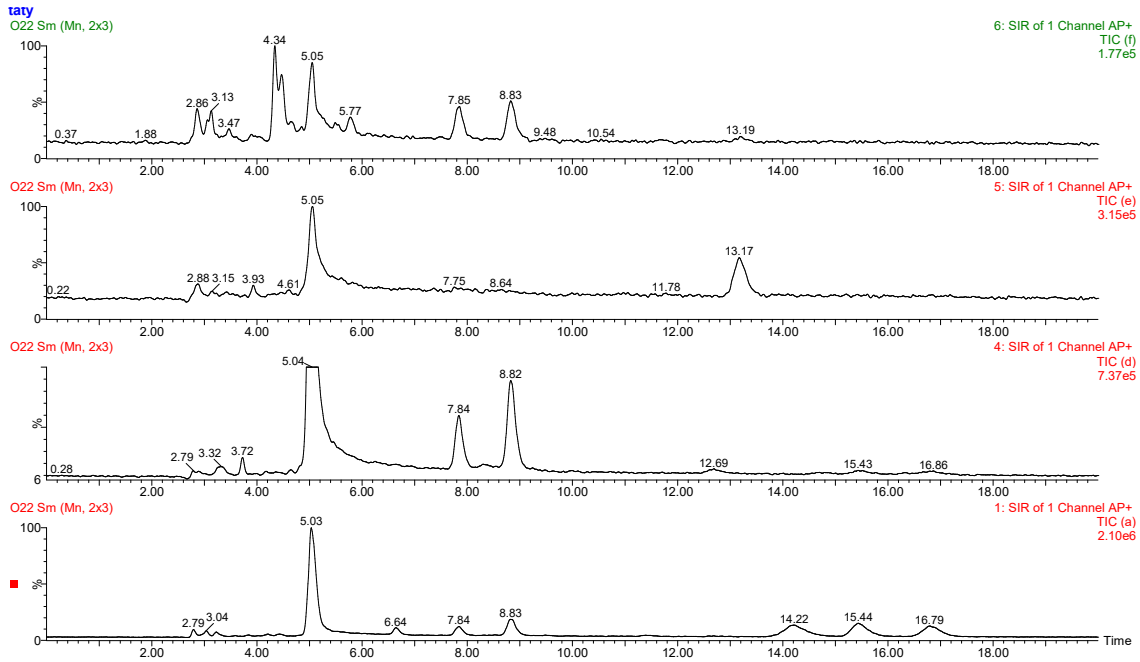


Figura 38: Amostra de atum em óleo no UPLC-APCI-MS.