

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



AVALIAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS *TRANS* DA CARNE BOVINA NO MERCADO PORTUGUÊS

SOUSA GASTÃO MUCHECHA

ORIENTADORA:
DOUTORA SUSANA PAULA ALMEIDA ALVES

CO-ORIENTADORA:
DOUTORA TATIANE FERNANDES

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



AVALIAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS *TRANS* DA CARNE BOVINA NO
MERCADO PORTUGUÊS

SOUSA GASTÃO MUCHECHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

JÚRI

PRESIDENTE

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

VOGAIS

Doutora Cristina Maria Riscado Pereira Mateus Alfaia
Doutora Susana Paula Almeida Alves

ORIENTADORA

Doutora Susana Paula Almeida Alves

CO-ORIENTADORA

Doutora Tatiane Fernandes

2021

"Não existe escola maior que conhecer pessoas boas, fazedoras do bem. (...) As pessoas boas (querendo dizer pessoas íntegras, generosas, solidárias e disponíveis) deviam ser protegidas como um património da humanidade. Um património cada vez mais raro, cada vez mais em risco. Uma pessoa boa ensina mais do que todos os compêndios."

Mia Couto

Aos meus pais Gastão Sousa e Filomena Virgílio, e a minha filha Andryela Tayla Sousa.

DEDICO...

Agradecimentos

À Deus pelo dom da vida, e por iluminar o meu caminho em todos momentos da minha vida.

Quero agradecer ao Camões - Instituto da Cooperação e da Língua, I.P e o Instituto de Bolsas de Estudo de Moçambique, foi a partir destas instituições que tive a oportunidade de frequentar este mestrado.

Aos projetos PTDC/CAL-ZOO/29654/2017 e UID/CVT/276/2020 pelo apoio financeiro do projeto que culminou com a realização desta dissertação.

À Doutora Susana Paula Almeida Alves, pela orientação, disponibilidade de tempo dispensada, pelos conhecimentos científicos transmitidos e instrução de práticas laboratoriais, pela paciência nas correções, atenção, pelo seu incentivo e pelo apoio disponibilizado durante todas atividades para realização desta dissertação.

À Doutora Tatiane Fernandes, minha coorientadora, pela orientação, pelo incentivo e pela disponibilidade de tempo dispensando para a instrução de práticas laboratoriais e apoio durante a realização do trabalho.

Ao Professor Rui Bessa e a Professora Maria João Fraqueza Coordenadores do Curso do Mestrado em Segurança Alimentar, pelo apoio na minha integração, pelas orientações e incentivo.

À Universidade de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, à Comissão Científica do Curso por ter aceitado à minha candidatura para frequentar o curso, a todos os professores ligados ao curso e a toda Direção pela formação pessoal, e profissional transmitida.

Quero agradecer aos meus pais, aos meus irmãos pelo apoio e incentivo. Aos meus avós com quem gostaria também de partilhar este momento e que sei que me apoiam onde quer que estejam.

À minha filha Andryela Tayla Sousa, por ser um motivo da minha alegria e incentivo todos os dias para poder lhe proporcionar o melhor.

Aos meus colegas de residência pela convivência, pelos conselhos, pelas conversas descontraídas, apoio e incentivo ao longo deste momento.

Em geral a todos os que fizeram parte desta jornada desde o meu primeiro ano na Faculdade de Medicina Veterinária, que serão sempre uma parte de mim.

Avaliação do perfil em ácidos gordos *trans* da carne bovina no mercado português

Resumo

A composição de ácidos gordos (AG) da carne bovina é um aspeto que os consumidores consideram importante, e a carne de ruminantes tem sido criticada por razões nutricionais devido à sua contribuição para a ingestão total de ácidos gordos saturados (AGS), os quais estão associados à incidência de doenças metabólicas.

O objetivo deste trabalho consistiu na caracterização do perfil dos AG, em particular AG *trans*, na carne de raças bovinas portuguesas ou produzidas e comercializadas em Portugal. As amostras de carne bovina certificadas e não certificadas, analisadas no estudo foram adquiridas nas superfícies comerciais de Lisboa, e os lípidos foram extraídos usando o diclorometano e metanol, de seguida foi feita a transesterificação combinada e os AG na forma de ésteres metílicos foram analisados por cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama. A análise estatística foi efetuada utilizando o programa SAS 9.4, através do modelo misto onde a origem da carne foi único fator fixo.

Através dos resultados obtidos de carnes de bovino certificadas e não certificadas da região de Lisboa verificou-se que tanto o teor lipídico como a composição em AG são variáveis entre origens, e entre carnes da mesma origem. Os AGS foram os principais AG encontrados na carne de bovino seguida dos ácidos gordos monoinsaturados (AGMI) de configuração *cis*, ácidos gordos polinsaturados (AGPI) ómega-6 e AG *trans*. Às carnes dos Açores tiveram um perfil em AG mais benéfico à saúde humana no perfil em AG *trans* e AGPI ómega-3, teve baixo teor em 18:1 *trans*-10 que as carnes Indiferenciadas ou Carnalentejana. Estas diferenças são influenciadas por fatores intrínsecos e extrínsecos do animal.

Palavras-chaves: Carne bovina, ácidos gordos, ácidos gordos saturados e ácidos gordos *trans*.

Evaluation of the *trans* fatty acid profile of beef on the Portuguese market

Abstract

The fatty acid (FA) composition of beef is an aspect that consumers consider important, and ruminant meat has been criticised for nutritional reasons due to its contribution to the total intake of saturated fatty acids (SFA), which are associated with the incidence of metabolic diseases.

The purpose of this work was to characterise the profile of FA, in particular *trans* fatty acids (TFA), in the meat of Portuguese beef breeds or produced and marketed in Portugal. The samples of certified and non-certified beef, analysed in the study were purchased from commercial surfaces in Lisbon, and the lipids were extracted using dichloromethane and methanol, then combined transesterification was carried out and the FA in the form of methyl esters were analysed by gas chromatography with flame ionisation detection. Statistical analysis was carried out using the SAS 9.4 program, through the mixed model where the origin of the meat was the only fixed factor.

The results obtained from certified and non-certified beef from the Lisbon region showed that both the lipid content and the composition in FA are variable between origins, and between meats of the same origin. The main fatty acids found in beef were the SFA, followed by *cis*-configured monounsaturated fatty acids (MUFA), omega-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) and *trans* fatty acids (TFA). The Açores meats had a more beneficial profile for human health in terms of *trans* fatty acids (TFA) and omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) but had a lower content of 18:1 *trans*-10 than the undifferentiated meats or meat from Carnalentejo. These differences are influenced by intrinsic and extrinsic factors of the animal.

Key words: Beef, fatty acids, saturated and *trans* fatty acids.

Índice

Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Definição e nomenclatura dos ácidos gordos	3
2.2. Ácidos gordos <i>trans</i> nos alimentos	4
2.3. Efeitos dos ácidos gordos <i>trans</i> na saúde	6
2.4. Recomendações nutricionais.....	7
2.5 Consumo e produção de carne bovino	9
2.6. Qualidade e composição química da carne	10
2.6.1. Perfil em ácidos gordos da carne.....	11
2.7. Metabolismo lipídico em ruminantes.....	12
2.7.1. Processos digestivos no rúmen	12
2.7.2. Absorção e transporte dos lípidos.....	15
2.7.3. Deposição de ácidos gordos no músculo.....	15
2.8 Fatores que influenciam o perfil em ácidos gordos <i>trans</i> da carne de bovino	17
2.8.1. Sistema de produção.....	17
2.8.2. Fatores genéticos	18
3. OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo Geral	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Recolha de amostras.....	20
4.2. Preparação das amostras de carne	20
4.3 Extração de lípidos de amostras liofilizadas	21
4.4 Transesterificação combinada	22
4.5 Análise por cromatografia gasosa.....	23
4.6 Cálculos e análise estatística.....	24
5. RESULTADOS	25
5.1 Lípidos totais da carne de bovino	25
5.2 Ácidos gordos na carne de bovino.....	26
5.3. Ácidos gordos <i>trans</i> na carne de bovino	29
5.4 Outros somatórios, rácios, e índices de interesse nutricional.....	30
6. DISCUSSÃO	32
6.1 Gordura intramuscular na carne de bovino	32
6.2 Composição em ácidos gordos da carne de bovino.....	33

6.3	Avaliação nutricional dos ácidos gordos da carne de bovino	36
7.	CONCLUSÃO.....	39
8.	REFERÊNCIAS.....	40
9.	ANEXOS	46

Lista de figuras

Figura 1. Distribuição relativa de isómeros 18:1- <i>trans</i> em A) gorduras parcialmente hidrogenadas e gorduras de ruminantes, e em B) carne de bovino de animais alimentados a concentrado ou predominante a pastagem (adaptado de Aldai et al. 2013).	6
Figura 2. Tendências temporais do consumo de AG <i>trans</i> em populações de 20 países. Símbolos no eixo do tempo referem-se ao ano da introdução de reduções voluntárias (*), rotulagem obrigatória (+) ou limites obrigatórios (^) para reduzir o consumo de AG <i>trans</i> . As linhas a tracejado no eixo-y representam o nível máximo recomendado de ingestão de gordura <i>trans</i> pela OMS. Figura (adaptada de Wanders et al. 2017).	8
Figura 3. Logótipos de identificação de produtos agrícolas certificados – DOP, IGP e ETG (da esquerda para a direita).	10
Figura 4. Consumo de carne bovina em Portugal	10
Figura 5. Vias da biohidrogenação ruminal do ácido linoleico (18:2n-6) e ácido linolénico (18:3n-3) em condições normais (linhas pretas) ou em condições com alteração das vias de biohidrogenação principais (linha tracejada) (adaptado de Alves and Bessa 2014)	14
Figura 6. Embalagens a vácuo das amostras da carne bovina	20
Figura 7. Processo de preparação de amostra e extração de lípidos. Liofilização (A), picagem da carne (B), pesagem para tubos (C), banho de ultrassons (D), centrifugação (E) e evaporação do solvente em evaporador rotativo (F).....	22
Figura 8. Transesterificação combinada. Banho a 50°C (A), banho a 80°C (B) e evaporador de corrente de azoto (C).	23
Figura 9. Análise Cromatográfica Gasosa.....	24

Lista de tabelas

Tabela 1. Nomes sistemáticos, comuns e abreviaturas de alguns ácidos gordos relevantes (Adaptado de Christie 2012).	4
Tabela 2. Composição em ácidos gordos (g/100 g total AG) das carnes de bovino.	27
Tabela 3. Classes de AG em mg/100g carne, índices e rácios de AG nas carnes de bovino de acordo com a origem.	31

Lista de gráficos

Gráfico 1. Teor de gordura intramuscular (g/100 g de carne) da carne de bovino Açores IGP (A), Carne Alentejana DOP (B), Mertolenga DOP (C) e Indiferenciada (D).....	25
Gráfico 2.: Distribuição percentual das classes de ácidos gordos (% do total de AG) das carnes de bovino analisadas.	26
Gráfico 3. Ácidos gordos <i>trans</i> (mg/100g de carne) na carne de bovino de acordo com a origem	29
Gráfico 4. Teor (mg/100 g de carne) e proporção (g/100g AG) de 18:1 <i>trans</i> -10 e 18:1 <i>trans</i> -11 em cada uma das carnes analisada.....	30

Lista de abreviaturas, símbolos e unidades

Δ – Delta;

α - Alfa

DNA - Ácido desoxirribonucleico;

AG - ácidos gordos;

AGI – ácidos gordos insaturados;

AGMI – ácidos gordos monoinsaturados;

AGPI – ácidos gordos polinsaturados;

AGS – ácidos gordos saturados;

AGV - ácidos gordos voláteis;

BH - bio-hidrogenação;

BSE - encefalopatia espongiforme bovina (Bovine Spongiform Encephalopathy);

CLA – ácido linoleico conjugado (Conjugated Linoleic Acid);

DCV -Doenças Cardiovasculares;

DFD - escuro, firme e seco (Dark, Firm, Dry);

DOP – Denominação de Origem Protegida;

ETG - Especialidade Tradicional Garantida;

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (Food and Agriculture Organization);

FL – fosfolípidos;

HDL - Lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoprotein);

IGP - Indicação Geográfica Protegida;

IMF - gordura intramuscular (intramuscular fat);

INE, PT - Instituto Nacional de Estatística Português;

IUPAC - União internacional da Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry);

LDL - Lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoprotein);

LA - ácido linoleico (linoleic acid);

LT – Lípidos totais;

MS - Matéria seca;

NL - Lípidos neutros;

PL – Lípidos polares;

PSE - pálida, macia e exsudativa (Pale, Soft, Exudative);

TAG – Triacilgliceróis;

v/v – Volume/volume;

UE - União Europeia;

VLDL - lipoproteínas de muito baixa densidade (very low density lipoprotein);

WBC- Capacidade de retenção de água (Water Binding Capacity);

1. INTRODUÇÃO

O teor de gordura e a composição de ácidos gordos (AG) da carne bovina é um aspeto que os consumidores consideram importante, pois se concentra na relação existente entre a dieta e a saúde, onde a composição das gorduras ingeridas está geralmente relacionada com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Aldai et al. 2009). De facto, a carne de ruminantes tem sido criticada por razões nutricionais, na maioria das vezes devido à sua contribuição para a ingestão total de ácidos gordos saturados (AGS), os quais estão associados à maior incidência de doenças metabólicas relacionadas com o aumento de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue. Por outro lado, a carne bovina para além de ser uma importante fonte de energia, proteína de alta digestibilidade, e micronutrientes, é também uma relevante fonte de AG *trans*, que podem suscitar efeitos biológicos distintos (Mapiye et al. 2015; Francisco et al., 2016).

As preocupações com a saúde devido ao consumo de dietas com um elevado teor em AG *trans*, em particular os ácidos *trans*-octadecenóicos (18:1-*trans*), está associada ao aumento dos marcadores de doença coronária, fazendo com que haja intervenções para reduzir o seu consumo em alguns países (Roe et al. 2012). A presença de 18:1-*trans* nos alimentos pode ter duas origens distintas, origem industrial resultante da hidrogenação parcial dos óleos vegetais, ou podem ser naturalmente produzidos nos ruminantes através do processo de biohidrogenação ruminal dos ácidos gordos polinsaturados (AGPI), e encontrados na carne, leite e seus derivados. Os AG *trans* de origem industrial são os que estão mais associados ao aumento do risco de desenvolvimentos de diversas doenças. No caso dos ácidos gordos *trans* de origem natural, alguns como o ácido vacénico (18:1*trans*-11) não se enquadra nos ácidos gordos *trans* com efeitos deletérios à saúde. Para além disso, o ácido vacénico pode ser convertido em ácido ruménico (18:2*cis*-9, *trans*-11) nos tecidos. O ácido ruménico é um ácido linoleico conjugado (CLA) com efeitos biológicos benéficos à saúde humana, incluindo propriedades anticancerígenas (Chardigny et al. 2008).

No entanto, o perfil em AG da carne de ruminantes depende do sistema de produção e da alimentação dos animais. Nos animais em pastoreio ou alimentados com forragens, o principal AG *trans* encontrado na carne é geralmente o 18:1*trans*-11, já nos produzidos em sistemas intensivos e alimentados com dietas ricas em amido, o principal AG *trans* na carne é o 18:1*trans*-10, o qual apresenta efeitos biológicos semelhantes ao produzidos industrialmente. Contudo as gorduras edíveis dos ruminantes são a principal fonte natural de isómeros CLA, sendo os isómeros bioativos (*cis*-9,*trans*-11 e *trans*-10,*cis*-12) associados a propriedades potencialmente benéficas para a saúde humana (Wood 2017). O sistema de produção influencia também o teor em AGPI na carne de bovino, em particular o ácido α -linolénico (18:3n-3), uma vez que este é mais abundante nas pastagens e forragens. O 18:3n-3, se escapar à biohidrogenação ruminal,

poderá ser convertido nos tecidos em uma série de AGPI de cadeia mais longa, dos quais os mais importantes é o ácido eicosapentaenóico (20:5n-3, EPA), precursor de eicosanóides com propriedades anti-inflamatórias, e o ácido docosahexaenóico (22:6n-3, DHA), bastante importante para o funcionamento do sistema nervoso central e a atividade visual (Ulbricht e Southgate1991).

A carne de bovino tem papéis distintos de segurança alimentar e nutricional nos países desenvolvidos ou em desenvolvimento. De facto, nos países em desenvolvimento, onde as dietas humanas típicas são baseadas em cereais ou raízes, a carne bovina complementa o alimento básico, fornecendo nutrientes essenciais que faltam nos alimentos de origem vegetal, sendo importante para reduzir as doenças causadas por deficiências em proteínas e micronutrientes. Nos países mais desenvolvidos a crescente preocupação dos consumidores com as questões ambientais e do bem-estar animal tem levado à redução no consumo de carne de bovino relativamente a outras espécies. Assim, as diferentes tendências nos padrões de consumo de carne têm repercussões para a nutrição e saúde dos consumidores em diferentes países, dado o papel da carne e dos nutrientes que ela contém na manutenção da saúde e na etiologia de várias doenças (Wood 2017). Embora o papel da carne na dieta e a compreensão do seu impacto na saúde e na doença tem continuado a evoluir, e é muitas vezes contestado, os produtores, processadores e investigadores têm continuado a concentrar-se em satisfazer as expectativas dos consumidores em qualidade alimentar e as suas necessidades nutricionais, fornecendo uma carne ou produtos cárneos densos em nutrientes que podem ser incorporados numa dieta saudável e equilibrada (Gehring 2017).

Tendo em conta a importância da carne bovina na dieta alimentar da maioria da população portuguesa, e as preocupações com a saúde relacionado ao consumo da carne, este trabalho tem como objetivo caracterizar o perfil dos AG, em particular AG *trans*, na carne de raças bovinas portuguesas ou produzidas e comercializadas em Portugal. Assim, com este trabalho vai-se averiguar se, dentro na amostragem realizada, a carne bovina apresenta um perfil em AG mais ou menos benéfico à saúde humana.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definição e nomenclatura dos ácidos gordos

Os principais componentes dos lípidos são os ácidos gordos (AG), compostos que contêm uma cadeia alifática com um grupo de ácido carboxílico. A maioria dos AG na natureza tem um número par de carbonos em uma cadeia linear por causa do processo biológico de alongamento dos AG, onde dois carbonos são adicionados de cada vez. Exceções de AG com números ímpares de carbono e cadeias ramificadas podem ser encontradas em fontes como microrganismos ou gorduras de ruminantes (Fennema et al.2007).

Nas cadeias de átomos de carbono ocorrem as ligações simples ou ligações duplas entre carbonos, o que permite agrupar os AG em três tipos principais: ácidos gordos saturados (AGS), ácidos gordos monoinsaturados (AGMI) e ácidos gordos polinsaturados (AGPI) (David et al. 2013).

Os AGS, são moléculas de cadeia linear não ramificadas com variável número de átomos de carbono, não possuem dupla ligação entre os seus átomos de carbono ou outro grupo funcional ao longo da cadeia carbonada. O termo "saturado" refere-se ao hidrogénio, ou seja, um AGS é aquele no qual todos os carbonos (da cadeia de hidrocarbonetos) estão ligados a dois hidrogénios, exceto ao último carbono que deve estar ligado a três hidrogénios. Os AG que contêm ligações duplas em sua cadeia alifática são chamados de ácidos gordos insaturados (AGI). Os AGI seguem o mesmo padrão dos ácidos gordos saturados, exceto pela existência de uma ou mais duplas ligações ao longo da cadeia carbonada, e na base do número de ligações duplas, os termos di-, tri-, tetra- e assim por diante são adicionados. As posições das ligações duplas poderão ser numeradas pelo sistema delta (Δ) que indica a posição das ligações duplas da extremidade do ácido carboxílico do ácido gordo. Por exemplo, o ácido oleico, que tem 18 carbonos e uma ligação dupla, seria o ácido Δ^9 -octadecenóico (Belitz et al.2009).

Os AGI podem ser subdivididos em AGMI ou AGPI, consoante apresentem 1 ou mais de 1 dupla ligação ao longo da cadeia carbonada, respetivamente. A configuração natural das ligações duplas em AGI é a configuração *cis*, em que os carbonos da cadeia alifática estão no mesmo lado da ligação dupla, embora existam AG com duplas ligações de configuração *trans*, muitos destes são produzidos no rúmen durante o processo de biohidrogenação dos AGPI ou gerados durante hidrogenações parciais durante o processamento industrial dos óleos vegetais. Os AGI mais abundantes nos tecidos de origem animal e vegetal são compostos de cadeias com 16 ou 18 átomos de carbono, mas AG análogos com 10 a 36 átomos de carbono foram também encontrados na natureza na forma esterificada (Christie 2012).

A nomenclatura simplificada dos AG inclui o número de carbonos da cadeia e o número de insaturações separada por dois pontos (exemplo: 16:0, no caso de AG com cadeia linear de 16 carbonos e nenhuma insaturação). A posição das duplas ligações nos AG é identificada pela

configuração *cis* (*c*) ou *trans* (*t*) seguida do número do carbono onde ocorre a insaturação contada a partir do grupo carboxílico. Em alternativa pode-se utilizar a nomenclatura “ômega-X” ou “n-X” para AG com insaturações *cis*, onde X é o número do carbono onde ocorre a primeira dupla ligação contada a partir do final da cadeia carbonada (Exemplo: ácido linoleico, 18:2 *cis*-9, *cis*-12 ou 18:2n-6), os nomes de alguns dos AG relevantes são apresentados na Tabela 1 (Christie 2012).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (em inglês, International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), padronizou descrições sistemáticas de AG e o sistema IUPAC nomeia o hidrocarboneto original do AG com base no número de carbonos (por exemplo, dez carbonos seriam decano). O AG que contém um grupo de ácido carboxílico, o terminal e no nome do hidrocarboneto é substituído por oico (por exemplo, decanóico), e nomes comuns para a maioria dos AG de número par e de número ímpar. O sistema numérico pode ser usado para nomes abreviados, onde o primeiro número neste sistema designa o número de carbonos nos AG, enquanto o segundo número designa o número de ligações (por exemplo, hexadecanóico = palmítico = 16:0), este segundo número sempre será zero para os AGS (Fennema et al. 2007).

Tabela 1. Nomes sistemáticos, comuns e abreviaturas de alguns ácidos gordos relevantes (Adaptado de Christie 2012).

Nome Sistemático	Nome comum	Abreviatura
Butanóico	Butírico	C4:0
Hexanóico	Capróico	C6:0
Octanóico	Caprílico	C8:0
Decanóico	Cáprico	C10:0
Dodecanóico	Láurico	C12:0
Tetradecanóico	Mirístico	C14:0
hexadecanóico	Palmítico	C16:0
Octadecanóico	Estearico	C18:0
Eicosanóico	Araquídico	C20:0
9-Hexadecenóico	Palmitoleico	C16:1 n-7
<i>cis</i> -9-Octadecenóico	Oleico	C18:1 n-9
<i>trans</i> -9-Octadecenóico	Elaídico	C18:1 t9
<i>cis</i> -9,12-Octadecadienóico	Linoleico	C18:2 n-6
<i>trans</i> -9,12-Octadecadienóico	Linolelaídico	C18:2 t9,t12
6,9,12-Octadecatrienóico	Gama-Linolénico	C18:3 n-6
9,12,15-Octadecatrienóico	Alfa-Linolénico	C18:3 n-3
<i>cis</i> -11-Eicosenoico	Gadoleico	C20:1
5,8,11,14-Eicosatetraenóico	Araquidónico	C20:4 n-6
5,8,11,14,17-Eicosapentenóico	EPA	C20:5 n-3
4,7,10,13,16,19-Docosahexenóico	DHA	C22:6 n-3
12-Tetracosenóico	Nervónico	C24:1

Quando não especificado, a configuração de ligação dupla é *cis*

2.2. Ácidos gordos *trans* nos alimentos

Os ácidos gordos *trans* são isómeros geométricos de AGI, com pelo menos uma ligação dupla de configuração *trans*, e que não são sintetizadas pelo organismo humano. As duas fontes principais de AG *trans* são as que são produzidas industrialmente através da hidrogenação química parcial de óleos vegetais na presença de um catalisador e os que são produzidos nos

ruminantes (biohidrogenação ruminal dos AGI) de ocorrência natural. Ácidos gordos *trans* poderão também ser formados através do processamento envolvendo calor, ou formados sinteticamente para serem utilizados em suplementos alimentares (Roe et al. 2012).

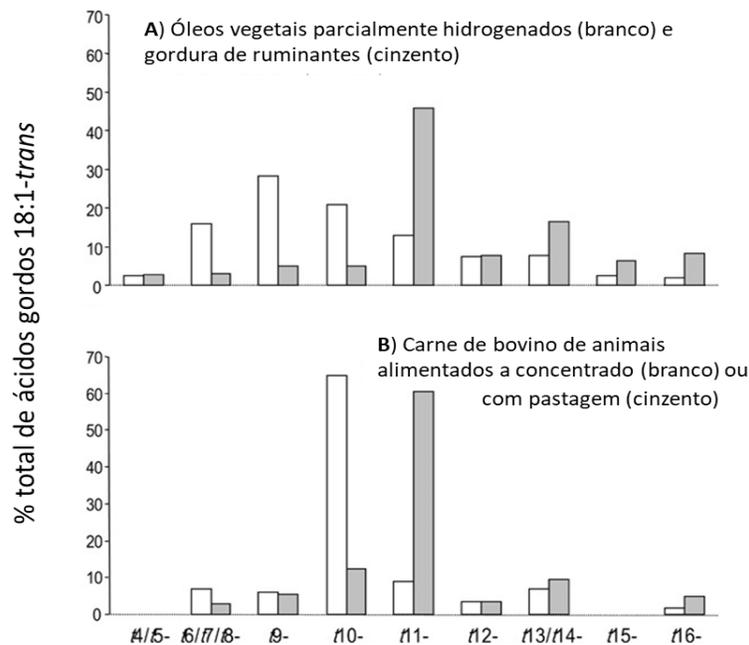
A hidrogenação catalítica dos óleos vegetais é utilizada na indústria para alteração das propriedades físicas dos óleos, resultando em gorduras sólidas à temperatura ambiente, e para conferir maior estabilidade das gorduras à oxidação, permitindo um maior prazo de validade dos produtos comerciais. O teor e o perfil de AG *trans* nos óleos hidrogenados é variável de acordo com o óleo ou a tecnologia de produção utilizada (pode variar entre 10 à 40% ácidos gordos-*trans*) mas a maioria são isómeros 18:1 (Aldai et al. 2013). No estudo realizado em Portugal em 268 amostras de alimentos processados, incluindo margarinas, produtos de panificação, batatas fritas, molhos entre outros, verificou-se que a categoria de bolachas apresentou o valor médio mais elevado de AG *trans* (3,4% do total de gordura) seguido da categoria de pastelaria (2%) e o valor médio mais baixo foi verificado na categoria de batatas fritas (0,6%) (Costa et al. 2015).

Nos produtos derivados dos ruminantes, como a carne, o leite ou derivados, o teor em AG *trans* é muito variável uma vez que depende de diversos fatores associados à dieta dos animais, à espécie e ao metabolismo lipídico ruminal, que serão explicados na secção 2.7. Dados do teor e composição de AG em carne de borrego ou bovino no mercado português é limitada, no entanto nos mercados norte americano ou espanhol, observou-se que o total de AG *trans* variava entre 4,8%-10,6% e 2,7%-4,5% do total de gordura, respetivamente (Aldai et al. 2013).

Dentro dos AG *trans* nos alimentos com óleos vegetais parcialmente hidrogenados, o ácido elaídico, que é derivado do ácido oleico, é o principal isómero *trans* (Gebauer e Baer 2013) (Figura 1, painel A). Por outro lado, o perfil em AG *trans* nos alimentos derivados dos ruminantes, como a carne, leite e derivados, difere do dos óleos parcialmente hidrogenados, como mostra a Figura 1. Nos ruminantes também se verifica que o perfil em isómeros 18:1-*trans* é influenciado pela dieta que é fornecida ao animal (Figura 1, painel B).

Para além dos isómeros octadecenóicos, os produtos derivados dos ruminantes são fonte natural de AG *trans* polinsaturados, como os isómeros de CLA, particularmente o isómero CLA-*cis*-9, *trans*-11 (Fristsche e Steinhart 1998). Dentro dos produtos dos ruminantes o leite é a melhor fonte de CLA, e o CLA-*cis*-9, *trans*-11 pode representar mais de 2% do total de ácidos gordos em animais em pastoreio (Shingfield et al. 2013). A concentração do total de CLA na carne de borrego ou bovino do retalho, em levantamentos realizados no Canadá ou em Espanha, varia entre 0,6-1,4 e 0,3-0,8 % do total de gordura (Vahmani et al. 2020). A inclusão de óleos vegetais nas dietas dos ruminantes pode exacerbar ainda mais o teor em CLA-*cis*-9, *trans*-11 ou noutros isómeros no leite e na carne (Vahmani et al. 2020).

Figura 1. Distribuição relativa de isômeros 18:1-*trans* em A) gorduras parcialmente hidrogenadas e gorduras de ruminantes, e em B) carne de bovino de animais alimentados a concentrado ou predominante a pastagem (adaptado de Aldai et al. 2013).



2.3. Efeitos dos ácidos gordos *trans* na saúde

Existem diferenças na distribuição dos AG *trans* de fontes industriais e animais ruminantes, o que se traduz em efeitos diferentes sobre a saúde humana. Vários estudos têm demonstrado os efeitos deletérios dos AG *trans* produzidos industrialmente sobre o risco de doenças crónicas, incluindo doenças cardiovasculares, aumento de lípidos no sangue, stress oxidativo, peso corporal, sensibilidade à insulina e cancro (Gebauer e Baer 2013). De facto, está demonstrado que os AG *trans* de origem industrial aumentam os níveis de colesterol-LDL, um biomarcador bem aceite para o risco de doenças cardiovasculares, e diminui os níveis de colesterol-HDL, que levam o colesterol das artérias e o transportam para o fígado. Dietas ricas em AG *trans* aumentam o risco de doença cardíaca, mas substituir os AG *trans* por AGI-*cis* na dieta, diminui este risco, em parte, melhorando os efeitos negativos das gorduras *trans* nos lípidos do sangue. Além disso, existem indicações de que a gordura *trans* pode aumentar os marcadores de inflamação e a disfunção endotelial (Gebauer e Baer 2013).

Contudo, os efeitos dos AG *trans* de ruminantes sobre a saúde não têm sido bem estudados. Atualmente os estudos epidemiológicos demonstram as diferenças entre AG *trans* produzidos industrialmente e ruminantes, mas os estudos clínicos que comparam as duas fontes de AG *trans* são limitados (Gebauer e Baer 2013; Ferlay et al. 2017). O projeto TRANSFACT foi dos poucos a comparar diretamente os efeitos biológicos dos alimentos contendo AG *trans* de origem industrial com os de fontes naturais nos marcadores de risco de doenças cardiovasculares

(Chardigny et al. 2008). Este estudo demonstrou que existem diferentes efeitos sobre os fatores de risco de CVD entre as duas fontes de AG *trans*, nomeadamente a redução do colesterol-HDL parece ser específica dos AG *trans* proveniente de fontes industriais (Chardigny et al. 2008).

Os diferentes efeitos biológicos dos AG *trans* de origem industrial ou natural está relacionada com o diferente perfil em AG *trans*, sendo que os produtos derivados dos ruminantes incluídos no projeto TRANSFACT ou noutros estudos, contêm o ácido 18:1*trans*-11 como o principal AG *trans*. Entretanto, muitos estudos com animais ou culturas de células observaram efeitos positivos para a saúde do isómero 18:1*trans*-11, incluindo efeitos anti-inflamatórios, anticancerígenos, anti-ateroscleróticos e antidiabéticos. Contrariamente, o 18:1*trans*-9 e o 18:1*trans*-10 foram consistentemente associados a efeitos negativos à saúde em modelos animais e humanos (Mapiye et al. 2015). Curiosamente, são estes AG *trans* que predominam nas gorduras parcialmente hidrogenadas, e também nos produtos de ruminantes alimentados com alimentos compostos (concentrados) (Figura 1).

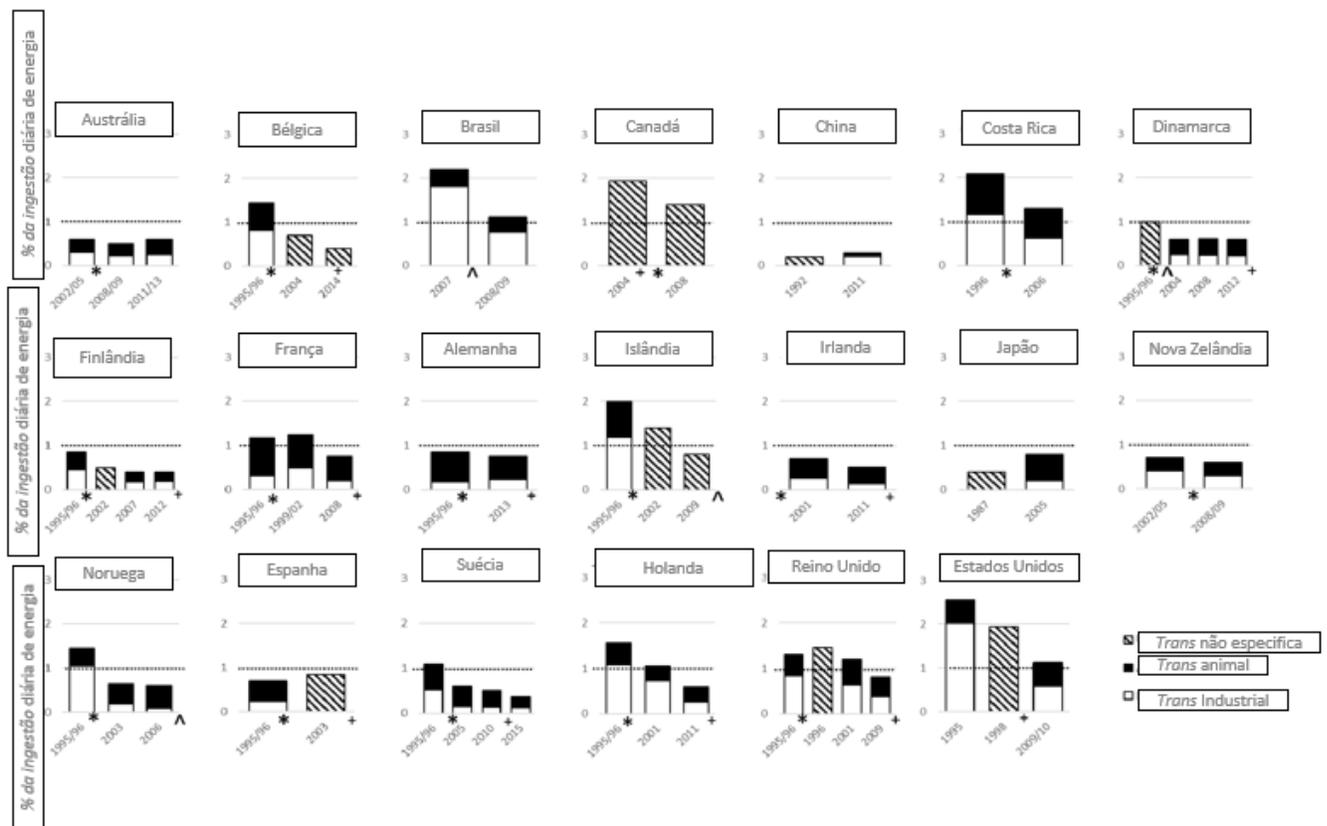
2.4. Recomendações nutricionais

Atualmente existe uma maior consciência pública dos efeitos adversos para a saúde dos AG *trans*, e os governos têm regulamentado sobre a matéria. Estas regulamentações incluem legislação obrigatória ou voluntária para limitar ou declarar o teor em AG *trans* nos alimentos (Kuhnt et al. 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o consumo de AG *trans* de origem industrial deve ser limitado a menos de 1% do consumo global de energia, o que se traduz em menos de 2,2 g/dia em uma dieta de 2.000 calorias (Kuhnt et al. 2016). Numerosas outras organizações nacionais e internacionais recomendam que o consumo de gordura *trans* seja tão baixo quanto possível, e neste sentido a eliminação total dos AG *trans* de origem industrial nos alimentos tem sido recomendada e implementada nalguns países (Gebauer e Baer 2013). Recentemente a OMS lançou um programa de certificação para eliminação de AG *trans*, que visa reconhecer os países que eliminaram os AG *trans* produzidos industrialmente das suas fontes alimentares (WHO 2020). Este é o primeiro programa de certificação que reconhecerá os países por seus esforços para eliminar um dos principais fatores de risco para doenças não transmissíveis e proteger suas populações da morte prematura. Na União Europeia um novo Regulamento (UE) nº 649/2019) da Comissão de 24 de Abril de 2019, referente aos limites máximos de AG *trans* nos alimentos destinados ao consumidor final e nos alimentos destinados ao abastecimento do comércio retalhista, estabelece que os AG *trans* não podem exceder 2g por 100g de lípidos, com exceção dos AG *trans* naturalmente presentes em lípidos de origem animal. A adoção deste regulamento foi aplicada a todos os países da União Europeia a partir de 2 de Abril de 2021 com o objectivo de proteger a saúde dos consumidores e fornecer opções alimentares mais saudáveis aos cidadãos europeus. Ainda assim, a legislação europeia não inclui

a obrigatoriedade de apresentar a quantidade de AG *trans* na declaração nutricional dos alimentos pré-embalados, sendo apenas de carácter facultativo (Jornal Oficial da União Europeia 2019), contrariamente a países como os EUA (FDA 2003) ou o Canadá, que inclui os AG *trans* no somatório dos AGS (Government of Canada 2021).

A crescente preocupação com os efeitos dos AG *trans* na saúde humana e as consequentes limitações voluntárias ou obrigatórias dos AG *trans* de origem industrial nos alimentos, tem originado a que o consumo em AG *trans* tenha diminuído nas últimas décadas em muitos países, ficando mesmo abaixo dos limites máximos recomendados, conforme mostra a Figura 2. Em Portugal, de acordo com o (Lopes et al. 2015-2016), o consumo médio diário de AG *trans* pela população portuguesa é inferior a 1% do valor energético total diário, representando uma ingestão média de 0,8 g de AG *trans*/dia, sendo que os alimentos que mais contribuem para esta ingestão são os produtos lácteos (35,5%), carne, pescado e ovos (21%), bolachas, bolos e doces (18,9%), óleos e gorduras (15,9%), e snacks, salgados e pizzas (4,0%). Assim, prevê-se que o consumo em AG *trans* na população portuguesa seja predominantemente de origem natural.

Figura 2. Tendências temporais do consumo de AG *trans* em populações de 20 países. Símbolos no eixo do tempo referem-se ao ano da introdução de reduções voluntárias (*), rotulagem obrigatória (+) ou limites obrigatórios (^) para reduzir o consumo de AG *trans*. As linhas a tracejado no eixo-y representam o nível máximo recomendado de ingestão de gordura *trans* pela OMS. Figura (adaptada de Wanders et al. 2017).



2.5 Consumo e produção de carne bovino

A carne bovina é um músculo que é formado por fibras contráteis altamente especializadas unidas numa rede complexa de tecido conjuntivo, que se funde em cada extremidade para formar tendões e aderências ligadas direta ou indiretamente aos ossos (Bote 2017). A carne é composta por proteínas e aminoácidos essenciais (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina), minerais, gorduras e AG, vitaminas e outros componentes bioativos, e pequenas quantidades de hidratos de carbono. A carne é uma fonte relativamente concentrada de proteína em comparação com muitos alimentos vegetais. A carne crua contém cerca de 20 e 22g de proteína/100 g, enquanto a carne cozinhada contém aproximadamente 26 e 35 g de proteína/100 g de produto cozinhado, e a digestibilidade é cerca de 95%, e a proteína contém os aminoácidos essenciais (Gehring 2017; FAO 2019). O facto da carne ser uma fonte de concentrada de proteína e fornecer ferro heme, vitamina B12, e muitos outros minerais e vitaminas importantes torna-a um valioso componente dietético ajudando a garantir que nutrientes essenciais estão a ser fornecidos para apoiar o crescimento e a manter as funções fisiológicas (Gehring 2017).

A crise da encefalopatia espongiforme bovina (BSE), que ocorreu na Europa e em Portugal fez com que o consumo de carne bovina diminuísse e que as raças autóctones voltassem a estar em foco, pela sua capacidade de resistência às doenças e às agressões dos fatores climáticos lhe confere a designada rusticidade e um poder de competição importante (Esteves 2016).

A produção de bovinos de carne em Portugal realiza-se tradicionalmente em explorações especializadas na produção de vitelos como cria e em explorações de recria e engorda de acordo com o (GPP 2020). Na cadeia de valor de carne de bovino podemos distinguir três diferentes sectores económicos presentes na elaboração do produto, sendo eles: o sector da produção, composto por explorações agrícolas que criam gado bovino; o sector da transformação, composto por intermediários que adquirem o gado bovino aos criadores fazendo eventualmente alguma engorda, o abate dos animais e a desmancha das carcaças em peças; e o sector da distribuição composto pela distribuição grossista e pelos comerciantes que vendem o produto final ao consumidor (GPP 2020). A produção de carne de bovino em Portugal tem a sua maior expressão no Norte do país, e no Alentejo, mas apesar de ter sofrido algumas oscilações ao longo dos anos, o subsector da produção de carne de bovino em Portugal representou cerca de 10% da produção de carne em 2019, correspondendo a 92 mil toneladas de carne de bovina produzida (INE 2019).

Relativamente à produção de carne de bovino sob a Denominação de Origem Protegida (DOP) e Indicação geográfica protegida (IGP), esta corresponde apenas a 3% da produção total de carne de bovino em Portugal, mas com um valor de produção de 9 407 976 euros (DGADR

2019). No mercado português a indústria de carne bovina rege-se pelos sistemas de proteção e valorização dos produtos agroalimentares através do Regulamento (CE) N° 510/2006 relativo a DOP e IGP, e o Regulamento (CE) N° 509/2006 relativo à ETG, onde os produtos que apresentam características organoléticas e de qualidade únicas. Das carnes produzidas sobre estas designações a Carnalentejana DOP, Carne dos Açores IGP, Carne Mirandesa DOP e Carne Mertolenga DOP são as que apresentam maior expressão com totais de produção de carcaças de aproximadamente 721, 625, 310 e 285 toneladas, respetivamente.

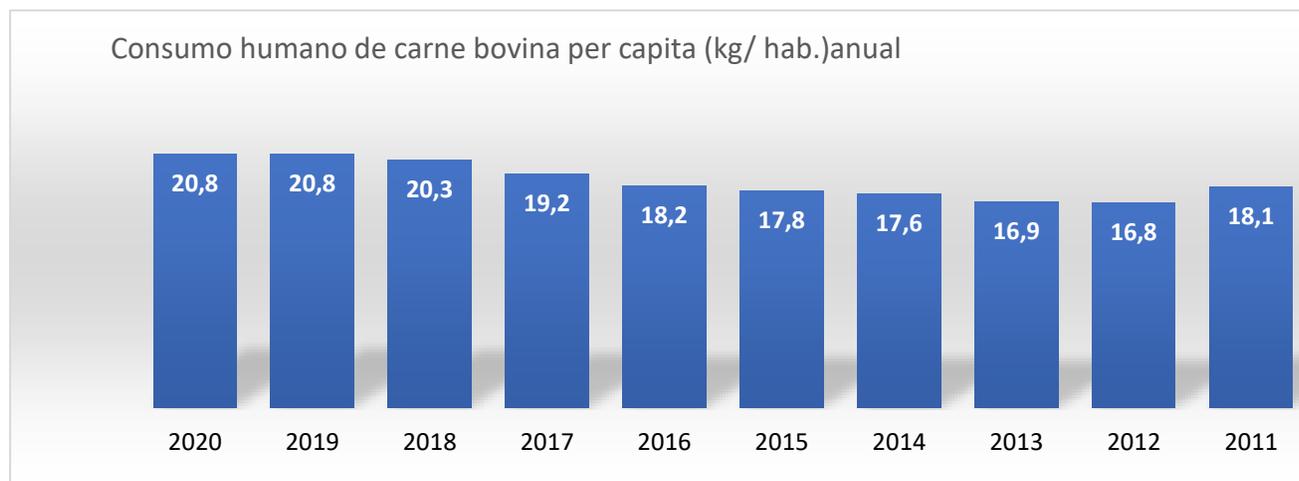
Figura 3. Logótipos de identificação de produtos agrícolas certificados – DOP, IGP e ETG (da esquerda para a direita).



Fonte: Comissão Europeia, sem data.

O consumo de carne bovina em Portugal tem vindo a registar um aumento desde o ano 2013, onde consumo per capita era de 16,9 kg/hab., e em 2019 foi de 20,8 kg/hab., tendo-se mantido no ano 2020 segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE 2021).

Figura 4. Consumo de carne bovina em Portugal



* Última atualização destes dados foi a 28 de maio de 2021
 Fonte: INE, 2021

2.6. Qualidade e composição química da carne

Na qualidade da carne existe dois aspetos a destacar, a qualidade nutricional que é objetiva e a qualidade alimentar tal como percebida pelo consumidor através do sabor, suculência, maciez e cor que são factos subjetivos. Outras diferenças consideráveis entre as

preferências da qualidade dos indivíduos variam entre os cortes da carne, magra ou gorda, carne muscular ou de órgão, e pelos métodos de cozedura (FAO 2014).

Nos países industrializados, a qualidade pode ser particular para uma gama de produtos da indústria de transformação de carne, que ditam a raça, alimentação e gestão dos animais com criação intensiva e suplementação alimentar e uma tendência para o abate mais cedo. Por outro lado, nas regiões em desenvolvimento os animais vivem em condições variáveis, muitas vezes de pastagem, utilizados para a tração e crescem lentamente, produzindo animais mais velhos para abate. Os animais velhos produzem carne menos suculenta e de uma qualidade que difere consideravelmente da exigida nos países industrializados (FAO 2019).

Após o abate o glicogénio no músculo é convertido em ácido láctico causando uma queda no pH de um valor inicial de pH 6,8 - 7,3 para cerca de 5,4 - 5,8 a rigor mortis. Se os animais são stressados imediatamente antes do abate como quando são manuseados ou lutam entre si, o glicogénio muscular é libertado para a corrente sanguínea e, após o abate é rapidamente decomposto em ácido láctico enquanto a carcaça ainda está quente. O nível de acidez causa uma quebra parcial da estrutura muscular que resulta em carne pálida, macia e exsudativa (denominada PSE), uma condição que ocorre principalmente nos suínos. A carne perde alguma da sua capacidade de ligação à água, que é tão importante em certos tipos de processamento de carne. O stress a longo prazo antes do abate ou da fome consome o glicogénio de modo que se forme menos ácido láctico após o abate, resultando numa condição muscular anormal em que permanece vermelho-púrpura escuro na exposição ao ar, em vez de uma cor vermelha brilhante, a isto chama-se escuro, firme e seco (DFD). Esta carne e os produtos feitos com ela têm um pH acima de 6,0 e deterioram-se rapidamente, uma vez que a baixa acidez favorece o rápido crescimento bacteriano (Warner 2017).

O valor nutricional da carne está relacionado com a sua composição em termos de proteínas, energia, gordura, AG, minerais e vitaminas. Existem várias bases de dados, que descrevem as concentrações de nutrientes em cortes típicos de carne. A sua composição é aproximada a 75% da água, 19% das proteínas, 3,5% das substâncias solúveis, não proteicas, incluindo os compostos inorgânicos, e 2,5% da gordura, boa fonte de ferro, zinco e várias vitaminas B, a quantidade de hidratos de carbono na carne é muito baixa (0,2% e 0,4% de peso), e o fígado é uma fonte muito rica de vitamina A (Bote 2017).

2.6.1. Perfil em ácidos gordos da carne

Os AG na carne estão localizados no tecido adiposo e no músculo, em gordura intramuscular e nas membranas celulares. No tecido adiposo encontram-se sobretudo nos triacilgliceróis (TAG) em que os três AG estão esterificados ao glicerol, e são geralmente

denominados de lípidos neutros (NL). Nas membranas celulares, os AG estão contidos em fosfolípidos (FL) os quais dois AG estão esterificados ao glicerol e a terceira posição é ocupada por um grupo que contém fosfato. Os FL são lípidos polares e encaixam para formar uma parte importante de todas as membranas celulares (Wood 2017).

O perfil em AG na carne de ruminantes é mais complexo comparativamente com o perfil em AG da carne de aves ou suínos devido ao metabolismo lipídico ruminal dos AG insaturados provenientes da dieta. Assim, a carne de ruminantes é caracterizada por conter uma variável quantidade de AGS e AG *trans*, incluindo um complexo perfil em isômeros 18:1 *trans* e isômeros de CLA, como o CLA-*cis-9,trans-11* (Wood 2017).

2.7. Metabolismo lipídico em ruminantes

O metabolismo lipídico desempenha um papel dinâmico e crítico durante o crescimento dos animais ruminantes, os quais possuem adaptações digestivas e metabólicas que fazem com que sejam animais altamente diferenciados, possuindo uma grande relação de simbiose com a comunidade microbiana anaeróbica indispensável a todos os herbívoros para extrair energia das paredes vegetais (Bessa et al. 2000).

Os ruminantes recém-nascidos consomem leite rico em gordura e depositam grande parte dos lípidos da dieta no tecido adiposo, e durante o crescimento pós-desmame a ingestão de AG na dieta é baixa o que faz com que a síntese de AG de cadeia longa aumente nos depósitos de tecido adiposo à medida que o animal se aproxima da maturidade fisiológica. A deposição de AG de cadeia longa que são sintetizados no tecido adiposo ou captados do sangue é extensa nos ruminantes jovens de engorda. A lipoproteína lípase é uma enzima reguladora com um papel chave na determinação da disposição entre órgãos dos AG de cadeia longa dos quilomicra em circulação e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) em ruminantes em crescimento. Estes lípidos em circulação dependem dos processos no rúmen, posterior passagem para o intestino, digestão e absorção (Drackley 2005).

O rúmen é o principal local de hidrólise e biotransformação dos componentes da dieta, daí que a composição em AG da dieta seja distinta da composição em AG do rúmen total ou das frações de AG livres ou AG esterificados, isto deve-se ao metabolismo microbiano, nomeadamente a hidrólise (lipólise) dos lípidos esterificados da dieta, a biohidrogenação dos AG não esterificados e a síntese microbiana (Jenkins 1993; Jenkins et al. 2008; Ferlay et al. 2017).

2.7.1. Processos digestivos no rúmen

A digestão é o processo de decomposição dos alimentos no trato gastrointestinal para permitir a absorção. Os ruminantes têm um estômago complexo com 4 compartimentos (rúmen,

retículo, abomaso e omaso) que permitem a fermentação pré-gástrica, o que faz com que a composição da digesta que flui para o intestino delgado diferir substancialmente do que é consumido na dieta. Esta alteração na composição deve-se à fermentação nos compartimentos do estômago, resultando na produção de ácidos gordos voláteis (AGV), biomassa microbiana e transformação dos lípidos da dieta (Swanson 2019).

Os AGV são principalmente absorvidos a partir da parede ruminal fornecendo uma grande proporção de energia metabolizável total ao animal. Uma porção dos hidratos de carbono e proteínas são degradados no rúmen, enquanto uma porção escapa à fermentação ruminal e flui ao intestino delgado juntamente com biomassa microbiana que contém proteína microbiana que é digerida e utilizada como fonte de proteína pelo animal. A proteína microbiana fornece uma porção substancial da proteína digerida e utilizada pelo animal, no intestino delgado o local primário de digestão e absorção de macronutrientes para além da absorção de AGV no rúmen (Drackley 2005; Swanson 2019).

Os lípidos provenientes da dieta também estão sujeitos a transformações no rúmen. O primeiro processo é a hidrólise dos lípidos esterificados (TAG, galactolipídios e lípidos polares) por lipases microbianas num processo chamado lipólise. As lipases microbianas hidrolisam as ligações ésteres provocando a libertação dos AG, após a lipólise os AG insaturados sofrem biohidrogenação por microorganismos ruminais (Jenkins et al. 2008).

A biohidrogenação ruminal é o processo de saturação dos AGI da dieta, geralmente ácidos C18 como os ácidos oleicos (18:1 *cis*-9), linoleico (18:2 *cis*-9, *cis*-12 ou 18:2n-6) e α -linolénico (18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ou 18:3n-3). Durante este processo os microorganismos ruminais conseguem isomerizar e hidrogenar as duplas ligações dos AG convertendo os AGI em AGS via a formação de diversos intermediários com configuração *trans*, seguido de hidrogenação das duplas ligações. Como apresentado na Figura 5, o primeiro passo da biohidrogenação ruminal do 18:2n-6 e 18:3n-3 em condições normais (i.e. dietas à base de forragem) envolve a isomerização da ligação *cis*-12 com migração para o carbono 11 e alteração da sua geometria, formando-se dois intermediários conjugados com uma ligação *trans*, o 18:2 *cis*-9, *trans*-11 e o 18:3 *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15, respectivamente. Estes intermediários podem posteriormente sofrer sucessivas hidrogenações formando-se o 18:1 *trans*-11 como principal intermediário da biohidrogenação do 18:2n-6, e também o 18:2 *trans*-11, *cis*-15 na via do 18:3n-3. O produto final das vias da biohidrogenação ruminal dos AGI é o ácido esteárico (18:0) (Jenkins et al. 2008).

2.7.2. Absorção e transporte dos lípidos

Os AG que chegam ao intestino delgado são majoritariamente AG não esterificados (devido à lipólise e biohidrogenação dos AGI no rúmen) adsorvidos à superfície das partículas de alimento e bacterianas, alguns TAG que escapam à lipólise ruminal e fosfolípidos (FL) das células microbianas, que podem ser hidrolisados por lípases pancreáticas e fosfolípases. Devido ao baixo pH no abomaso e duodeno dos ruminantes (pH 2,0–2,5), os AG não esterificados existe no estado protonado, o que facilita sua adsorção à superfície das partículas de alimento. No entanto, os sais biliares secretados no duodeno permitem libertar os AG das partículas de alimentos, com a formação de uma fase cristalina líquida, formando micelas estáveis. Os AG até 12 átomos de carbono são absorvidos pelo epitélio ruminal, enquanto os AG de cadeia longa são absorvidos por difusão nas células epiteliais do intestino delgado. Estes AG são então em grande parte re-esterificados na parede intestinal e transportados para a corrente sanguínea através da linfa. A digestão dos lípidos no intestino delgado não é limitada pela atividade enzimática ou de transporte, mas pode ser reduzida com elevadas concentrações de lípidos nas dietas dos ruminantes (Drackley 2005; Swanson 2019).

Os lípidos em circulação nos quilomícrons e nas VLDL são hidrolisados pela enzima lipoproteína lípase (LPL) encontrada nos tecidos periféricos. Os produtos da reação da LPL são AG não esterificados e monoglicerídeos, que são hidrolisados por lípases não específicas associadas aos tecidos periféricos. A atividade de LPL cria um aumento local da concentração de AG não esterificados o que aumenta a probabilidade de captação destes AG pelas células (Drackley 2005).

2.7.3. Deposição de ácidos gordos no músculo

A gordura intramuscular (IMF) presente na carne é constituída por LN, principalmente sob a forma de TAG, armazenados nos adipócitos localizados ao longo das fibras musculares e no espaço interfascicular, e de lípidos polares (PL) sob a forma de FL como componentes estruturais das membranas. Existem também lípidos presentes nas fibras musculares, sob a forma de gotículas de TAG, PL e colesterol no citosol, representando estes apenas uma pequena parte do total de lípidos intramusculares (Oliveira 2017). O aumento da quantidade IMF na carne terá maior proporção de NL, já que as quantidades de FL nas membranas musculares são consideradas constantes (Wood 2017). No entanto, a presença de AG no músculo é influenciada por diversos fatores genéticos e ambientais, onde o teor de AG da dieta é geralmente considerado como o mais importante (Wood 2017).

Os ruminantes dependendo das circunstâncias metabólicas, podem sintetizar gordura a partir de AGV, hidratos de carbono, ou proteínas, mas também podem depositar diretamente AG

absorvidos no intestino, ou modificados metabolicamente. Portanto, a composição de AG dos LN depende da proporção dos produzidos endogenamente (síntese de novo) ou absorvidos do sistema digestivo (deposição direta). Vários estudos têm demonstrado que a composição em AG do sistema endógeno, a gordura sintetizada, é relativamente constante e equivale a cerca de 45% AGS e 55% de AGMI. A composição em AG da gordura afeta o ponto de fusão e as propriedades reológicas do tecido adiposo, que por sua vez, afeta as propriedades tecnológicas da carne e a distribuição de sal e a migração da água. O metabolismo muscular sendo processo adaptativo muito dinâmico pode levar a diferenças significativas na composição muscular, assim dependendo de fatores intrínsecos e extrínsecos, podem existir diferenças acentuadas em composição e atributos de qualidade da carne (Bote 2017).

Nos ruminantes, os AGPI são preferencialmente depositados na fração dos lípidos polares, enquanto os lípidos absorvidos, como os intermediários da biohidrogenação, são preferencialmente depositados nos LN (Bessa et al. 2015). O ácido ruménico (CLA-*cis-9,trans-11*), um dos intermediários da biohidrogenação formados no rúmen, também é preferencialmente encontrado na fração dos LN. No entanto, a origem deste CLA na carne é maioritariamente de síntese endógena, formado pela ação da enzima delta-9-desaturase (SCD, stearyl-coenzyme A-desaturase) com a introdução de uma dupla ligação no carbono-9 do 18:1 *trans-11*. O 18:1 *trans-11* como referido anteriormente é um dos intermediários da biohidrogenação formados em maior quantidade em animais alimentados com dietas à base de forragem. O interesse no CLA, surge da evidência que tem benefícios na saúde, assim diversos estudos têm sido realizados de forma a encontrar estratégias para aumentar a formação do 18:1 *trans-11* no rúmen e assim permitir maior 18:1 *trans-11* disponível nos tecidos para a síntese endógena de CLA-*cis-9,trans-11* (Bessa et al. 2015).

A carne de ruminantes, comparativamente com outras espécies, não é particularmente rica em AGPI de cadeia muito longa das séries ómega-6 e ómega-3, no entanto estes podem ser biossintetizados nos tecidos tendo como precursores o 18:2n-6 e o 18:3n-3, respetivamente. Esta biossíntese envolve uma série de enzimas que promovem a alongação e dessaturação do 18:2n-6, formando como principais AGPI o 20:3n-6 e o 20:4n-6, e a partir do 18:3n-3 podem ser formados o 20:5n-3 (EPA), 22:5n-3 (DPA) e o 22:6n-3 (DHA). O interesse nestes AGPI de cadeia muito longa das séries ómega-6 e ómega-3 está relacionada com os seus efeitos benéficos à saúde humana. À principal limitação no enriquecimento da carne de ruminantes com estes AGPI de cadeia muito longa, é a ausência dos precursores em quantidades relevantes, mesmo que as dietas sejam ricas em 18:2n-6 e o 18:3n-3 devido à sua metabolização no rúmen, como foi explicado anteriormente (Bessa et al. 2015).

2.8 Fatores que influenciam o perfil em ácidos gordos *trans* da carne de bovino

A composição em AG da carne depende dos fatores do animal (espécie, músculo, idade ou vida, peso, sexo e raça), e de fatores ambientais (nutrição, alojamento, estação do ano, clima e bem-estar animal). Embora as quantidades de AG, incluindo AG *trans* e os isômeros de CLA, na carne de bovino são influenciadas pela alimentação, os fatores intrínsecos podem modular as suas variações. Além disso, atividades pós-abate como a aparagem de gordura visível, prazo de validade empregue pelas tecnologias e métodos de cozedura, podem modificar grandemente as propriedades do tecido muscular e da qualidade final da carne (Alfaia 2009; Moloney e McGee 2017).

2.8.1. Sistema de produção

O perfil em AG da carne de bovino é afetado pelo sistema de produção, principalmente pela alimentação dos animais, em que a utilização de concentrado, pastagens ou diferentes proporções de ambos, têm de longe a maior influência no valor nutricional dos lípidos da carne (Moloney e McGee 2017). As propriedades sensoriais e nutricionais da carne de animais alimentados com pasto diferem da dos animais alimentados com cereais no sabor, maciez, cor e composição em AG (Cadavez et al. 2020).

As forragens contêm elevadas proporções de 18:3n-3, assim animais alimentados com dietas à base de forragem poderão apresentar carnes mais ricas em AG ómega-3 comparativamente a animais alimentados à base de concentrados. No entanto as carnes destes animais contêm também intermediários com ligação *trans* que resultaram da metabolização do 18:3n-3 no rúmen, como o 18:1*trans*-11, 18:2*trans*-11, *cis*-15 e particularmente o CLA-*cis*-9, *trans*-11, sendo este maioritariamente biossintetizado a partir do 18:1*trans*-11 nos tecidos pela ação da enzima SCD. Assim, o enriquecimento de CLA-*cis*-9, *trans*-11 na carne implica elevada disponibilidade de substrato, uma alta atividade de SCD e uma alta deposição de IMF, como discutido por (Bessa et al. 2015).

No entanto, a maioria dos animais para carne são terminados com alimentos concentrados ricos em cereais, com baixo teor em fibra e alto teor em amido. Nestas condições as principais vias de bioidrogenação ruminal dos AGPI da dieta são alteradas como foi ilustrado na Figura 5. Assim, o 18:1*trans*-11 deixa de ser o principal AG *trans* formado no rúmen, sendo substituído pelo 18:1*trans*-10, condição denominada de “*trans*-10 shift”. As dietas ricas em cereais promovem também uma maior atividade da enzima delta-9 desaturase e uma maior deposição de IMF, o que potenciará a síntese de CLA, no entanto o 18:1*trans*-10 não pode ser convertido em CLA ao contrário do 18:1*trans*-11. Assim, a ocorrência do *trans*-10 shift no rúmen é provavelmente a principal restrição ao enriquecimento da carne de ruminantes com AG *trans*

benéficos à saúde humana, como o CLA-*cis*-9, *trans*-11 e o 18:1*trans*-11. Em suma, a composição em AG *trans* na carne de ruminantes é em grande medida determinada pela extensão da lipólise e biohidrogenação dos lípidos no rúmen, que por sua vez é influenciada pelo sistema de produção e a dieta fornecida ao animal (Bessa et al. 2015).

2.8.2. Fatores genéticos

Os perfis dos AG da carne de ruminantes são afetados pelos fatores epigenéticos durante a vida pré-natal, quando a nutrição materna afeta a diferenciação e proliferação de células adiposas, aumentando o potencial de marmoreado. Por conseguinte, foram realizados vários estudos de programação fetal nas últimas décadas, a fim de compreender melhor como os nutrientes afetam a expressão a longo prazo dos genes envolvidos na adipogênese e na lipogênese. Além disso, durante a fase de acabamento, o marmoreado torna-se largamente dependente da digestão do amido e do metabolismo da glucose, sendo importante criar alternativas para aumentar estes processos metabólicos, e modular a expressão dos genes. Diferentes fontes lipídicas e os seus AG podem também influenciar a expressão de genes responsáveis pela codificação de enzimas envolvidas na deposição de tecido adiposo, influenciando na qualidade da carne (Ladeira et al. 2018).

A raça e o efeito genótipo foi relatado por vários autores, representando um dos principais fatores que afetam a composição dos AG, porque a deposição de gordura difere entre as raças e está relacionada com a proporção de TAG/PL. Embora as diferenças de raça sejam geralmente pequenas, refletem diferenças na expressão genética subjacente ou nas atividades das enzimas relativas ao metabolismo dos AG, e, por conseguinte, merecem alguma consideração adicional. A identificação de genes que contribuem para a variação contínua da qualidade da carne, incluindo os níveis intramusculares, é um desafio para a genética molecular nesta área. Assim, as variações de DNA ou polimorfismos de DNA podem ter o potencial de servir como marcador de lípidos na carne e constituir uma ferramenta para melhorar a qualidade da carne (Alfaia 2009).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil dos AG, com ênfase nos AG *trans*, da carne de bovino, de animais produzidos e abatidos em Portugal, e disponível em diferentes tipos de estabelecimentos comerciais de venda a retalho da região de Lisboa.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o perfil dos AG da carne de bovino de três variedades certificadas (Mertolenga DOP, Carnalentejana-DOP e Carne dos Açores IGP), e carnes indiferenciadas (não certificado) produzidas em Portugal e disponíveis no comércio da região de Lisboa. Esta caracterização inclui:

- Avaliar o teor lipídico das diferentes carnes de bovino;
- Caracterizar o perfil em AG, em especial os AG *trans*, incluindo o CLA na carne;
- Avaliar diferenças na composição em AG entre as carnes certificadas e não certificadas;
- Avaliar nutricionalmente as diferentes carnes, nomeadamente, estimar a sua contribuição para a ingestão diária de AG *trans*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Recolha de amostras

As amostras de carne bovina utilizadas no presente estudo foram adquiridas em diferentes superfícies comerciais da área metropolitana de Lisboa durante o período de Setembro de 2020 a Abril de 2021. As variedades de carne bovina selecionadas foram a Mertolenga DOP, Carnalentejana-DOP, Carne dos Açores IGP, e carnes indiferenciadas (não certificado) todas provenientes de animais produzidos e abatidos em Portugal. Foram avaliadas no mínimo 15 carnes de bovino de cada uma das variedades. As carnes analisadas incluíram bife do redondo ou do traseiro e estavam acondicionadas em embalagens a vácuo como ilustra a Figura 6.

Figura 6. Embalagens a vácuo das amostras da carne bovina



4.2. Preparação das amostras de carne

Logo após a receção das amostras no laboratório, as carnes foram limpas de gordura, picadas numa picadora doméstica, colocadas em copos, pesadas em balança analítica (Kern AEJ, Balingen, Alemanha) e imediatamente congeladas a -80°C . Posteriormente as carnes foram liofilizadas (Scavanc CoolSafeT, Lynge, Dinamarca) e pesadas para determinação da matéria seca (MS).

4.3 Extração de lípidos de amostras liofilizadas

A extração dos lípidos da carne bovina liofilizada foi efetuada usando o método de (Folch et al. 1957), onde foram pesadas 0,200g da amostra de carne liofilizada em duplicado para tubos de vidro. Adicionaram-se aos tubos 2 mL de metanol para humedecer a amostra, e mais 4 mL de diclorometano, e após agitação em vortex (Heidolph Reax top, Heidolph Instruments GmbH & Co, Schwabach, Alemanha) os tubos foram colocados no banho de ultrassons (Elmasonic S 60H, Singen, Alemanha) durante 10 min a 30°C. Posteriormente as amostras foram centrifugadas (Centrifuga Astor 8 New, Poncarale, Itália) durante 10 minutos para separar a fase sólida e foi retirado o máximo de solvente para outro tubo passando por um filtro normal. De seguida foi adicionado à fase sólida 6 mL diclorometano e metanol (2:1, v/v), e os tubos foram posteriormente agitados no vortex e colocados no banho de ultrassons durante 10 min a 30°C. No final os tubos foram centrifugados durante 5 minutos para separar a fase sólida e foi retirado o máximo de solvente para outro tubo (de 23 mL), tendo se repetido o procedimento alterando o tempo do banho de ultrassons para 5 min a 30°C. Posteriormente foi adicionado ao filtrado 3,6 ml de solução aquosa de cloreto de potássio 0,88% e os tubos agitados no vortex (10 seg.) e centrifugados (5 min). Posteriormente retirou-se a fase orgânica inferior (com pipeta de Pasteur) passando por um filtro separador de fases (que se humedece com diclorometano) para erlenmeyers de 50 mL previamente tarados.

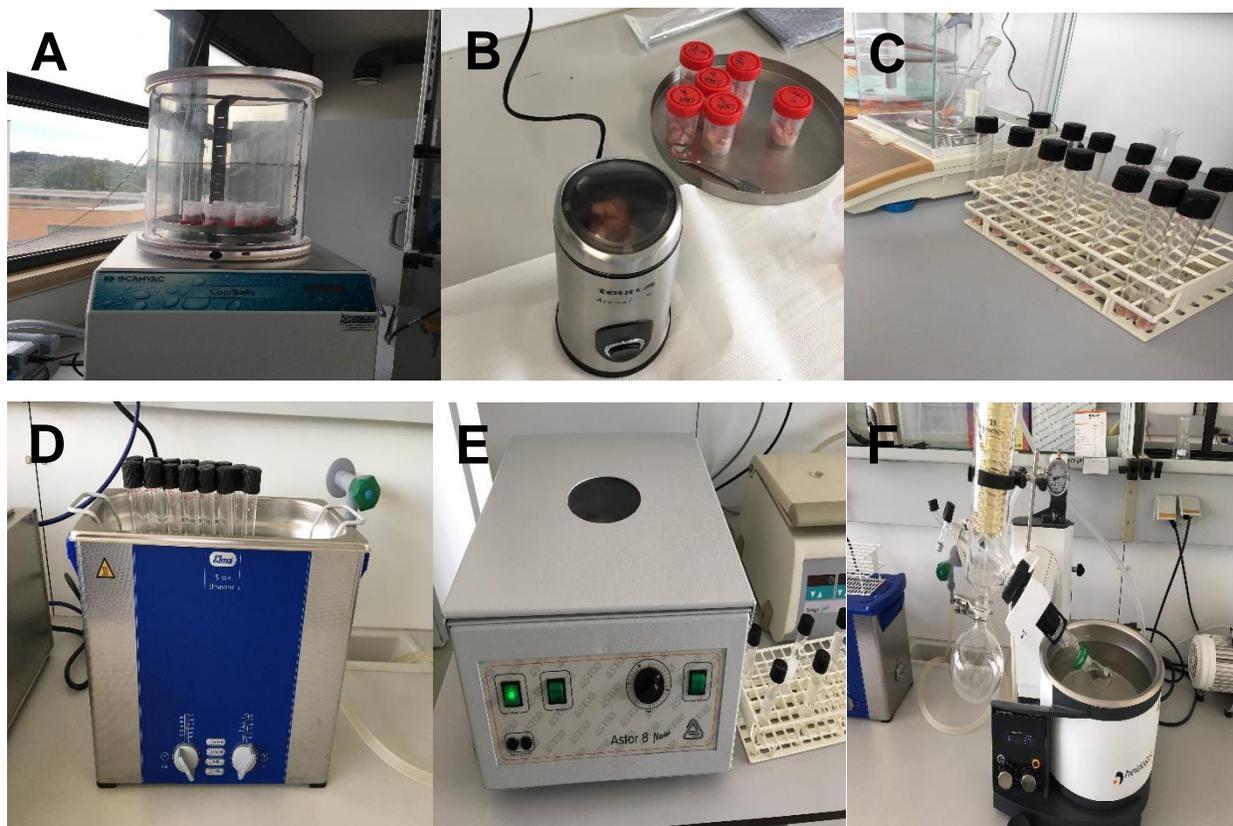
Finalmente o solvente dos erlenmeyers foi removido em evaporador rotativo (Heidolph Hei-Vap, Heidolph Instruments, Schwabach, Alemanha) a 37°C e de seguida os erlenmeyers foram colocados numa estufa (J.P Selecta, Barcelona, Espanha) a 40°C durante 2 horas e 1 hora em exsiccador e pesados, repetindo-se o procedimento até peso constante. A Figura 7 ilustra os momentos da extração dos lípidos.

O teor em lípidos totais da carne (%) foi determinado segundo a fórmula:

$$LT (\%) = \frac{m EA (mg) - m E (mg)}{Peso da amostra (g)} \times \%MS da carne$$

Em que: m EA – peso do erlenmeyer + amostra e m E – peso do erlenmeyer

Figura 7. Processo de preparação de amostra e extração de lípidos. Liofilização (A), picagem da carne (B), pesagem para tubos (C), banho de ultrassons (D), centrifugação (E) e evaporação do solvente em evaporador rotativo (F)



4.4 Transesterificação combinada

Os extratos lípidos foram posteriormente submetidos a transesterificação combinada para preparar os AG na forma de ésteres metílicos de acordo com (Alves et al. 2015). Os extratos lipídicos foram transferidos para tubos de ensaio com 1 mL de tolueno seco, aos quais se adicionou 1 mL de padrão interno (19:0, 1 mg/mL) e 3 mL de metóxido de sódio 0,5M em metanol. Colocaram-se os tubos em banho de água a 50°C durante 30 min e após arrefecimento adicionou-se 2 mL HCl 1,25M em metanol, que foi deixado a reagir durante em 15 min a 80°C. Após arrefecimento, foram adicionados 2 mL de carbonato de potássio aquoso a 6% aos tubos de reação e 2 mL de n-hexano para extração dos ácidos gordos. Os tubos foram agitados no vortex (10 seg.), centrifugados (durante 5 min), e recolheu-se a fase orgânica superior para outros tubos que já continham aproximadamente 0,5 g de sulfato de sódio anidro. É repetido o passo de extração com a adição de mais 2 mL de n-hexano aos tubos de reação seguida de agitação no vortex, centrifugação e transferência do solvente novamente para os tubos com sulfato de sódio anidro. Finalmente o sobrenadante é retirado para novos tubos e evaporado em corrente de azoto (Liebish, Bielefeld, Alemanha) a 37°C. Os AG foram dissolvidos em 1 mL de hexano e transferido

para um vial de cromatografia, e armazenado a -20°C até à análise por cromatografia gasosa (GC), a Figura 8 ilustra os momentos da transesterificação combinada.

Figura 8. Transesterificação combinada. Banho a 50°C (A), banho a 80°C (B) e evaporador de corrente de azoto (C).



4.5 Análise por cromatografia gasosa

Os ácidos gordos na forma de ésteres metílicos foram analisados por cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama (GC-FID) num equipamento Shimadzu 2010-Plus (Shimadzu, Quioto, Japão) equipado com uma coluna capilar de sílica-fundida, SP-2560 (100 m x 0,25 mm x 0,20 μm , Supelco, Bellefonte, PA, EUA). A temperatura do injetor e o detetor foram mantidos a 250°C e 280°C , respetivamente. Utilizou-se hélio como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 ml/min e foi injetada 1 μL de amostra com um split ratio de 1:50. O forno foi programado para iniciar a uma temperatura de 50°C que foi mantida durante 1 minuto, seguidamente a temperatura subiu até aos 150°C a uma velocidade de $50^{\circ}\text{C}/\text{min}$, e esta temperatura foi mantida durante 20 minutos, posteriormente a temperatura subiu até aos 190°C a uma velocidade de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, e por fim a temperatura subiu até aos 220°C a uma velocidade de $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ onde foi mantida durante 118 minutos, perfazendo um tempo total de 118 minutos. Os ácidos gordos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com misturas de padrões disponíveis comercialmente e expressos em proporção do total de ácidos gordos identificados em cada amostra, e a figura 9 demonstra o aparelho de análise da cromatográfica gasosa (Alves et al. 2015).

Figura 9. Análise Cromatográfica Gasosa



Os cromatogramas foram processados utilizando o software LabSolutions version 2.41.00.SU1 (Shimadzu, Quioto, Japão) e as áreas dos picos foram utilizadas para expressar os AG relativamente ao total da área de todos os AG identificados em cada uma das amostras (% do total AG).

4.6 Cálculos e análise estatística

Após a quantificação dos AG foram calculados alguns índices ou rácios de interesse nutricional.

A razão hipocolesterolemia/hipercolesterolemia (h/H) foi calculada utilizando a equação proposta por (Santos-Silva et al., 2002), como se segue:

$$h/H = [(18:1n-9 + 18:2n-6 + 18:3n-3 + 20:4n6 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3)/(14:0 + C16:0)].$$

O índice de aterogenicidade (IA) e de trombogenicidade (TI), foram estimados como proposto por (Ulbricht e Southgate, 1991):

$$AI = (12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0) / [(\sum MUFA + \sum(n-6) + \sum(n-3))];$$

$$TI = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [(0.5 \times \sum MUFA + 0.5 \times (n-6) + 3 \times (n-3) + (n-3) / (n-6)];$$

Os rácios nutricionais P/S foram calculados como estabelecido (Departamento de Saúde, 1994) e o n-6/n-3 considerando todos os n-6 e n-3 PUFA detetados:

$$P/S = [(18:2 n-6) + (18:3 n-3) / (14:0 + 16:0 + 18:0)]; n-6/n-3 = [(Sn-6) / (Sn-3)].$$

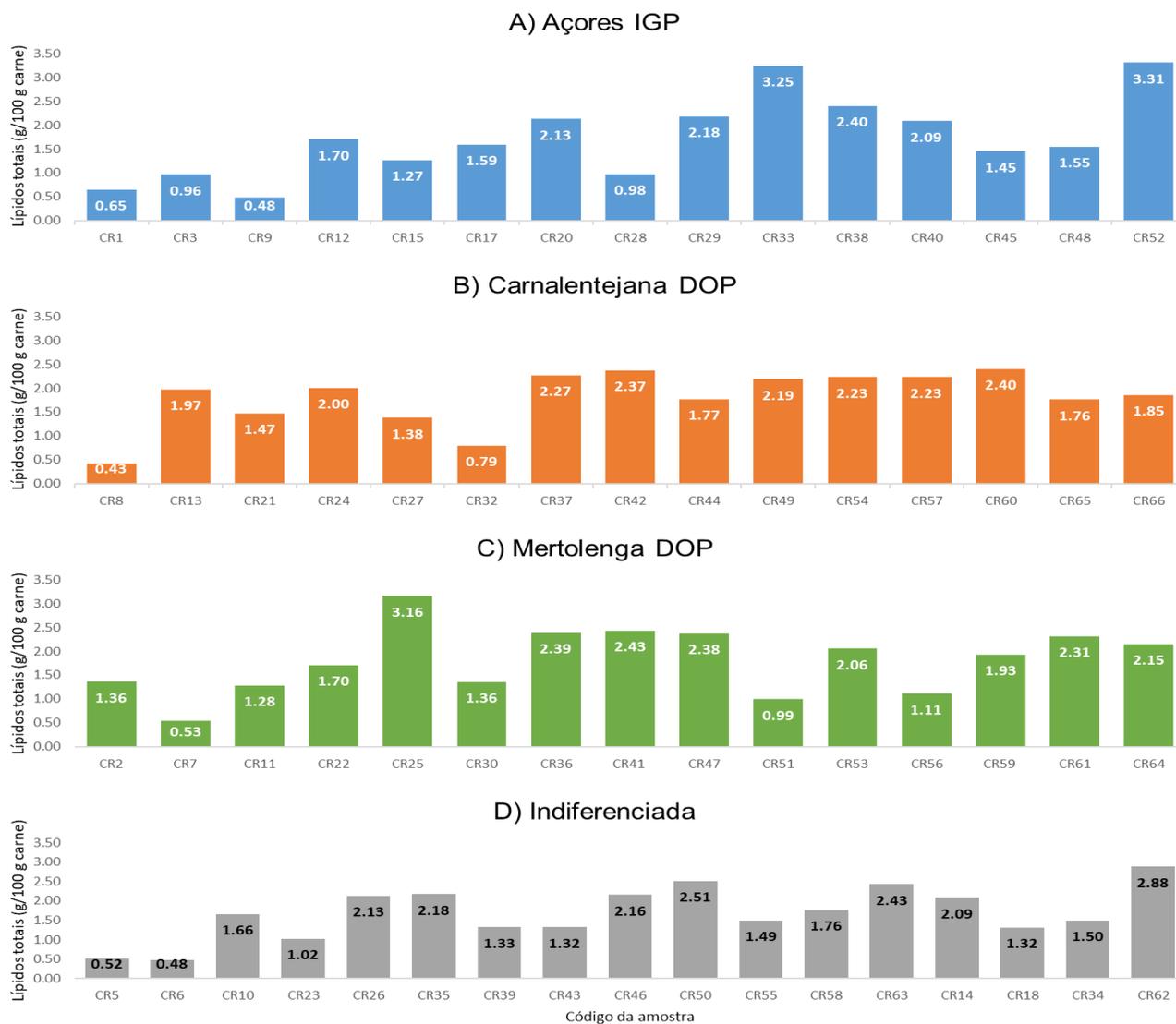
A análise estatística foi efetuada utilizando o programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) através do modelo misto “proc mixed” utilizando a origem da carne como único fator fixo. Para a determinação de diferenças significativas efetuou-se um teste de comparação múltiplas de Tukey e testou-se também a heterogeneidade de variâncias. Assim quando justificável os modelos foram ajustados considerando a heterogeneidade de variância entre tratamentos. Consideram-se diferenças significativas quando $P < 0,05$ ou tendências quando o $P < 0,1$.

5. RESULTADOS

5.1 Lípidos totais da carne de bovino

A gordura intramuscular da carne de bovino não variou significativamente entre origens ($P=0,855$) apresentando valores médios em % da carne fresca de 1,73 ($\pm 0,182$) para a carne dos Açores IGP, 1,81 ($\pm 0,182$) para a Carnalentejana DOP, 1,81 ($\pm 0,182$) para a Mertolenga DOP e 1,7 ($\pm 0,170$) para a Indiferenciada. No entanto, dentro da mesma origem verificou-se uma grande variabilidade no teor lipídico com mínimos de 0,48, 0,43, 0,53 e 0,48 e máximos de 3,31, 2,40, 3,16 e 2,88 para as carnes dos Açores IGP, Carnalentejana DOP, Mertolenga DOP e Indiferenciada, respetivamente (Gráfico 1A-D).

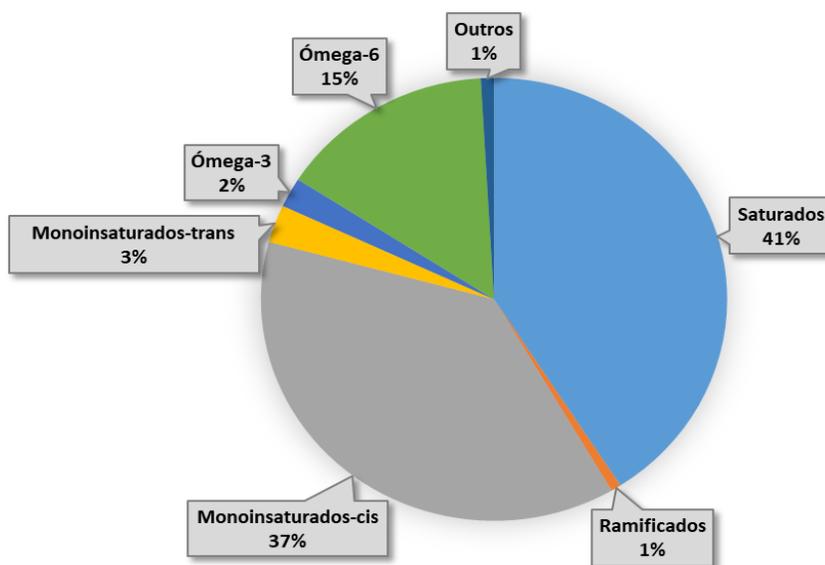
Gráfico 1. Teor de gordura intramuscular (g/100 g de carne) da carne de bovino Açores IGP (A), Carne Alentejana DOP (B), Mertolenga DOP (C) e Indiferenciada (D).



5.2 Ácidos gordos na carne de bovino

A distribuição das diversas classes de AG no total das carnes analisadas está apresentada no Gráfico 2. No gráfico pode-se observar que os AGS e os AG monoinsaturados compreendem 41%±3,6 e 37%±5,6, respetivamente, ou seja cerca de 78% do total de AG nas carnes de bovino. Estes são seguidos pelos AG da série ómega-6 (15%±6.2) e os AGMI *trans* (3%±0,98) que conseguem estar em maior abundância que os AG ómega-3 ou os AG ramificados. A percentagem de “outros” inclui AG com duas ou três duplas ligações e pelo menos uma delas de configuração *trans*.

Gráfico 2.: Distribuição percentual das classes de ácidos gordos (% do total de AG) das carnes de bovino analisadas.



Relativamente à composição em AG (g/100g total AG) das carnes certificadas Açores IGP, Carnalentejana DOP, Mertolenga DOP, e das não-certificadas (Indiferenciadas) estão apresentados Tabela 1. Comparando a composição em AG das diversas carnes verificou-se que dos 7 AGS detetados na carne apenas o 16:0 e o 20:0 não variaram significativamente entre origens ($P>0,05$), sendo que juntos representam aproximadamente 56% do total de AGS da carne. Relativamente ao 12:0, 14:0, 15:0, 17:0 e 18:0 verificaram-se diferenças entre origens ($P<0,05$), sendo que o 12:0 apresentou o valor mais baixo nas carnes Mertolengas sem diferir da Indiferenciada, o 14:0 apresentou o valor mais baixo na carne Indiferenciada e o valor mais elevado na Carnalentejana DOP, e as outras carnes apresentaram valores intermédios. Também o 15:0 e o 17:0 apresentaram valores os mais baixos na carne Indiferenciada, sendo que não diferiram da Carnalentejana DOP e Mertolenga DOP no caso do 15:0, e da carne dos Açores IGP e Mertolenga DOP no caso do 17:0.

Tabela 2. Composição em ácidos gordos (g/100 g total AG) das carnes de bovino.

	Açores IGP		Carnalentejana DOP		Mertolenga DOP		Indiferenciada		Valor-P
	média	EPM	média	EPM	média	EPM	média	EPM	
AGS	40,6	0,95	41,0	0,95	41,6	0,95	40,3	0,90	0,795
12:0	0,11 ^a	0,014	0,11 ^a	0,017	0,08 ^b	0,010	0,07 ^{ab}	0,006	0,021
14:0	2,37 ^{ab}	0,161	2,58 ^a	0,161	2,16 ^{ab}	0,161	1,92 ^b	0,151	0,028
15:0	0,50 ^a	0,037	0,39 ^{ab}	0,023	0,38 ^{ab}	0,026	0,32 ^b	0,015	0,001
16:0	22,2	0,65	23,3	0,65	22,0	0,65	23,0	0,61	0,406
17:0	0,85 ^{ab}	0,046	0,88 ^a	0,046	0,81 ^{ab}	0,046	0,69 ^b	0,043	0,020
18:0	14,5 ^{ab}	0,53	13,5 ^b	0,53	16,0 ^a	0,53	14,2 ^{ab}	0,60	0,013
20:0	0,12	0,009	0,12	0,009	0,13	0,009	0,12	0,008	0,623
Ramificados	0,96^a	0,056	0,55^b	0,056	0,71^b	0,056	0,64^b	0,053	<0,001
i-15:0	0,16 ^a	0,026	0,10 ^{ab}	0,035	0,09 ^{ab}	0,012	0,08 ^b	0,009	0,059
a-15:0	0,21 ^a	0,028	0,10 ^b	0,010	0,15 ^{ab}	0,015	0,14 ^{ab}	0,012	0,004
i-16:0	0,16 ^a	0,011	0,11 ^b	0,011	0,16 ^a	0,011	0,13 ^{ab}	0,010	0,007
i-17:0	0,43 ^a	0,035	0,24 ^c	0,014	0,32 ^{ab}	0,024	0,29 ^{bc}	0,026	0,001
AGMI-cis	39,5	1,44	38,4	1,44	35,3	1,44	37,1	1,35	0,197
14:1c9	0,46 ^{ab}	0,084	0,49 ^a	0,045	0,30 ^b	0,031	0,43 ^{ab}	0,054	0,009
16:1c7	0,28 ^a	0,028	0,18 ^b	0,012	0,19 ^b	0,011	0,17 ^b	0,014	0,014
16:1c9	3,01 ^{ab}	0,250	2,99 ^a	0,127	2,39 ^b	0,121	2,84 ^{ab}	0,200	0,012
17:1c9	0,65 ^{ab}	0,044	0,77 ^a	0,044	0,59 ^b	0,044	0,58 ^b	0,042	0,011
18:1c9	32,8	1,25	31,4	1,25	29,1	1,25	30,6	1,174	0,224
18:1c11	1,75	0,118	1,93	0,118	1,96	0,118	1,86	0,111	0,577
18:1c12	0,20 ^b	0,027	0,19 ^b	0,027	0,35 ^a	0,027	0,21 ^b	0,026	0,002
18:1c13	0,20	0,024	0,24	0,023	0,15	0,023	0,18	0,022	0,089
18:1c16	0,06 ^{ab}	0,007	0,04 ^b	0,007	0,07 ^a	0,007	0,04 ^b	0,007	0,008
19:1c9	0,09	0,008	0,09	0,014	0,07	0,005	0,06	0,012	0,116
20:1c11	0,11	0,014	0,10	0,014	0,10	0,014	0,12	0,013	0,667
AGMI-trans	2,63	0,178	2,76	0,209	2,61	0,164	2,98	0,369	0,791
16:1t	0,09	0,027	0,10	0,025	0,07	0,026	0,11	0,023	0,724
18:1t6/7/8	0,22	0,024	0,21	0,023	0,21	0,023	0,24	0,022	0,830
18:1t9	0,20	0,013	0,26	0,021	0,24	0,009	0,24	0,020	0,101
18:1t10	0,50 ^b	0,131	1,28 ^a	0,197	0,77 ^{ab}	0,177	1,22 ^{ab}	0,306	0,013
18:1t11	1,26 ^a	0,093	0,68 ^b	0,093	0,87 ^b	0,093	0,77 ^b	0,087	0,002
18:1t12	0,21 ^{ab}	0,026	0,16 ^b	0,026	0,28 ^a	0,025	0,27 ^a	0,023	0,003
18:1t16	0,20 ^a	0,016	0,10 ^c	0,016	0,18 ^{ab}	0,016	0,13 ^{bc}	0,015	0,001
Outros-trans	1,36^a	0,105	0,78^{bc}	0,043	0,87^b	0,050	0,67^c	0,046	<0,001
18:2ct	0,28 ^a	0,051	0,13 ^b	0,015	0,16 ^{ab}	0,015	0,12 ^b	0,015	0,013
18:2tc	0,15 ^a	0,012	0,09 ^b	0,011	0,11 ^{ab}	0,011	0,09 ^b	0,007	0,003
18:2t9c12	0,11	0,040	0,06	0,005	0,08	0,009	0,05	0,009	0,074
18:2t11c15	0,12 ^a	0,026	0,08 ^{ab}	0,017	0,09 ^a	0,009	0,04 ^b	0,007	0,001
18:2c9t11	0,52 ^a	0,035	0,33 ^b	0,035	0,30 ^b	0,035	0,29 ^b	0,033	<0,001
18:3c9t11c15	0,22 ^a	0,037	0,13 ^{ab}	0,014	0,15 ^{ab}	0,023	0,09 ^b	0,013	0,008
AGPI	14,9	1,76	16,6	1,76	19,0	1,76	18,3	1,66	0,366
18:2n-6	7,51 ^b	1,161	10,1 ^{ab}	1,16	12,4 ^a	1,16	12,2 ^a	1,09	0,012
18:3n-6	0,07	0,010	0,07	0,010	0,06	0,009	0,05	0,009	0,489
18:3n-3	1,39 ^a	0,298	0,53 ^b	0,047	0,75 ^a	0,041	0,43 ^b	0,059	0,001
20:3n-6	0,71	0,077	0,80	0,076	0,74	0,076	0,81	0,073	0,726
20:4n-6	2,62	0,334	3,32	0,334	3,05	0,334	3,39	0,314	0,353
20:5n-3	0,92 ^a	0,252	0,38 ^{ab}	0,065	0,49 ^a	0,066	0,21 ^b	0,039	0,002
22:4n-6	0,19 ^c	0,039	0,39 ^{ab}	0,039	0,28 ^{bc}	0,038	0,42 ^a	0,036	<0,001
22:5n-3	1,25 ^a	0,240	0,74 ^{ab}	0,074	0,89 ^a	0,092	0,48 ^b	0,068	0,002
22:6n-3	0,17	0,044	0,07	0,011	0,09	0,019	0,09	0,029	0,185

Abreviaturas: AGS, ácidos gordos saturados; AGMI, ácidos gordos monoinsaturados; AGPI, ácidos gordos polinsaturados, EPM, erro padrão da média. Médias na mesma linha que apresentem letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05).

O 18:0 foi o segundo AGS mais abundante na carne de bovino, mas apresentou valores mais baixos (13,5 g/100g AG) na Carnalentejana DOP ($P < 0,05$) e valores mais elevados (16,0 g/100g AG) na carne Mertolenga DOP, e as outras carnes apresentaram valores intermédios não diferindo das anteriores.

Relativamente aos AG ramificados, tanto o somatório como todos os AG apresentaram diferenças significativas entre origens ($P < 0,05$), à exceção do i-15:0 que apenas apresentou uma tendência ($P = 0,059$). Dos AG ramificados que diferiram, o a-15:0, i-16:0 e i-17:0, apresentaram valores mais elevados na carne dos Açores (0,21, 0,16 e 0,43 g/100g AG, respetivamente), contudo o a-15:0 e i-16:0 não diferiram das carnes Mertolenga e Indiferenciada, e o i-17:0 não diferiu da Mertolenga.

Também na maioria dos AGMI foram observadas diferenças significativas entre origens, destaca-se que dois dos AG de cadeia *cis* mais abundantes na carne de bovino (18:1 *cis*-9 e 18:1 *cis*-11) não diferiram entre origens, e juntos representam aproximadamente 87% do total de AGMI-*cis* na carne de bovino. Outro AGMI-*cis* abundante na carne, é o 16:1 *cis*-9, apresentando, no entanto, o valor mais elevado na Carnalentejana (2,99 g/100g AG) e o valor mais baixo na carne Mertolenga (2,39 g/100g AG). Nos AGMI de configuração *trans*, verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) nos dois AG-*trans* mais abundantes na carne, isto é, o 18:1 *trans*-10 e 18:1 *trans*-11, sendo que para o 18:1 *trans*-10 a proporção foi superior na Carnalentejana (1,28 g/100g AG) e inferior na carne dos Açores (0,5 g/100g AG), pelo contrário a proporção de 18:1 *trans*-11 foi 1,65 vezes mais elevada na carne dos Açores (1,26 g/100g AG) comparativamente com as outras carnes que em média apresentaram uma proporção de 0,77 no total dos AG da carne. Também nos AG de cadeia 18:2 e 18:3 com pelo menos uma ligação de configuração *trans* verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as várias carnes, à exceção do 18:2 *trans*-9-*cis*-12 que apenas mostrou uma tendência ($P = 0,074$). Estes AG são na sua maioria intermediários da biohidrogenação ruminal dos AGI da dieta, e em todos eles as proporções mais elevadas foram observadas nas carnes dos Açores e as proporções mais baixas nas carnes não certificadas. Destes o mais relevante é o 18:2 *cis*-9, *trans*-11 (CLA) que apresentou uma proporção de 0,52% na carne dos Açores, e que foi 1,7x mais elevada comparativamente com as outras carnes.

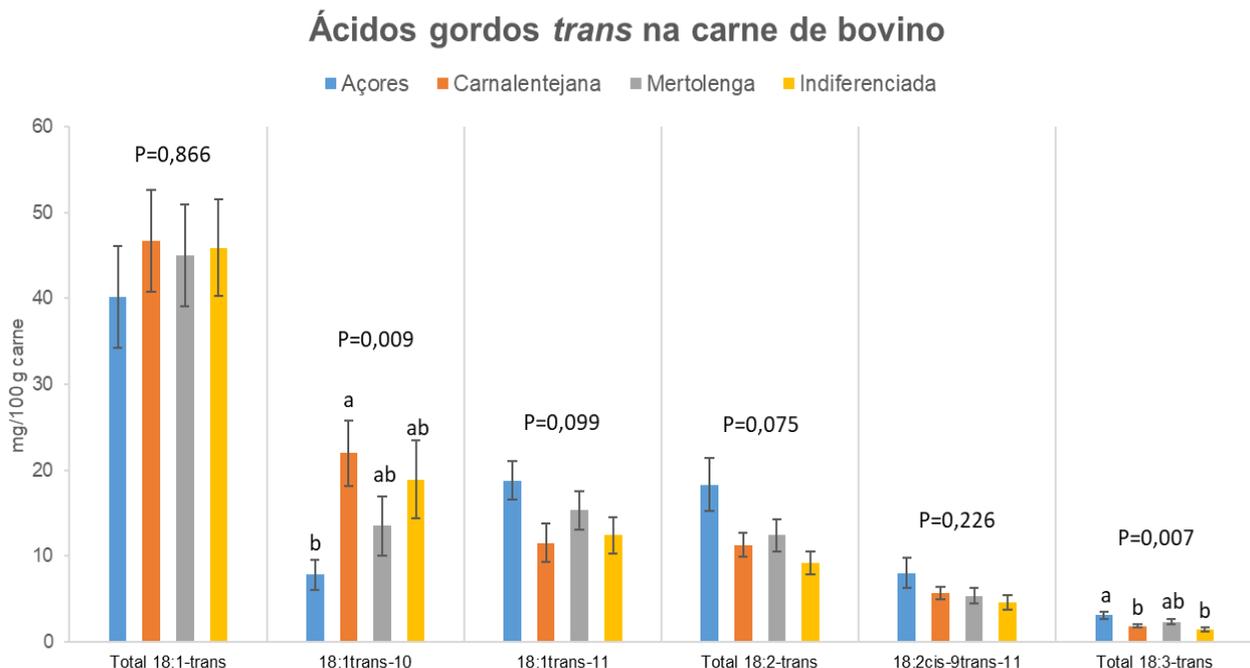
Relativamente aos AGPI, o total não variou significativamente entre as diversas carnes ($P > 0,05$), no entanto as proporções mais elevadas de AG ómega-3, nomeadamente do 18:3n-3, 20:5n-3 e 22:5n-3 foram detetadas nas carnes Açores e Mertolenga alcançando respetivamente, 1,39, 0,92 e 1,25% do total de AG na carne dos Açores, enquanto os valores mais baixos foram verificados nas carnes indiferenciadas (0,43, 0,21 e 0,48% do total de AG, respetivamente). Curiosamente, dos 5 AG ómega-6 identificados na carne de bovino, só o 18:2n-6 e o 22:4n-6 é

que variaram ($P < 0,05$) com a origem das carnes, e ambos apresentaram as menores proporções na carne dos Açores (7,51 e 0,19% do total AG, respetivamente). No entanto, o 18:2n-6 foi o AGPI mais abundante em todas as carnes, apresentando os valores mais elevados nas carnes Mertolenga e Indiferenciada (aproximadamente 12% total AG) enquanto a Carnalentejana não diferiu de todas as outras.

5.3. Ácidos gordos *trans* na carne de bovino

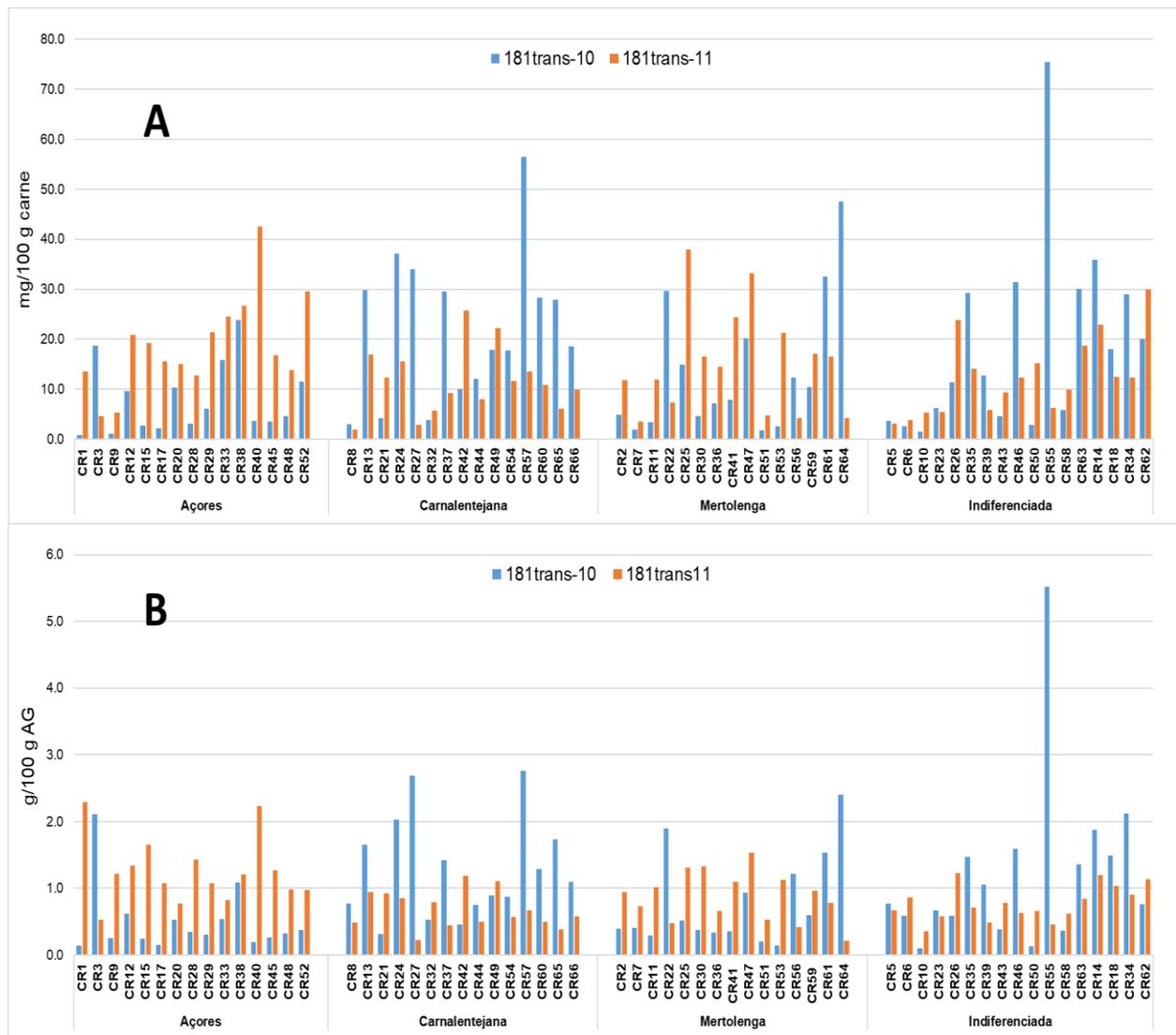
Os somatórios e alguns dos AG *trans* mais relevantes nutricionalmente foram expressos em mg/100 g de carne e estão apresentados no Gráfico 3. Os resultados mostram que não houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre origens no total em AG *trans* de cadeia 18:1 e no ácido ruménico (18:2*cis*-9,*trans*-11). No entanto o teor em 18:1*trans*-10 e o total em 18:3-*trans* (que inclui maioritariamente o 18:3*cis*-9,*trans*-11,*cis*-15) variaram significativamente ($P < 0,01$) entre origens, sendo que no caso do 18:1*trans*-10 o teor mais elevado foi observado na Carnalentejana (22 mg/100 g carne) e o valor mais baixo na carne dos Açores (7,8 mg/100 g carne), as outras carnes apresentaram valores intermédios. Pelo contrário, o teor em 18:3-*trans* foi superior na carne dos Açores (3,08 mg/100 g carne) não diferindo, no entanto, da carne Mertolenga. Houve tendência de variação ($P < 0,1$) para os teores de 18:1*trans*-11 e total de 18:2-*trans* entre origens, sendo os valores mais elevados encontrados na carne dos Açores, ou seja 18,8 e 18,3 mg/100 g de carne, respetivamente.

Gráfico 3. Ácidos gordos *trans* (mg/100g de carne) na carne de bovino de acordo com a origem



Como a proporção em 18:1 *trans*-10 e 18:1 *trans*-11 na carne é variável, assim como os teores em gordura intramuscular, os resultados relativamente ao 18:1 *trans*-10 e 18:1 *trans*-11 em mg/100 g de carne e em g/100 g do total de AG são apresentados no Gráfico 4 para cada uma das carnes analisadas. Verifica-se assim nos Gráficos 4A e 4B que existe uma grande variabilidade neste dois AG não só entre origens, mas também dentro da mesma origem. Por exemplo nas carnes da Mertolenga, há algumas carnes com teores muito elevados em 18:1 *trans*-10 (CR64 e CR61) e outras com teores elevados em 18:1 *trans*-11 (CR25 e CR47).

Gráfico 4. Teor (mg/100 g de carne) A e proporção B (g/100g AG) de 18:1 *trans*-10 e 18:1 *trans*-11 em cada uma das carnes analisada.



5.4 Outros somatórios, rácios, e índices de interesse nutricional

Na Tabela 3 estão apresentados os somatórios e AG nutricionalmente relevantes expressos em mg/100 g de carne, assim como alguns rácios e índices nutricionais para as carnes certificadas (Açores-IGP, Carnalentejana DOP, Mertolenga DOP) e as carnes não certificadas (Indiferenciada).

Relativamente aos somatórios verificou-se que apenas os somatórios dos AGPI ómega-3 e ómega-6 é que variaram significativamente ($P < 0,05$) entre as diferentes carnes, verificando-se também uma tendência para os AG ramificados ($P = 0,063$) e total de AGPI ($P = 0,087$). No caso dos ómega-3 os teores mais elevados foram verificados na carne dos Açores e Mertolenga (46,2 e 34,7 mg/100 g carne, respetivamente), comparativamente com a carne Indiferenciada que apenas apresentou um teor em ómega-3 de 18,3 mg/100 g de carne. Consistentemente, os teores em 18:3n-3 e no somatório 20:5n-3+22:6n-3 (EPA+DHA) foram também mais elevados na carne dos Açores e Mertolenga, atingindo 17,7 e 12,7 mg/100g carne, respetivamente, na carne dos Açores.

Tabela 3. Classes de AG em mg/100g carne, índices e rácios de AG nas carnes de bovino de acordo com a origem.

	Açores IGP		Carnalentejana DOP		Mertolenga DOP		Indiferenciada		Valor-P
	média	EPM	média	EPM	média	EPM	média	EPM	
AG (mg/100 g carne)									
AGS	644,3	73,33	687,5	73,32	698,3	73,32	631,9	68,87	0,894
Ramificados	14,8	1,64	8,9	1,64	12,2	1,64	10,1	1,54	0,067
AGMI-cis	664,5	79,08	640,5	79,08	598,2	79,08	589,9	74,28	0,891
Total-trans	61,6	7,63	59,8	6,49	59,9	7,58	56,6	7,29	0,972
AGPI	202,1	24,05	259,7	24,05	288,6	24,05	261,2	22,59	0,087
Ómega-3	46,2 ^a	6,77	27,5 ^{ab}	3,27	34,7 ^a	3,16	18,3 ^b	3,26	0,002
18:3n-3	17,7 ^a	2,91	9,0 ^{bc}	1,15	12,1 ^{ab}	1,15	7,0 ^c	1,30	0,005
20:5n-3+22:6n-3	12,7 ^a	2,35	7,2 ^{ab}	1,21	8,9 ^a	0,99	4,2 ^b	9,79	0,004
Ómega-6	154,9 ^b	22,39	230,8 ^{ab}	22,39	251,9 ^a	22,39	241,6 ^a	21,03	0,013
18:2n-6	104,3 ^b	16,72	159,1 ^{ab}	16,72	187,2 ^a	16,72	173,2 ^a	15,70	0,005
Índices e rácios									
18:1 Δ 10/18:1 Δ 11	0,59 ^b	0,252	2,62 ^a	0,743	1,64 ^{ab}	0,741	1,85 ^{ab}	0,664	0,042
AGPI/AGS	0,38	0,052	0,42	0,051	0,47	0,052	0,46	0,049	0,539
n-6/n-3	4,40 ^c	0,790	9,43 ^b	0,809	7,66 ^b	0,539	18,5 ^a	2,496	<0,001
h/H	1,94	0,092	1,83	0,092	1,98	0,092	1,94	0,086	0,680
AI	0,59	0,032	0,63	0,032	0,58	0,031	0,56	0,029	0,470
TI	1,12	0,065	1,27	0,065	1,25	0,065	1,29	0,061	0,236

Abreviaturas: AG-ácidos gordos; AGS-ácidos gordos saturados; AGMI-ácidos gordos monoinsaturados; AGPI-ácidos gordos polinsaturados; EPM-erro padrão da média, AI- índice de aterogenicidade; PI- índice de peroxidabilidade; TI- índice de trombogenicidade. Médias na mesma linha que apresentem letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Dos índices e rácios calculados neste trabalho apenas se verificaram diferenças no rácio 18:1 *trans*-10/18:1 *trans*-11 ($P = 0,042$), indicador da ocorrência do “*trans*-10-shift”, que apenas foi inferior a 1 na carne dos Açores (0,59), enquanto o rácio na Carnalentejana foi de 2,62, as carnes Mertolenga e Indiferenciada não variaram das outras. Também a relação AG ómega-6 e ómega-3 variou com a origem das carnes, apresentando o valor mais elevado na carne Indiferenciada (18,5), enquanto a dos Açores apresentou o valor mais baixo, cerca de 76,2% inferior ao da Indiferenciada.

6. DISCUSSÃO

6.1 Gordura intramuscular na carne de bovino

A gordura intramuscular da carne de bovino apresentou um valor médio de 1,8%, não apresentando diferenças entre origens. Estes teores são aproximados a outros valores de carnes da Europa, como os reportados por (Cuvelier et al. 2006) para as raças Belga Blue, Limousin e Aberdeen Angus, onde o teor de gordura intramuscular variou de 0,65%,1,64% e 2,40%, respetivamente. Em carnes portuguesas foram reportados teores de gordura no músculo *longissimus dorsi* e *semitendinosus* de respetivamente, 2,3% e 1,8% na carne Barrosa-DOP (Alfaia et al. 2007) 1,8% e 1,2% na carne Mertolenga-DOP (Alfaia et al. 2006),1,2% e 0,6% na carne Carnalentejana-DOP (Alfaia et al. 2006), 2,9% e 2,1% na carne Arouquesa-DOP (Alfaia et al. 2007). Estes valores encontram-se dentro do intervalo dos teores em gordura intramuscular encontrados neste trabalho, ou seja, 0,43-3,25%. A quantidade de gordura intramuscular da carne e a sua composição em ácidos gordos têm um papel importante nos atributos de qualidade da carne, nomeadamente nas características sensoriais e nutricionais. De facto, a quantidade de gordura intramuscular na carne influencia geralmente de forma positiva as características organoléticas como a tenrura, a suculência e o flavor (Hocquette et al. 2010). A gordura intramuscular visível, também conhecida como marmoreado, é assumida como um critério positivo em algumas regiões, como na Ásia ou na América do Norte, já na Europa o excesso de gordura visível na carne é menos apreciado pelos consumidores. Nos Estados Unidos, por exemplo, o marmoreado é parte integrante da classificação da carne bovina porque os consumidores estão dispostos a pagar por carne de bovino de elevada qualidade, o mesmo não acontece na Europa. Portanto, as carnes de bovino na Europa apresentam geralmente um teor em gordura intramuscular mais baixo.

A grande variação no teor lipídico resulta de diferentes deposições de gordura intramuscular, que é uma característica complexa influenciada por fatores intrínsecos, como o genótipo, a diferenciação celular, estado de maturação ou tipo de músculo, e fatores extrínsecos relacionados com a nutrição e a quantidade e tipo de energia fornecida ao animal (Bessa et al. 2015). Em relação ao tipo de músculo, as peças de carne analisadas foram do redondo ou traseiro, podendo englobar uma série de músculos, pelo que não é possível associar os teores de lípidos ao tipo de músculo específico. Com relação ao sistema de alimentação, em geral, carnes de animais criados em pastoreio apresentam teores de gordura intramuscular mais baixos do que de animais com acabamento com alimentos compostos (Wood et al. 2008; Wood 2017). No entanto, neste trabalho também não temos informação concreta sobre a dieta dos animais, mas como algumas das carnes analisadas são certificadas como IGP ou DOP, elas têm de ser produzidas de acordo com os respetivos cadernos de encargos.

De acordo com o Caderno de encargos da carne dos Açores-IGP (DGADR 2020), o método de produção é definido por alimentação à base de erva de pastagens naturais ou melhoradas, permanecendo nas pastagens até à idade em que são abatidos. Na produção de carne Mertolenga, predominam as explorações agropecuárias de carácter extensivo, na sua maioria com áreas de montado de sobro e azinho. As pastagens naturais ou melhoradas e a bolota, os restolhos de culturas cerealíferas constituem a base da alimentação dos bovinos Mertolengos como definido no Caderno de encargos da Carne Mertolenga-DOP (DGADR 2020).

Na Carnalentejana-DOP o Caderno de encargos define que os núcleos de produção são normalmente caracterizados por vacadas de algumas dezenas de fêmeas em reprodução, criadas em regime extensivo de pastoreio normalmente em sob-coberto dos montados de azinho e sobro, em explorações onde a produção pecuária se efetua normalmente em simbiose com a produção de cereais (DGADR 2020). O aproveitamento das palhas e restolhos dos cereais pelos bovinos alentejanos, constitui prática normal e imprescindível à manutenção dos efetivos logo que as pastagens naturais começam a rarear, ou seja, durante o período que se estende desde o princípio do Verão até ao Inverno. Tendo em conta estes métodos de produção, a alimentação dos bovinos poderá variar ao longo do ano consoante a disponibilidade de pastagem e a possível suplementação com cereais, o que poderá ter contribuído para a grande variabilidade no teor de lípidos da carne (0,43-3,25%) (DGADR 2020).

6.2 Composição em ácidos gordos da carne de bovino

Com relação à composição em AG, os AGS foram predominantes na carne de bovino seguida dos AGMI de cadeia *cis*, AGPI ómega-6 e AG *trans*, o que comparando com os valores da tabela de composição de alimentos da Plataforma Portuguesa de Informação Alimentar (PortFIR 2021) na categoria de “Bife de vaca cru” (valor médio de acém, alcatra e lombo), as carnes analisadas neste trabalho apresentaram em média proporções elevadas em AGPI e baixas em AG *trans*. Verificaram-se diferenças na composição em AG entre as carnes Açores-IGP, Carnalentejana, Mertolenga-DOP e Indiferenciada, relativamente aos somatórios apenas o total de Outros-*trans* e os AG-ramificados variaram com a origem, apresentando níveis mais elevados nas carnes dos Açores. Esta diferença poderá estar relacionada com o sistema de produção e alimentação dos animais. A utilização de maior proporção de forragem relativamente aos cereais na dieta de ruminantes, está associado à maior abundância de bactérias celulolíticas no rúmen, as quais são caracterizadas por conterem uma elevada proporção de AG ramificados de cadeia iso (Vlaeminck et al. 2004). A presença destes AG ramificados na carne de ruminantes deriva assim dos microrganismos ruminais. No caso das carnes estudadas, e tendo em conta a descrição da produção de bovinos de cada uma das carnes certificadas, podemos sugerir que os níveis mais elevados de AG ramificados de cadeia iso nas carnes dos Açores, poderá indicar

uma alimentação dos animais à base de pastagens. De facto, as condições edafo-climáticas dos Açores permitem a existência e preservação de pastagens durante quase todo o ano comparativamente com as regiões de produção da Carnalentejana e Mertolenga que incluem regiões em condições agroclimáticas marcadamente mediterrânicas com verões muito quentes e secos, e assim frequentemente os animais são sujeitos a acabamentos com cereais (DGADR 2020).

O nível mais elevado de Outros-*trans* na carne dos Açores, que inclui intermediários da biohidrogenação ruminal como o 18:2*trans*-11,*cis*-15 e o 18:3*cis*-9,*trans*-11,*cis*-15, poderá estar também associado a maior ingestão de pastagens comparativamente com as carnes das outras origens. As pastagens, ao contrário dos cereais, são ricas em lípidos contendo o ácido linolénico (18:3*cis*-9,*cis*-12,*cis*-15 – 18:3*n*-3), o qual pode ser biohidrogenado no rúmen formando sequencialmente o 18:3*cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 por isomerização da dupla ligação no carbono C12, e o 18:2*trans*-11,*cis*-15 por hidrogenação da dupla ligação em C9-C10. Este último, poderá ser ainda hidrogenado formando o ácido vacénico (18:1*trans*-11), que é um dos principais intermediários da biohidrogenação do 18:3*n*-3 no rúmen, e posteriormente hidrogenado a 18:0 (Harfoot e Hazlewood 1997).

Ao contrário do total de Outros-*trans*, o total em AGMI-*trans* na carne de bovino, relativamente ao total de AG, não variou entre origens, no entanto o perfil em AG *trans* variou, especificamente os isómeros 18:1 *trans*-10, *trans*-11, *trans*-12 e *trans*-16. Destes os mais relevantes são o 18:1*trans*-10 e 18:1*trans*-11 que derivam da biohidrogenação ruminal do 18:2*n*-6 e 18:3*n*-3 da dieta, e que após formados no rúmen podem chegar ao intestino onde são absorvidos e posteriormente transferidos para a carne (Alves et al. 2021). A taxa de biohidrogenação do 18:2*n*-6 e 18:3*n*-3 no rúmen, e o perfil dos intermediários produzidos, varia com diversos fatores, como a composição da dieta, se a dieta é suplementada com óleos vegetais ou sementes de oleaginosas, a quantidade e tipo de fibra do alimento, ou mesmo o teor em taninos no alimento (Bessa et al. 2015).

Em geral, a carne de ruminantes alimentados com pastagens ou com proporções elevadas de forragem, é rica em 18:1*trans*-11, representando cerca de 55-60% do total de AGMI-*trans* (Alves et al. 2021; Bessa et al. 2007). Nas carnes analisadas neste trabalho a proporção de 18:1*trans*-11 no total dos AGMI-*trans* foi de 48%, 33%, 26% e 25% para as carnes dos Açores, Mertolenga, Indiferenciada e Carnalentejana, respetivamente. Sugerindo, mais uma vez que as carnes dos Açores provêm de animais alimentados com elevada proporção de forragens comparativamente aos outros, em particular com os animais das carnes da Carnalentejana. Contrariamente, quando os animais são alimentados com dietas com elevada proporção de cereais (alta concentração de amido) e baixa proporção de forragem, como é o caso dos animais

em sistemas de engorda intensiva, o AGMI-*trans* em maior proporção na carne deixa de ser o 18:1*trans*-11, passando a ser o 18:1*trans*-10. Esta alteração no perfil em AGMI-*trans* na carne reflete alterações na bioidrogenação ruminal dos AGPI, e é denominada como shift *trans*-10 (Alves et al. 2021; Bessa et al. 2007). O shift *trans*-10 é identificado pelo rácio 18:1*trans*-10/18:1*trans*-11 > 1 nos tecidos ou conteúdo digestivo e é um dos principais constrangimentos ao enriquecimento da carne dos ruminantes em AG benéficos à saúde humana como os CLA (Bessa et al. 2015; Alves et al. 2021). Nas carnes analisadas, e contrariamente às proporções em 18:1*trans*-11, a proporção de 18:1*trans*-10 no total dos AGMI-*trans* foi de 46%, 41%, 30% e 19% para as carnes Carnalentejana, Indiferenciada, Mertolenga, e Açores, respetivamente. O rácio 18:1*trans*-10/18:1*trans*-11 também só nas carnes dos Açores é que em média foi inferior a 1, nas restantes carnes foi mais >1. Assim, os resultados sugerem que os animais da Carnalentejana foram submetidos a acabamento com o fornecimento de alimentos à base de cereais comparativamente com os dos Açores. Num trabalho com bovinos da raça Alentejana foi demonstrado que o aumento do tempo de acabamento com dietas à base de cereais pode alterar a proporção de 18:1*trans*-10 e 18:1*trans*-11 na carne (Alfaia et al. 2009). Estes autores reportaram que a proporção de 18:1*trans*-11 na carne diminuiu de 1,35% em animais totalmente em pastagem para 1,15% em animais com 2 meses de acabamento, 1,1% para animais com acabamento de 4 meses e para 0,92% em animais alimentados só com cereais. Em sentido contrário o 18:1*trans*-10 aumentou na carne de 0,20% nos animais em pastagem para 0,98%, 0,81% e 1,21% com o aumento do tempo de acabamento de 2 meses, 4 meses ou exclusivamente a concentrado, respetivamente (Alfaia et al. 2009).

Uma das consequências do shift *trans*-10 em ruminantes é o baixo teor em CLA-*cis*-9,*trans*-11 na carne e leite de ruminantes, cujos efeitos benéficos à saúde humana estão bem descritos (Bessa et al., 2015). O CLA-*cis*-9,*trans*-11 na carne de ruminantes pode derivar da bioidrogenação ruminal do ácido linoleico, no entanto resulta em grande parte da desaturação endógena do 18:1*trans*-11 em CLA-*cis*-9,*trans*-11, catalisada pela enzima delta-9-desaturase. Assim, uma das formas de aumentar o teor em CLA-*cis*-9,*trans*-11 na carne é promover a formação de 18:1*trans*-11 no rúmen de modo a maximizar a sua transferência para os tecidos. Pelo contrário, a deposição de 18:1*trans*-10 nos tecidos não leva à formação de CLA pois os vertebrados não possuem as enzimas delta-8 e delta-12 para a conversão do 18:1*trans*-10 em CLA (i.e. CLA-*cis*-8,*trans*-10 ou CLA-*trans*-10,*cis*-12) (Bessa et al. 2015). Assim, quando o fluxo ruminal de 18:1*trans*-10 aumenta, ele é simplesmente acumulado nos tecidos e, portanto, as condições que favorecem o shift *trans*-10 reduzem a disponibilidade de substrato para a produção endógena de CLA-*cis*-9,*trans*-11 (Bessa et al. 2015). Neste trabalho, as carnes que apresentaram níveis mais elevados de CLA-*cis*-9,*trans*-11 foram as carnes dos Açores, cujos níveis de 18:1*trans*-11 e rácio 18:1*trans*-10/18:1*trans*-11 foram os mais elevados e mais baixos,

respetivamente. Estes resultados corroboram a hipótese de que as carnes dos Açores derivaram de animais em sistemas de produção mais extensivos ou com elevada proporção de forragem na alimentação.

Com relação aos AGPI na carne de bovino, não se observaram diferenças entre as origens, no entanto verificaram-se diferenças na composição em alguns AGPI. De facto, as proporções em AG da série ómega-3, incluindo o 18:3n-3, 20:5n-3 e 22:5n-3, foram mais elevadas nas carnes dos Açores (1,39, 0,92 e 1,25% do total de AG, respetivamente), o que suporta as hipóteses apontadas anteriormente. A maior disponibilidade de 18:3n-3 na dieta, possibilitou assim uma elevada síntese de 20:5n-3 e 22:5n-3 através dos mecanismos de desaturação e alongação, e uma maior deposição destes AG nas carnes dos açores comparativamente com as carnes indiferenciadas. Também se observaram valores elevados de AGPI ómega-3, nas carnes Mertolenga, de facto a descrição do sistema de produção definido no caderno de encargos da carne Mertolenga-DOP descreve que os bovinos são criados em sistema de exploração extensivo, com acesso a pastagens naturais e forragens, podendo, no entanto, ser feito acabamento à base de produtos da exploração ou então com alimentos compostos em alturas de menor disponibilidade de pastagens. Em trabalhos anteriores sobre a composição em AG da carne Mertolenga-DOP, os autores reportaram valores mais elevados de 18:3n-3 nos músculos *longissimus dorsi* e *semitendinosus* de animais abatidos na primavera (1,58 e 2,36% do total AG) comparativamente aos abatidos no outono (0,53 e 0,59% do total AG) devido a maior tempo de acabamento com concentrado destes últimos (Alfaia et al. 2006). Já os valores reportados por (Alfaia et al. 2006) para o 18:3n-3 na Carnalentejana DOP são mais baixos (em média 0,35% do total AG) aos encontrados na Carnalentejana deste trabalho (0,53% do total AG) o que poderá ser justificado por diferentes tempos de acabamento com cereais, no entanto, ao contrário do trabalho de Alfaia e colaboradores, neste trabalho não temos informação sobre a duração do acabamento antes do abate uma vez que as carnes foram adquiridas em superfícies comerciais.

6.3 Avaliação nutricional dos ácidos gordos da carne de bovino

Do ponto de vista nutricional, sabe-se que a ingestão de AG *trans* de origem industrial está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, assim tem sido implementada legislação para eliminar estes AG nos alimentos (Alves et al. 2021). Os AG *trans* nos produtos derivados dos ruminantes, como os encontrados na carne e leite, são denominados de AG *trans* de origem animal ou natural, e não têm sido associados aos mesmos efeitos deletérios à saúde humana. Assim, as recomendações e legislação para limitar ou banir os AG *trans* nos alimentos distingue os de origem industrial dos naturalmente presentes em lípidos de origem animal. A Organização Mundial de Saúde (WHO, 2019) recomenda que os AG *trans* de origem industrial não devem exceder 1% da energia ingerida (por exemplo, cerca de 2,2 g para uma dieta de 2000

calorias). A nível europeu, o Regulamento EU 2019/649 da Comissão de 24 de abril de 2019 define que o teor em AG *trans* de origem industrial não pode exceder 2 gramas por 100 g de lípidos nos alimentos. Se estas recomendações incluíssem os AG *trans* de origem animal, as carnes de bovino analisadas neste trabalho não estariam em conformidade com a legislação europeia, pois só em AGMI-*trans* foram contabilizados 2,63%, 2,76%, 2,61% e 2,98% do total de AG na carne dos Açores, Carnalentejana, Mertolenga e Indiferenciada, respetivamente. Mas de facto, os AG *trans* de origem animal têm sido diferenciados dos de origem industrial principalmente porque as gorduras de ruminantes contêm AG *trans* como o CLA-*cis*-9,*trans*-11 e o 18:1*trans*-11, que apresentam efeitos biológicos benéficos à saúde humana. No entanto, estudos mais recentes têm demonstrado que diferentes AG *trans* presentes na gordura de ruminantes podem apresentar efeitos biológicos distintos (Vahmani et al. 2020). Por exemplo, alguns estudos descrevem que o 18:1*trans*-10 promove efeitos biológicos deletérios similares aos dos AG *trans* de origem industrial. Assim, muitos produtos derivados dos ruminantes poderão não apresentar uma composição em AG *trans* muito saudável à saúde humana. Nas carnes analisadas verificou-se que apesar do teor total em AG-*trans* não variar entre as origens, o teor médio em 18:1*trans*-10 variou de 7,8 mg/100 g na carne dos Açores até 22 mg/100 g na Carnalentejana.

No entanto, vários autores têm reportado que existe uma grande variabilidade no teor em 18:1*trans*-10 e 18:1*trans*-11 na carne de animais produzidos nas mesmas condições, principalmente em animais alimentados com elevada proporção de cereais (Bessa et al. 2015). Neste trabalho, também se verificou alguma variabilidade no teor em 18:1*trans*-10 e 18:1*trans*-11 na carne (Gráfico 4), sendo que os valores mais elevados de 18:1*trans*-10 foram encontrados na carne Indiferenciada (75 mg/100 g de carne) e Carnalentejana (56,5 mg/100 g de carne). Se considerarmos que o 18:1*trans*-10 tem efeitos deletérios à saúde, e se o incluirmos nas recomendações da OMS para os AG-*trans* (<1% de energia consumida), seria preciso ingerir mais de 2 kg de carne numa dieta de 2000 calorias para exceder os níveis recomendados. No entanto, de acordo com a legislação europeia pelo menos 7 das carnes analisadas (3 Carnalentejanas, 2 Indiferenciadas, 1 Mertolenga e 1 Açores) excedem as 2g de 18:1*trans*-10 por 100 g de gordura, pelo que apresentam níveis superiores ao limite legal de AG *trans* nos alimentos destinados ao consumidor final.

Relativamente aos AG *trans*, existe alguma variabilidade entre as diferentes carnes analisadas e que as carnes Indiferenciadas e Carnalentejana certificada apresentam uma composição mais desfavorável à saúde humana por apresentarem concentrações mais elevadas em 18:1*trans*-10. No entanto, as informações existentes sobre a ingestão de 18:1*trans*-10 e os impactos na saúde humana não foram ainda suficientes para o estabelecimento de uma política

regulatória para controlar os alimentos derivados dos ruminantes com elevados teores em 18:1 *trans*-10 como recentemente revisto por (Alves et al. 2021).

Relativamente a outros indicadores lipídicos de interesse nutricional, verificou-se um menor rácio n-6/n-3 nas carnes dos Açores comparativamente com as outras carnes, como resultado de uma maior concentração de AG de cadeia ómega-3. A importância dos AG de cadeia ómega-3 na saúde humana é bem conhecida, nomeadamente o seu papel na promoção da saúde e redução do risco de doenças (Shahidi e Ambigaipalan 2018). O 18:3n-3 é um AG essencial que terá de ser obtido através da alimentação, daí o interesse em aumentar a sua concentração nos alimentos, sendo que as recomendações de ingestão diária de 18:3n-3 para um adulto são de cerca de 1 g/dia (>0,5% da energia). A carne de bovino demonstrou ser pobre em 18:3n-3, no entanto as carnes dos Açores são aquelas que poderão contribuir para uma maior ingestão de 18:3n-3 (no entanto 100 g de carne apenas contribui com 1,3% para as recomendações diárias). O interesse na ingestão em 18:3n-3 está relacionada com a sua conversão em 20:5n-3 e 22:6n-3 nos tecidos através de dessaturação e alongação. Estes AG estão associados a uma diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, para além disso o 20:5n-3 é precursor de eicosanóides com ação anti-inflamatória enquanto o 22:6n-3 está associado ao bom funcionamento das funções cerebrais e visão (Swanson et al. 2012). As recomendações de ingestão diárias de 20:5n-3+22:6n-3 para um adulto, são de cerca de 250-500 mg/dia. Assim, comparativamente com o 18:3n-3, também a carne de bovino não é uma boa fonte alimentar de 20:5n-3 e 22:6n-3, sendo que 100g de carne apenas contribuí 5% na carne dos Açores, 1,7% na carne indiferenciada e carnalentejana para as recomendações mínimas diárias de 20:5n-3+22:6n-3. No entanto, no que respeita ao teor em AG ómega-3, a carne dos Açores tem uma composição nutricional mais favorável à saúde humana comparativamente com as carnes indiferenciadas ou mesmo certificadas como a Carnalentejana, embora nenhum dos índices de aterogenicidade, trombogenicidade, razão hipocolesterolemia e hipercolesterolemia, ou mesmo a razão entre AGPI e AGS variou entre origens.

7. CONCLUSÃO

A análise do teor lipídico e perfil em ácidos gordos de carnes de bovino certificadas e não certificadas comercializadas na região de Lisboa demonstrou que tanto o teor lipídico como a composição em AG é variável entre origens, e entre carnes da mesma origem sendo influenciadas por fatores intrínsecos e extrínsecos do animal. No entanto, constatou-se que das carnes analisadas, as carnes dos Açores têm um perfil em AG mais benéfico à saúde humana, particularmente no que diz respeito ao perfil em AG *trans* e AGPI ómega-3. De facto, as carnes dos Açores foram as que apresentaram um teor em 18:1 *trans*-10 consistentemente mais baixo comparativamente com as carnes Indiferenciadas ou Carnalentejana. Assim, sugere-se que as condições edafoclimáticas dos Açores, que permitem a maior disponibilidade de pastagens durante longos períodos evitando a necessidade de acabamentos longos com alimentos concentrados, poderá beneficiar o valor nutricional da carne dos Açores no que diz respeito à composição em AG.

Por fim, considera-se que este trabalho é importante para expor dados sobre o perfil em AG *trans* da carne de bovino comercializada em Portugal e deste modo contribuir para aumentar a consciência dos produtores e dos consumidores sobre este tema. Espera-se que esta informação possa promover alterações nos métodos de produção da carne bovina por parte dos produtores de modo a produzir carnes com perfil em AG mais benéfico à saúde humana

8. REFERÊNCIAS

- Aldai, N., Renobales, M., Barron, L., & Kramer, J. (2013). What are the trans fatty acids issues in food after discontinuation of industrially produced trans fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115:1378-1401.
- Aldai, N., Dugan, M., Rolland, D., & Krame, J. (2009). Survey of the fatty acid composition of Canadian beef: Backfat and longissimus lumborum muscle. p. 315.
- Alfaia, C., Ribeiro, V., Lourenço, M., Quaresma, M., Martins, S., Portugal, A., Prates, J. (2006). Fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and cholesterol in beef from crossbred bullocks intensively produced and from Alentejana purebred bullocks reared according to Carnalentejana-PDO specifications. *Meat Science*, 72, pp. 425–436.
- Alfaia, C., Quaresma, M., Castro, M., Martins, S., Portugal, A., Fontes, C., Prates, J. (2006). Fatty acid composition, including isomeric profile of conjugated linoleic acid, and cholesterol in Mertolenga-PDO beef. *The Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, Issue 13, pp. 2196-2205.
- Alfaia, C., Castro, M., Martins, S., Portugal, A., Alves, S., Fontes, C., Prates, J. (2007). Effect of slaughter season on fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and nutritional value of intramuscular fat in Barrosã-PDO veal. *Meat Science*, 75 (1), pp. 44-52.
- Alfaia, C., Castro, M., Martins, S., Portugal, A., Alves, S., Fontes, C., Prates, J. (2007). Influence of slaughter season and muscle type on fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomeric distribution and nutritional quality of intramuscular fat in Arouquesa-PDO veal. *Meat Science*, 76, Issue 4, pp. 787-795.
- Alfaia, C., Alves, S., Martins, S., Costa, A., Fontes, C., Lemos, J., Prates, J. (2009). Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry*, 114, Issue 3, pp. 939-946.
- Alfaia, C. (2009). Contribution to the study of lipid composition and nutritional value of intramuscular fat in ruminant meats. *Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia Animal*. Acedido em 28.1.2021, em www.repository.utl.pt
- Alves, S., & Bessa, R. (2014). The trans-10,cis-15 18:2: a Missing Intermediate of trans-10 Shifted Rumen Biohydrogenation Pathway? *Lipids*, 49, pp. 527-541. doi:10.1007/s11745-014-3897-4
- Alves, S., Raundrup, K., Cabo, A., Bessa, R., & Almeida, A. (2015). Fatty Acid Composition of Muscle, Adipose Tissue and Liver from Muskoxen (*Ovibos moschatus*) Living in West Greenland. pp. 1- 21.
- Alves, S., Vahmani, P., Mapiye, C., McAllister, T., Bessa, R., & Dugan, M. (2021). *Trans*-10 18:1 in ruminant meats: A review. *Lipids*, pp. 1-24.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th revised and extended ed. ed.). © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- Bessa, R., Alves, S., & -Silva, J. (2015). Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European journal of Lipid Science and Technology*, 117, pp. 1325-1344.

- Bessa,R.,Alves, S.,Silva, J.,Cabrita,A., & Fonseca,A.(2013). Detailed Dimethylacetal and Fatty Acid Composition of Rumen Content from Lambs Fed Lucerne or Concentrate Supplemented with Soybean Oil. *Journal Pone*, 8; e 58386.
- Bessa,R.J.,Silva,J.,Ribeiro,J., & Portugal,A.(2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. In *Livestock Production Science* (Vol. 63, pp. 201-211). Elsevier B.V. All rights reserved, ISSN: 0301-6226.
- Bessa,R.,Alves,S.,Jerónimo,E.,Alfaia,C.,Prates,J., & Silva,J.(2007).Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, pp. 868–878.
- Bote,C.(2017).Chapter 4 - Chemical and Biochemical Constitution of Muscle. In F. Toldra´ (Ed.), *Lawrie´s Meat Science* (Eight Edition ed., Vols. in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 99-158). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- Cadavez,V.,Popova,T.,Bermúdez,R.,K.,Osoro,L.,Purrinos,R. Bodas,U.G.Barrona.(2020). Compositional attributes and fatty acid profile of lamb meat from Iberian local breeds. In *Small Ruminant Research* (Vol. 193). Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, 5300-253: Elsevier B.V. All rights reserved.
- Chardigny,J.,Destailats, F.,Malpueche-Brugere,C.,Moulin, J.,Bauman,D.,Lock, A.,& Sebedio,J.-L.(2008).Do trans fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects?Results of the trans Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT). *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87, pp. 558-566.
- Christie,W.(2012). Lipids: their structures and occurrence. In W. W. Christie, & H. Xianlin , *Lipid Analysis* (4^a ed., pp. 3-19). Copyright © 2010 Woodhead.
- Costa,N.,Cruz, R.,Graça,P.,Breda,J., & Casal,S.(2015). Trans fatty acids in the Portuguese food market. In G. Campbell-Platt (Ed.), *Food Control* (Vol. 64, pp. 128-134). Porto, Portugal: Elsevier Ltd.
- Costa, P., Lemos, J.P.,Lopes,P.A.,Alfaia,C.M., Costa, A.S.H., Bessa, R.J.B., & Prates, J.A.M. (2012). Effect of low- and high-forage diets on meat quality and fattyacid composition of Alentejana and Barrosã beef breeds. (T. A. 2012, Ed.) *The Animal*, pp. 1187–1197.
- Cuvelier,C.,A Clinquart,J.F.Hocquette,J.F.Cabaraux,I.Dufasne,L.Istasse, & J.L.Hornick.(2006). Comparison of composition and quality traits of meat from young finishing bulls from Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus breeds. *Meat Science*, 74, pp. 522-531.
- David,L., & Michael , M. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry* (Fourth Edition ed.). University of Wisconsin–Madison.
- DGADR.(2019).*Inquérito aos Agrupamentos de produtores de produtos com DOP/IGP/ETG*. da Direção Geral - de Agricultura e Desenvolvimento Rural: Acedido em 5.10.2020,https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/val/Relatorio_2019_DOP_IGP_ETG.pdf
- DGADR.(2020).CADERNO DE ESPECIFICAÇÕES - CARNALENTEJANA – DOP, Alteração em 2002/2006. *Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural*, 1- 41. Acedido em 5.10.2020, em https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod_imagens/carne/docs/CE_Carnalentejana.pdf
- DGADR.(2020).CADERNO DE ESPECIFICAÇÕES - Carne dos Açores IGP. *Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural*, 1-66. Acedido em 5.10.2020, em

https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod_imagens/carne/docs/CE_CarnedosacoresIGP.pdf

- DGADR.(2020).CADERNO DE ESPECIFICAÇÕES - CARNE MERTOLENGA DOP. *Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural* , 1-7. Acedido em 5.10.2020, em https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod_imagens/carne/docs/CE_Carne_Mertolenga.pdf
- Drackley,J.(2005).Chapter 13 Interorgan lipid and fatty acid metabolism in growing ruminants. In D. Burrin, & H. Mersmann (Eds.), *Biology of Metabolism in Growing Animals* (Vol. 3, pp. 323-350). Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana, IL 61801, USA: Elsevier Ltd. All rights reserved, ISSN: 1877-1823.
- Esteves,M.(2016). Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica/Produção Animal - O Consumo De Carne Bovina em Portugal no Contexto da sua Cadeia de Valor: Os Casos da Carne Alentejana DOP e Carne em Modo de Produção Biológico . Lisboa, Portugal : Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária . Retrieved from <https://www.repository.utl.pt/>
- FAO. (2020).Biannual Report on Global Food Markets. Rome: FAO. Retrieved 1 26, 2021, from <http://www.fao.org/3/ca9509en/ca9509en.pdf>
- FAO.ORG. (2014). Meat Quality. Rome: FAO.ORG. Acedido em 5.10.2020, em http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/quality_meat.html
- FAO.ORG. (2019).*Animal Production an Healt, Agriculture and Consumer Protection Department*. Obtido em 26 de 01 de 2021, de <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html>
- FDA. (2003).Food labeling: Trans fatty acids in nutrition libeling, nutrient content claims, and health claims (21 CFR Part 101) Fed. Regis.68:41434-1506. Retrieved 08 17, 2021, from <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2003-07-11/pdf/03-17525.pdf>
- Fennema, O.,Damodaran,S., & Parkin, K. (2007). *Fennema's Food Chemistry* (4th edition ed.). Madison, Wisconsin, USA: CRC Press.
- Ferlay,A.,Bernard,L.,Meynadier, A.,& Brugre,C.(2017).Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. In *Biochimie* (pp. 108-117). Elsevier B.V. and Société Française de Biochimie et Biologie Moléculaire (SFBBM). All rights reserved.
- Folch,J.,Lees M., & Stanley G.H.S.(1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, pp. 226:497–509. doi:PMID: 13428781
- Francisco,A.,S.P.Alves,P.V.Portugal,V.M.R.Pires,M.T.Dentinho,C. M. Alfaia,R.J.B.Bessa. (2016). Effect of feeding lambs with a tanniferous shrub (rockrose) and a vegetable oil blend on fatty acid composition of meat lipids. *The Animal*, 10, pp. 2061-2073.
- Fristische,J.,& Steinhart,H.(1998).Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Zeitschrift Fur Lebensmittel - Untersuchuna Und - Forschung a-*. *Food Rearch and Technology*, 206, pp. 77-82.
- Gebauer, S., & Baer, D. (2013). Trans-Fatty Acids: Health Effects, Recommendations, and Regulations. In Benjamin Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition - Third Edition* (pp. 288-292). US Department of Agriculture, Beltsville, MD, USA: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- Gehring,K. (2017). Meat and Health. In F. Toldra´, & Fidel Toldra´ (Ed.), *Lawrie´s Meat Science* (Eight Edition ed., Vols. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 661-678). Elsevier Ltd. All rights reserved.

- Government of Canada. (2021, August 10). Food and Drug Regulations (C.R.C., c. 870). Acedido em 17.8.2021, no https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/C.R.C.,_c._870/index.html
- GPP.(Nov. 2020). *Análise sectorial Carne bovino*. Acedido em 7.5.2021, from GGP-Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral: <https://www.gpp.pt/>
- Griinari,J., & Bauman,D.(1999). In: Advances in Conjugated Linoleic Acid Research (Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M.,Framer,J.K.G., Pariza, M.W. and Nelson, G.J., Eds.,(C. I. AOCS Press, Ed.) *Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid and Its Incorporation into Meat and Milk in Ruminants.*, 1, pp. 188-200. Retrieved 05 21, 2021
- Harfoot,C. G. , & Hazlewood, G. P.(1997). Lipid metabolism in the rumen, in () Ch. 9, 382-426 (Elsevier, 1997). (P.N. Hobson, Ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem, Ch.9*, pp. 382-426.
- Hernandez,C.,Deng,Z.,Zhou JQ, Hill AR,Yurawecz MP,& Delmonte P.(2004). Methods for analysis of conjugated linoleic acids and trans-18: 1 isomers in dairy fats by using a combination of gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography. *J AOAC Int.*, pp. 87: 545–62.
- Hocquette,J.,F.Gondret,E.Baéza,F.Médale,C.Jurie, & D.W.Pethick.(2010). Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal*, 4, pp. 303-319.
- INE.(2019) Instituto Nacional de Estatísticas - Estatísticas Agrícolas : 2018. Lisboa, Portugal: INE. Acedido em 26.01.2021, em <url:<https://www.ine.pt/xurl/pub/358629204>>. ISSN 0079-4139. ISBN 978-989-25-0495-7
- INE.(2021). Balanço de aprovisionamento de produtos animais. Portugal: INE, PT. Acedido em 26.01.2021, em https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod
- Jenkins,T.(1993).Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci*, pp. 76:3851-3863.
- Jenkins,T.,Wallace, R.,Moate,P.,& Mosley, E. (2008). BAORD- INVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.*, 86, pp. 397-412.
- Jornal Oficial da União Europeia. (2019, 4 25). *website of the European Union*. Acedido em 20.01.2021, em eur-lex.europa.eu: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32019R0649>
- Kuhnt,K.,Degen,C., & Jahreis,G.(2016).Evaluation of the Impact of Ruminant Trans Fatty Acids on Human Health: Important Aspects to Consider. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56:12, pp. 1964-1980.
- Ladeira,M.,Schoonmaker, J.,Swanson, K.,Duckett,S.,Gionbelli, M.,Rodrigues,L., & Teixeira,P. (2018). Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. In *Animal* (Vols. 12, Supplement 2,, pp. 282-294). The Animal Consortium.
- Lopes,C.,Torres,D.,Oliveira, A.,Severo, M.,V.Alarcão,S.Guiomar,Consórcio IAN-AF.(2015-2016). *Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF*. Acedido em 17.08. 2021, em <https://ian-af.up.pt/sites/default/files/IAN-AF%20Relatorio%20Metodol%C3%B3gico.pdf>
- Mapiye,C.,Vahmani, P.,Mlambo, P.,Muchenje, V.,Dzama, V.,Hoffman, K.,Dugan,M. (2015).The trans-octadecenoic fatty acid profile of beed: implications for global food and nutrition security. *Food Research International*, 76, pp. 992-1000.

- Meynadier, A., & Enjalbert, F. (2014). Biosynthesis of trans fatty acids in ruminants. In Frédéric Destailhats, Fabiola Dionisi, Jean-Louis Sébédo, & Jean-Michel Chardigny, *Trans Fatty Acids in Human Nutrition* (Vol. Second Edition • 2009, pp. 1-42). France: Copyright © 2009 Woodhead Publishing Limited. All rights reserved.
- Moloney, A., & McGee, M. (2017). Factors Influencing the Growth of Meat Animals. In Fidel Toldra (Ed.), *Lawrie's Meat Science* (Eight Edition ed., Vols. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 19-47). Teagasc, Grange, Dunsany, Co. Meath, Ireland: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- Oliveira, M. (2017). *Estratégias nutricionais na modulação da bioidrogenação ruminal com vista à melhoria do perfil de ácidos gordos da carne de ruminantes*. Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias na Especialidade de Produção Animal, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Acedido em 28.1.2021, no <https://www.repository.utl.pt>
- Philip, C., & Graha, C. (2004). Fatty acids. In Anna Nicolaou, & George Kokotos (Eds.), *Bioactive Lipids* (Vol. A volume in Oily Press Lipid Library Series, pp. 1-36). University of Southampton, Southampton, UK: Copyright © 2004 Woodhead Publishing Limited. All rights reserved.
- PortFIR. (2021). *Plataforma Portuguesa de Informação Alimentar*. Acedido em 7.08.2021, em PortFIR: <http://portfir.insa.pt/>
- Quaresma, M., Rodrigues, I., Alves, S., & Bessa, R. (2015). Meat lipid profile of suckling goat kids from certified and noncertified production systems. *Small Ruminant Research*, pp. 49-57.
- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., Winne, A., Claeys, E., Demeyer, D., & Smet, S. (2003). Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*, 65, pp. 1237–1246.
- REGULAMENTO (CE) N. 509/2006 de 20 de Março de 2006. *Do Conselho, relativo às especialidades tradicionais garantidas dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios*. Jornal Oficial da União Europeia.
- REGULAMENTO (CE) N. 510/2006 de 20 de Março de 2006. *Do Conselho, relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios*. Jornal Oficial da União Europeia.
- REGULAMENTO (UE) 2019/649 de 24 de abril de 2019. *Que altera o anexo III do Regulamento (CE) n.º 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere aos ácidos gordos trans, com exceção dos ácidos gordos trans naturalmente presentes em lípidos de origem animal*. A COMISSÃO EUROPEIA. Jornal Oficial da União Europeia .
- Regulamento (CEE) n.º 2081/92 de 14 de Julho de 1992. *Relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios*. Conselho da União Europeia.
- Roe, M., Pinchen, H., Church, S., Elahi, S., Walker, M., Wilson, M., Finglas, P. (2012). Trans fatty acids in a range of UK processed foods. In Paul Finglas, *Food Chemistry* (pp. Pages 427-431). Quadram Institute Bioscience, NR4 7UA, Norwich, United Kingdom: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annual review of food science and technology*, 9, pp. 345-381.
- Shingfield, K., Bonnet, M., & Scollan, N. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7, pp. 132-162.

- Swanson,D.,Block, R., & Mousa,S.(2012).Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life . *Advances in Nutrition*, 3, pp. 1-7. doi:10.3945/an.111.000893
- Swanson,K.C.(2019). Small Intestinal Anatomy, Physiology, and Digestion in Ruminants. In *Reference Module in Food Science*. Department of Animal Sciences, North Dakota State University, Fargo, ND, United States: Elsevier Inc. All rights reserved.
- Ulbricht,T., & Southgate, D.(1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *REVIEW ARTICLE*, pp. 985-92.
- Vahmani,P.,Ponnampalam,E., Watkins, P.,Jana Kraft, Cletos Mapiye,Emma N.Birmingham, Dugan, M. (2020). Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. *Meat Science*, 165.
- Vlaeminck,B.,R.J. Dewhurst,D. Demeyer, & V.Fievez. (2004). Odd and branched chain fatty acids to estimate proportions of cellulolytic and amyolytic particle associated bacteria. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13, p. 235–238.
- Wanders,A., Zock,P., & Brouwer,I.(2017). Trans Fat Intake and Its Dietary Sources in General Populations Worldwide: A Systematic Review. *Nutrients*, 9:840. 0
- Warner,R. (2017). Chapter 14 - The Eating Quality of Meat—IV Water-Holding Capacity and Juiciness. In Fidel Toldra´ (Ed.), *Lawrie´s Meat Science* (Eight Edition ed., Vols. in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 419-459). Melbourne University, Parkville, VIC, Australia: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- WHO.(2019).World Health Organization, (WHO/NMH/NHD/18.4). Replace *trans* fat. Acedido em 17.08 2021, em <https://www.who.int/news/item>
- WHO.(2020)."WHO announces certification programme for trans fat elimenation", 17 November 2020, Departmental news. Acedido em 17.08 2021, em <https://www.who.int/news/item/17-11-2020-who-announces-certification-programme-for-trans-fat-elimination>
- Wood,J.(2017).Chapter 20 - Meat Composition and Nutritional Value. In J. Wood, & Fidel Toldra´ (Ed.), *Lawrie´s Meat Science* (Eighth Edition ed., Vols. in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 635-659). University of Bristol, Bristol, United Kingdom: Elsevier Ltd. All rights reserved.
- Wood,J.,M.Enser, A.V.Fisher, G.R.Nute, P.R.Sheard, R.I.Richardson,F.M.Whittington. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, pp. 343-358.

9. ANEXOS

Anexo I: Extração e transesterificação de lípidos de amostras liofilizadas

Método: LSPA-C3.1

Última alteração: 11-10-2013

1º PARTE: Extração de lípidos (adaptado de Folch et al.1957)

Para determinação do teor em gordura este procedimento é feito em triplicado:

- 2 para gordura total – análise ponderal
- 1 para metilação – análise de ácidos gordos

Reagentes e soluções:

- Metanol;
- Diclorometano;
- Diclorometano: Metanol (2:1) - com a adição de 25 mg/L de BHT;
- Solução cloreto de potássio (0,88%) ou cloreto de sódio (0,73 %) em água;

Preparativos:

Na véspera:

- Tarar os erlenmeyers: colocar na estufa a 70°C com uma pinça durante 2h, retirar da estufa e colocar no exsiccador durante 1 hora e pesar (voltar a colocar no exsiccador); Nota: Não tocar com os dedos e não escrever nos erlenmeyers.
- Pesar a amostra para os tubos de 16 ml que se guarda no frio;
- Dobrar os filtros separadores de fases e os filtros normais;
- Preparar o diclorometano: metanol (2:1);
- Preparar a solução salina de cloreto de potássio ou cloreto de sódio;

Procedimento:

1. Pesar 0,200 g de amostra de carne liofilizada para os tubos de vidro; (NOTA: no caso de amostras de gordura pesar cerca de 0,100 g);
2. Adicionar 2 ml de metanol e deixar humedecer durante 5 min;
3. Colocar no banho de ultrassons durante 5 min a 30°C;
4. Adicionar 4 ml de diclorometano, agitar no vortex e colocar no banho de ultrassons durante 10 min a 30°C;
5. Centrifugar para separar a fase sólida (10 min) e retirar o máximo de solvente para outro tubo (de 23 mL), passando por um filtro normal;
6. Adicionar à fase sólida 6 ml de diclorometano:metanol (2:1), agitar no vortex e colocar no banho de ultrassons durante 10 min a 30°C;
7. Centrifugar para separar a fase sólida (5 min) e retirar o máximo de solvente para o tubo do passo 5, passando pelo filtro normal;

8. Adicionar à fase sólida 6 ml de diclorometano:metanol (2:1), agitar no vortex e colocar no banho de ultrassons durante 5 min a 30°C;
9. Centrifugar para separar a fase sólida (5 min) e retirar o máximo de solvente para o tubo do passo 5, passando pelo filtro normal;
10. Adicionar ao filtrado (tubo do passo 5) 3,6 ml de solução de cloreto de potássio 0,88% ou cloreto de sódio 0,73%, agitar no vortex (10 seg) e centrifugar (5 min);
11. Retirar a parte inferior (com pipeta de Pasteur) passando por um filtro separador de fases (que se humedece com diclorometano) para:
 - Tubo de 23 mL – análise de perfil de ácidos gordos
 - Erlenmeyers de 50 ml previamente tarados – análise ponderal
12. Levar os erlenmeyers ao evaporador rotativo a 37°C e o tubo ao evaporador de corrente de azoto a 37°C para posterior transesterificação;
13. Colocar os erlenmeyers na estufa a 40°C durante 2 horas. Retirar os erlenmeyers da estufa, colocar no exsiccador e pesar após 1 hora. Repetir o procedimento até peso constante.

Cálculo para determinação do teor lipídico:

$$LT (\%) = \frac{m EA (mg) - m E (mg)}{Peso da amostra (g)} \times \%MS da carne$$

Em que:

m EA – peso do erlenmeyer + amostra

m E – peso do erlenmeyer

Anexo II: 2º PARTE: Transesterificação combinada

Reagentes e soluções:

- Tolueno Seco;
- n-Hexano – com a adição de 25 mg/L de BHT;
- n-Hexano para GC;
- Metóxido de sódio 0,5M em metanol anidro;
- Ácido clorídrico em metanol 1,25M (Sigma REF17935) ou preparar solução 5% HCl em metanol por adição de cloreto de acetilo em metanol seco (ATENÇÃO: reação isotérmica, adicionar muito lentamente e com agitação o cloreto de acetilo ao metanol);
- Sulfato de sódio anidro;
- Solução aquosa 6% K₂CO₃;
- Padrão interno, C19:0 ou C21:0 éster metílico (1 mg/ml em n-Hexano).

Procedimento: (Nota: usar reagentes desidratados e tubos com tampas de teflon)

1. Adicionar 1 ml de tolueno seco ao extrato lipídico (deixar de preferência de um dia para o outro no frigorífico);
2. Adicionar 1 ml de padrão interno e 3 ml de metóxido de sódio 0,5M;
3. Agitar no vortex (10 seg.) e colocar no banho de água com agitação (40 rpm) a 50°C durante 30 min;
4. Retirar do banho e deixar arrefecer à temperatura ambiente (aprox. 15 min);
5. Adicionar 2 ml de HCl em metanol, agitar no vortex (10 seg.) e colocar no banho de água a 80°C durante 15 min (40 rpm).
6. Deixar arrefecer à temperatura ambiente (aprox. 15-20 min) e posteriormente adicionar 2 mL de solução aq. 6% K₂CO₃ (adicionar em 2 porções de 1 ml);
7. Adicionar 2 ml de n-hexano, agitar no vortex (10 seg.) e centrifugar (durante 5 min);
8. Recolher o sobrenadante (fase superior) para outro tubo que já contém aprox. 0,5 g de sulfato de sódio anidro;
9. Repetir o passo 7 colocando o sobrenadante no mesmo tubo do passo 8;
10. Agitar em vortex (10 seg.), centrifugar (durante 5 min) e transferir o solvente para outro tubo;
11. Evaporar o solvente em corrente de azoto a 37°C, ressuspender em 1 ml de n-hexano para GC e transferir para um vial.