

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
E BIOQUÍMICA



**Estudo da variação sazonal dos lípidos da cavala e avaliação
da bioacessibilidade em modelo digestivo *in vitro***

Inês Santinhos Ferreira

**Mestrado em Química
Especialização em Química**

Dissertação orientada por:
Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra
Professora Doutora Amélia Pilar Grases dos Santos Silva Rauter
2020

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso cante, chore, dance, ria e viva intensamente; antes que a cortina se feche e a peça acabe sem aplausos “

Charles Chaplin

Agradecimentos

Esta dissertação representa o final de mais uma etapa da minha vida académica e o começo de outras tão ou mais desafiantes.

Quero começar por agradecer à professora Amélia Rauter por todo o esforço, disponibilidade e amabilidade que demonstrou desde o início desta minha etapa. À Dra. Narcisa Bandarra, chefe da divisão de aquacultura, valorização e bioprospeção do IPMA, que me aceitou como sua mestranda, que acreditou sempre em mim, que demonstrou um entusiasmo permanente e me integrou no seu grupo de trabalho. Por uma orientação exemplar pautada por um interesse inexcedível, por uma visão crítica e opiniões construtivas, sempre com o objetivo de esclarecer dúvidas e solucionar problemas.

A todo o grupo de trabalho da divisão de aquacultura, valorização e bioprospeção do IPMA, ao João Francisco, à Romina Gomes, ao Dr. Carlos Cardoso e à minha companheira de todos os dias Filipa Falcato por toda a ajuda, pela disponibilidade que sempre demonstraram qualquer que fosse a minha dúvida.

À técnica Júlia Ferreira que me acompanhou no laboratório e me ensinou todas as técnicas laboratoriais. Uma peça fundamental para a minha evolução, aprendizagem e autonomia. À Dra. Ana bispo, uma pessoa incrível que sempre me ajudou, incentivou, pela paciência e conselhos nos momentos mais críticos e pela constante partilha de conhecimentos. À Dra. Cláudia Afonso pela disponibilidade, pela transmissão de conhecimentos e pelo acompanhamento principalmente no processo de bioacessibilidade.

Ao meu círculo de amigos, em especial a ti Joana que me acompanhaste ao longo destes dois anos, que me deste na cabeça, mas que essencialmente me apoiaste e ajudaste nos momentos mais difíceis sem me deixar ceder e quebrar. As palavras são efémeras, mas as tuas ações demonstram a amizade verdadeira. “É nos momentos menos bons que os verdadeiros permanecem”. Obrigada.

Por último, mas os mais importantes, à minha família. Ao meu pai, Amílcar, à minha mãe Florbela e ao meu irmão David por me incentivarem, por serem o meu pilar e por serem a minha força. Pela união, ao longo destes dois anos difíceis que nos permitiu transformar os pedregulhos em pedrinhas e passarmos por cima de todas as adversidades. Mano, obrigada por seres um chato carinhoso e o meu orgulho. Pais, obrigada pela demonstração de garra com que me presenteiam todos os dias.

Dedico esta dissertação aos meus avós, Maria e João, amor eterno.

Resumo

A cavala do atlântico, *Scomber colias* (Gmelin, 1789), é um dos principais recursos piscatórios do mundo. É um peixe pelágico com um grande valor nutricional, devido ao elevado teor de gordura (n-3 PUFA), proteínas e vitaminas do complexo B. A análise química (variação sazonal na composição química, lipídica e bioacessibilidade), foi efetuada em amostras de cavala adquiridas mensalmente no mercado durante o período de um ano (março de 2019-fevereiro de 2020). Entre o período de março e fevereiro foram registadas diferenças significativas em relação ao teor de gordura, apresentando o mínimo em fevereiro (1,3 g/100g) (período de desova) e o máximo em setembro (10,3 g/100g).

Em relação ao perfil de ácidos gordos, os SFA registaram um máximo entre março (644,1 mg/100g) e agosto (1184,9 mg/100g). No entanto, a fração dominante foram os PUFA, que entre abril e agosto apresentou valores inferiores a 50%, mas entre setembro e março foi sempre superior a 50%. Em termos absolutos, os PUFA atingiram o máximo em setembro (5352,6 mg/100g), onde 2473,8 mg/100g correspondem ao ácido docosahexaenóico (DHA) representando assim 46,2% do total dos PUFA. Em conjunto o EPA + DHA, representam 75% do total de PUFA e 84% dos n-3 PUFA. Tendo em atenção que a cavala é rica em PUFA, este peixe apresenta assim vantagens para a saúde, uma vez que já foi reconhecido que o consumo de pelo menos 250 mg/100g dia de DHA conferem benefícios para a saúde mental, nomeadamente para a doença de Alzheimer e na prevenção de processos anti-inflamatórios e doenças cardiovasculares. Abordando a variação sazonal das classes de lípidos, os triacilgliceróis (TAG) foram a principal classe de lípidos com uma variação entre 82,2% (outubro) e 92,1% (junho). A fração lipídica polar (PL) é constituída principalmente por PUFA entre 68,6% em outubro e 74,5% em março, nomeadamente DHA, sendo que a maior percentagem foi obtida para a cavala magra (março) com 55,1%. Foram encontradas também elevadas quantidades de PUFA na fração de lípidos não polares (TAG).

Com o intuito de estudar a bioacessibilidade dos lípidos totais em particular dos ácidos gordos na amostra de cavala em diferentes épocas do ano e com diferentes percentagens de gordura (2,9%, 6,2% e 9,8%), utilizou-se o modelo de digestão *in vitro*. Através da TLC analítica pode-se observar a hidrólise total dos TAG nos diferentes meses. De realçar também que a fração maioritária em todos os meses analisados (março, junho e outubro) foram os ácidos gordos livres (FFA) com um máximo de 67,2% em março e o mínimo de 65,8% em outubro. Em relação ao perfil de ácidos gordos da fração bioacessível esta apresenta, em geral, valores muito inferiores ao inicial (antes da digestão) como era previsível. A totalidade de cada ácido gordo não fica disponível para absorção após o processo de digestão. Em geral todos os FA apresentam uma bioacessibilidade superior a 50%, sendo que os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) totais contêm as maiores percentagens com cerca de 77% de bioacessibilidade, em média. Os SFA apresentam uma bioacessibilidade apenas 2% inferior aos MUFA que comparando com a bioacessibilidade média dos PUFA (57%) evidencia a maior bioacessibilidade para FA mais saturados. A bioacessibilidade dos PUFA varia entre 53% e 74%, em outubro e junho, respetivamente. No caso do EPA e do DHA, a bioacessibilidade do EPA foi superior em 13% em relação ao DHA, mas ambos apresentam bioacessibilidade inferiores a 70% nos meses de março e outubro. Apesar das diferenças na bioacessibilidade entre frações e FA, as quantidades finais principalmente de EPA e DHA disponíveis para absorção são suficientes para consumir as doses diárias recomendadas de 250 mg/100g dia de DHA e de 500 mg/100g dia de EPA + DHA para um normal funcionamento do cérebro assim como para prevenir outras doenças, ditando uma vida saudável.

Palavras-chave: Saúde mental, cavala (*Scomber colias*), ácidos gordos, ómega-3, ácido docosahexaenóico (DHA), bioacessibilidade.

Abstract

The Atlantic chub mackerel, *Scomber colias* (Gmelin, 1789), is one of the main fisheries resources in the world. It's a pelagic fish with a high nutritional interest due to its high fat content (n-3 PUFA) high protein contents and vitamins from complex B. Chemical analysis (the seasonal variation in chemical lipid composition and bioaccessibility), was performed on samples of chub mackerel acquired monthly in Portuguese market throughout a period of one year (March 2019–February 2020). In the period between March and February significant seasonal changes regarding fat content were noticed, showing a minimum in February (1.3 g /100g) (spawning season) and a maximum in September (10.3 g/100g).

Regarding the fatty acids (FA) profile, saturated fatty acids (SFA) recorded a maximum between March (644.1 mg/100g) and August (1184.9 mg/100g). However, the dominant fraction was the polyunsaturated fatty acids (PUFA), which between April and August presented values below 50 %, but between September and march it was always higher than 50 %. In absolute terms, PUFA reached their peak in September (5352.6 mg/100g) where 2473.8 mg/100g correspond to docosahexaenoic acid (DHA), representing 46.2 % of total PUFA. Together EPA + DHA, represented 75 % of total PUFA and 84 % of n-3 PUFA. Considering that chub mackerel is rich in PUFA, this fish has health benefits, since it has already been recognized that the intake of at least 250 mg/100g day of DHA bring benefits for mental health, namely Alzheimer's disease and in prevention of anti-inflammatory processes and cardiovascular diseases.

Regarding the seasonal variation of lipid classes, triacylglycerols (TAG) was the main lipid class with a variation between 82.2 % (October) and 92.1 % (June). Polar lipid fraction (phospholipids) was predominantly constituted by PUFA between 68.6 % in October and 74.5 % in March, namely DHA, the highest percentage was obtained for lean mackerel (march) with 55.1 %. High amounts of PUFA were also found in the nonpolar lipids fraction (TAG).

To study the bioaccessibility of total lipids in particular the fatty acids in the mackerel sample at different times of the year and with different fat contents (2.9 %, 6.2 % and 9.8 %), the *in vitro* digestion model was used. Through analytical thin layer chromatography (TLC), total hydrolysis of TAG can be observed in the different months. It should also be noted that the majority fraction in all months (march, June, October) were free fatty acids (FFA) with a maximum of 67.2 % in March and a minimum of 65.8 % in October. Regarding bioaccessible fatty acids profile, it generally shows values much lower than the initial (before digestion) as expected. The totality of each fatty acid is not available for absorption after digestion process.

In general, all FA have a bioaccessibility of more than 50 %, and total monounsaturated fatty acids (MUFA) contain the highest percentages with about 77 % of bioaccessibility, on average. SFA have a bioaccessibility only 2 % lower than MUFA, which compared to bioaccessibility average of PUFA (57 %), evidences the higher bioaccessibility for more saturated fatty acids. The bioaccessibility of PUFA varies between 53 % and 74 % in October and June, respectively. In the case of EPA and DHA, EPA bioaccessibility was 13 % higher than DHA, but both have bioaccessibility below 70 % in March and October. Despite the differences in bioaccessibility between fractions and FA, the final amounts of EPA and DHA available for absorption are sufficient to intake the recommended daily doses of 250 mg/100g day of DHA and 500 mg/100g day of EPA + DHA for a normal brain function as well as to prevent other diseases, dictating a healthy life.

Keywords: Mental health, chub mackerel (*Scomber colias*), fatty acids, omega-3, docosahexaenoic acid (DHA), bioaccessibility.

Comunicação de Invenção

Da realização desta tese, resultou:

- A publicação de um artigo relacionado com a variação sazonal da composição química e do perfil lipídico da cavala.

Ferreira, I., Gomes-Bispo, A., Lourenço, H., Matos, J., Afonso, C., Cardoso, C., ... Bandarra, N. M. (2020). The chemical composition and lipid profile of the chub mackerel (*Scomber colias*) show a strong seasonal dependence: Contribution to a nutritional evaluation. *Biochimie*. doi: 10.1016/j.biochi.2020.09.022

- A elaboração de um poster e de um resumo/abstract intitulado “Chub mackerel (*Scomber colias*): a sustainable seafood and a privileged source of DHA” para o XIX Congresso de Nutrição e Alimentação e II congresso internacional de nutrição e alimentação que decorreram nos dias 14 e 15 de maio (Anexos 5 e 6, respetivamente).

Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo	V
Abstract.....	VII
Comunicação de Invenção.....	IX
Lista de Figuras.....	XIII
Lista de Tabelas.....	XIV
Lista de Esquemas.....	XV
Lista de Abreviaturas	XVI
1. Introdução	1
1.1. Função cognitiva em população envelhecida.....	1
1.1.1. Doenças associadas à idade e à cognição.....	2
1.1.2. Saúde cognitiva	3
1.2. Metabolismo lipídico.....	3
1.2.1. Metabolismo dos lípidos de origem exógena.....	5
1.2.2. Metabolismo dos lípidos de origem endógena.....	5
1.2.3. Biossíntese dos ácidos gordos.....	6
1.2.4. Bioacessibilidade	8
1.3. Efeito benéfico dos n-3 PUFA na dieta	9
1.3.1. Funções dos PUFA	9
1.3.2. Associação entre os PUFA e a doença de Alzheimer.....	10
1.3.3. DHA e EPA	11
1.3.4. DHA e EPA na gravidez.....	13
1.3.5. Índice ômega-3, fator de risco	14
1.4. Composição química	15
1.4.1. Mercúrio e selênio	15
1.4.2. Aminoácidos.....	15
1.4.3. Vitamina B12.....	16
1.5. Lípidos no pescado	17
1.5.1. Cromatografia gasosa (GC)	18
1.6. Importância do pescado na dieta.....	18
1.6.1. Cavala.....	19
1.6.2. Características gerais	20
1.6.3. Distribuição geográfica e habitat	21
1.6.4. Hábitos alimentares	21

1.6.5.	Importância económica.....	22
2.	Objetivo.....	22
3.	Materiais e métodos.....	23
3.1.	Instrumentação, reagentes e solventes	23
3.2.	Amostragem	24
3.3.	Extração de lípidos totais.....	24
3.4.	Quantificação de teor de gordura.....	25
3.5.	Classes de lípidos (TLC analítica)	25
3.6.	Determinação das classes de lípidos	25
3.6.1.	TLC preparativa.....	25
3.6.2.	Transesterificação com catálise ácida	26
3.7.	Determinação do perfil de ácidos gordos.....	26
3.8.	Análise cromatográfica.....	26
3.9.	Composição química	27
3.9.1	Determinação do teor de cinza.....	27
3.9.2	Determinação do teor de humidade	27
3.9.3	Determinação do teor de proteína	27
3.9.4	Determinação do teor de gordura.....	28
3.9.5	Determinação do teor de fósforo.....	28
3.10.	Digestão <i>in vitro</i> da cavala	28
3.10.1.	Extração lipídica da fração bioacessível	30
3.10.2.	Determinação das classes de lípidos da fração bioacessível por TLC.....	31
3.10.3.	Determinação do perfil de ácidos gordos da fração bioacessível	31
3.11.	Tratamento estatístico dos dados	31
4.	Resultados e discussão	32
4.1.	Caracterização biométrica	32
4.2.	Composição química	33
4.1.	Perfil de ácidos gordos	34
4.2.	Classes de lípidos	38
4.3.	Composição de ácidos gordos polares e não polares	39
4.4.	Determinação da composição lipídica na fração bioacessível.....	42
4.6.1.	Identificação das classes de lípidos na fração bioacessível	42
4.6.2.	Perfil de ácidos gordos da fração bioacessível	44
4.6.3.	Bioacessibilidade de cada ácido gordo	45
5.	Conclusão.....	50
6.	Perspetivas Futuras.....	51

7. Referências.....	52
Anexos	59
Anexo I.....	59
Anexo 2.....	60
Anexo 3.....	61
Anexo 4.....	62
Anexo 5.....	63
Anexo 6.....	64

Lista de Figuras

Figura 1.1 Diferenças entre a inteligência fluída e cristalizada com o envelhecimento. (Fonte: Cattell (1963)).	1
Figura 1.2 Córtex pré-frontal.	2
Figura 1.3 A) Degeneração de um cérebro saudável para um cérebro com Alzheimer. B) Localização do hipocampo e do córtex entorrinal.	3
Figura 1.4 Estrutura molecular do triacilglicerol	4
Figura 1.5 Estrutura molecular dos fosfolípidos	4
Figura 1.6 Estrutura geral de um esfingolípido	4
Figura 1.7 Estrutura molecular do colesterol	5
Figura 1.8 Representação da β -oxidação, segundo Lynen, em que cada espira corresponde a um encurtamento de 2 átomos de carbono no FA.	6
Figura 1.9 Numeração carbónica de um ácido gordo	7
Figura 1.10 Conversão de ALA em DHA (Fonte: Lenihan-Geels et al. (2013)).	12
Figura 1.11 Cascata de reações para o ARA, EPA e DHA e consequente resultado inflamatório (Calder, 2010).	13
Figura 1.12 Ciclo da homocisteína.	17
Figura 1.13 Constituição do GC.	18
Figura 1.14 Variação da captura e aquacultura no pescado (FAO, 2020).	19
Figura 1.15 Cavala (Scomber Colias).	20
Figura 1.16 Distribuição geográfica da cavala (fonte: http://www.fishbase.se/summary/Scombercolias.html).	21
Figura 1.17 Representação da divisão pelágica do oceano.	21
Figura 1.18 Histograma da captura global da espécie Scomber Colias em toneladas desde 1990 até 2014 baseado no FAO 2016.	22
Figura 3.1 Parâmetros biométricas para a cavala.	24
Figura 3.2 Diagrama do analisador de azoto LECO pelo método <i>DUMAS</i> (Fonte : Saint-Denis and Goupy (2004)).	28
Figura 4.1 Alterações sazonais da composição química (%) da cavala (A – cinza e proteína; B – gordura e humidade).	33
Figura 4.2 Cromatograma do mês de dezembro	34
Figura 4.3 A) TLC da fração bioacessível de março e junho. B) TLC da fração bioacessível de outubro e do controlo (branco)	42

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 Classificação do pescado.Ackman (1990).	17
Tabela 3.1 Composição dos sucos digestivos utilizados na digestão <i>in vitro</i>	29
Tabela 4.1. Características biométricas mensais da cavala.	32
Tabela 4.2. Variação sazonal do perfil de ácidos gordos na cavala na parte edível, expressos em percentagem relativa.	35
Tabela 4.3. Variação sazonal do perfil de ácidos gordos na cavala na parte edível, expressos mg/100g ww.....	36
Tabela 4.4. Composição das classes de lípidos (% lípidos totais) da cavala em diferentes meses do ano.	38
Tabela 4.5 Variações sazonais do perfil de ácidos gordos nos lípidos polares e não polares da cavala magra, meio-gorda e gorda. ((conteúdo relativo (% ácidos gordos totais)).	39
Tabela 4.6 Comparação da composição das classes de lípidos (% lípidos totais) inicial da cavala com a fração bioacessível em diferentes meses do ano.	43
Tabela 4.7 Perfil de ácidos gordos da fração bioacessível da cavala, na parte edível, expressos em percentagem relativa (% dos ácidos gordos totais) e percentagem de lípidos totais bioacessível.	44
Tabela 4.8 Comparação do teor de ácidos gordos inicial e do teor de ácidos gordos disponíveis para ser absorvidos após a digestão em mg/100g ww de parte edível.	45

Lista de Esquemas

Esquema 1.1 Representação esquemática da biossíntese dos ácidos gordos essenciais. (Adaptado de Leonard et al. (2004)).....	14
Esquema 3.1 Representação esquemática do modelo digestivo <i>in vitro</i> . Este processo desenvolve-se em 3 etapas, na boca, estômago e no intestino delgado. Em todas as etapas a amostra deve manter-se por volta dos 37 °C.	29

Lista de Abreviaturas

AA	Aminoácidos
AD	<i>Alzheimer disease</i> (Doença de Alzheimer)
AI	<i>Atherogenic index</i> (Índice de aterogenicidade)
ALA	Ácido α -linolénico
ApoE	Alelo apolipoproteína E4
APP	Proteína precursora amiloide
ARA	Ácido araquidónico
C	Carbono
Ca	Cálcio
CF	Cumprimento furcal
CNS	<i>Central nervous system</i> (Sistema nervoso central)
COX	Enzima cicloxigenase
CT	Cumprimento total
DAG	Diacilgliceróis
DDR	Dose diária recomendada
DHA	Ácido docosahexaenóico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAA	<i>Essential amino acids</i> (Aminoácidos essenciais)
EFA	<i>Essential fatty acids</i> (Ácidos gordos essenciais)
EPA	Ácido eicosapentaenóico
FA	<i>Fatty acid</i> (Ácido gordo)
Fe	Ferro
FFA	<i>Free fatty acids</i> (Ácidos gordos livres)
FAME	<i>Fatty acid methyl ester</i>
g	Gramas
GC	<i>Gas chromatography</i> (Cromatografia gasosa)
HDL	<i>High density lipoprotein</i> (Lipoproteína de alta densidade)

Hg	Mercúrio
K	Potássio
K'	Fator de capacidade
LA	Ácido linoleico
LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (Lipoproteína de baixa densidade)
LNP	Lípidos não polares
LOX	Enzima lipoxigenase
LP	Lípidos polares
LTs	Leucotrienos
M	Molar
MAG	Monoacilgliceróis
Mcg	Microgramas
Mg	Magnésio
mg	Miligramas
MUFA	Ácidos gordos monoinsaturados
n-3	Ómega-3
n-6	Ómega-6
Na	Sódio
NEAA	<i>Non-essential amino acids</i> (Aminoácidos não essenciais)
nm	Nanómetros
NPD1	<i>Neuroprotectin D1</i> (Neuroprotectina D1)
n-3 PUFA	Ácidos gordos polinsaturados ómega-3
P	Fósforo
PGs	Prostaglandinas
PGI2	Prostaciclina
Pi	Fosfato inorgânico
PL	Fosfolípidos
PPi	Pirofosfato
PS1	Gene presenilina 1

PS2	Gene presenilina 2
PUFA	Ácidos gordos polinsaturados
RNA	Ácido ribonucleico
Se	Selénio
SFA	Ácidos gordos saturados
TAG	Triacilgliceróis
TI	<i>Thrombogenic index</i> (Índice de trombogenicidade)
TH₄	Cianamida
TL	Teor lipídico
TLC	<i>Thin layer chromatography</i> (Cromatografia de camada fina)
T_R	Tempo de retenção
µg	Micrograma
UV	Ultravioleta
VLDL	<i>Very low-density lipoprotein</i> (Lipoproteína de muito baixa densidade)
Zn	Zinco

1. Introdução

1.1. Função cognitiva em população envelhecida

O aumento da esperança média de vida, ao longo dos anos, resultou num aumento da população idosa no mundo. Neste sentido tornou-se importante entender as mudanças cognitivas ao longo da vida, sejam estas normais ou patológicas. Murman (2015).

As mudanças cognitivas são um processo natural que ocorre com o avanço da idade. Estas podem incluir perda de memória tanto a longo termo como episódica, perda de rapidez de raciocínio, capacidade de atenção (inteligência fluída) e também fluidez verbal e acuidade visual, designados por inteligência cristalizada por Cattell (1963). Como é possível observar na Figura 1.1, há uma diminuição muito mais significativa na inteligência fluída do que na inteligência cristalizada com o envelhecimento.

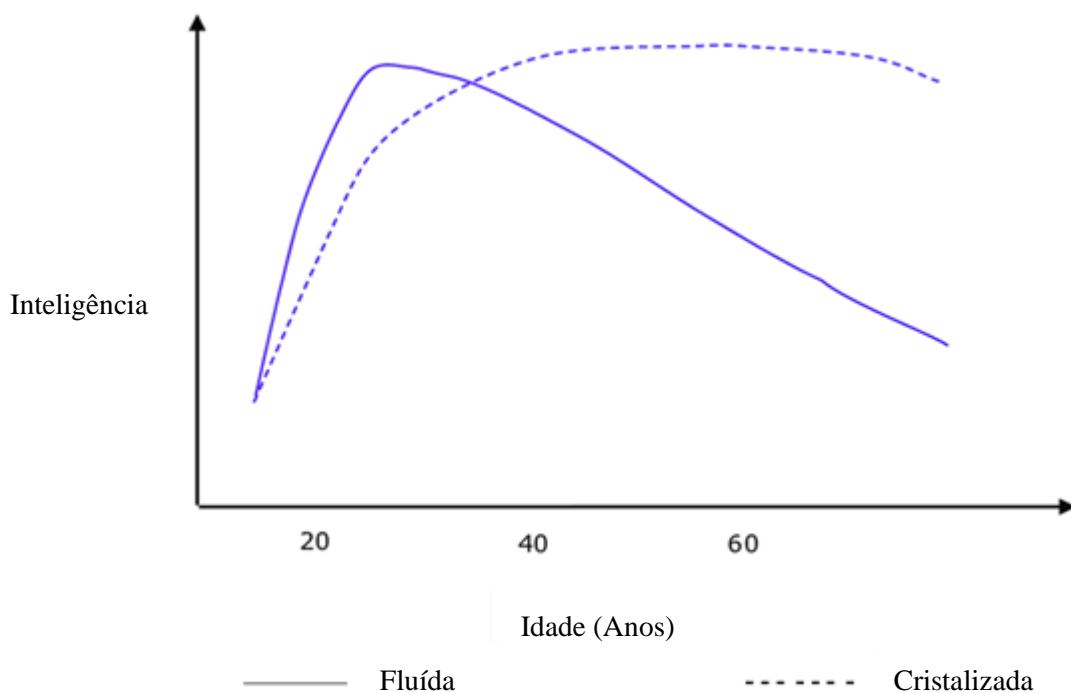


Figura 1.1 Diferenças entre a inteligência fluída e cristalizada com o envelhecimento. (Fonte: Cattell (1963)).

O tamanho do cérebro humano diminui com a idade, sendo que este se encontra dividido em matéria cinzenta e branca. É comum a diminuição da massa cinzenta a partir dos 20 anos de idade sendo predominante no córtex pré-frontal (

Figura 1.2), que está associado aos pensamentos complexos, personalidade, tomada de decisões e também ao comportamento social.

Córtex pré-frontal

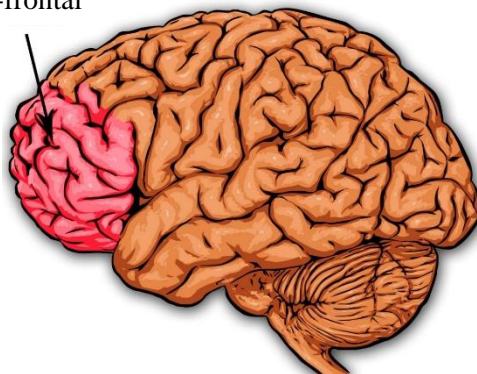


Figura 1.2 Córtex pré-frontal.

Alguns estudos indicam que 60 % da habilidade cognitiva geral está associada à genética de cada indivíduo, no entanto, as doenças, fatores psicológicos, deficiências sensoriais, como é o caso da visão, podem acelerar o processo de declínio cognitivo. Glisky (2007). Contudo, há algumas atividades que podem estar associadas ao retardamento do declínio cognitivo na população idosa baseada em atividades intelectuais como puzzles, tocar instrumentos musicais, discussões de grupo, atividade física, como exercícios que melhorem a saúde cardiovascular, dançar ou compromissos sociais como viagens ou eventos culturais. Harada et al. (2013).

Como já foi referido anteriormente, o aumento de pessoas com mais de 65 anos de idade tem sido gradual ao longo dos anos, o que demonstra a necessidade de se avaliar as alterações causadas pelo envelhecimento que levam a uma maior propensão de doenças neurodegenerativas.

1.1.1. Doenças associadas à idade e à cognição

Existem muitos fatores que podem causar danos no cérebro entre eles a isquemia cerebral (diminuição ou ausência de fluxo sanguíneo para o cérebro), trauma, toxinas ou doenças de demência degenerativa (associada a uma perda de cerca de 40 % das sinapses neocorticais), sendo que a doença de Alzheimer (AD) representa entre 50 % a 70 % de todos os casos. Entre os fatores de risco associados à demência estão os fatores genéticos, doenças vasculares como a hipertensão, diabetes, stress, abuso de álcool ou drogas.

A AD afeta cerca de 35 milhões de indivíduos em todo o mundo, sendo que se torna imperativo encontrar formas de prevenção ou tratamento que terão um impacto massivo na qualidade de vida da população idosa. Dias and Rauter (2015). Esta doença cresce exponencialmente com a idade. Aos 65 anos apenas se espera que cerca de 5 % da população apresente sintomas, mas esta percentagem cresce para 40 % a partir dos 85 anos e está associada a uma grande perda de neurónios, em específico no hipocampo e no córtex entorrinal. Figura 1.3. Murman (2015).

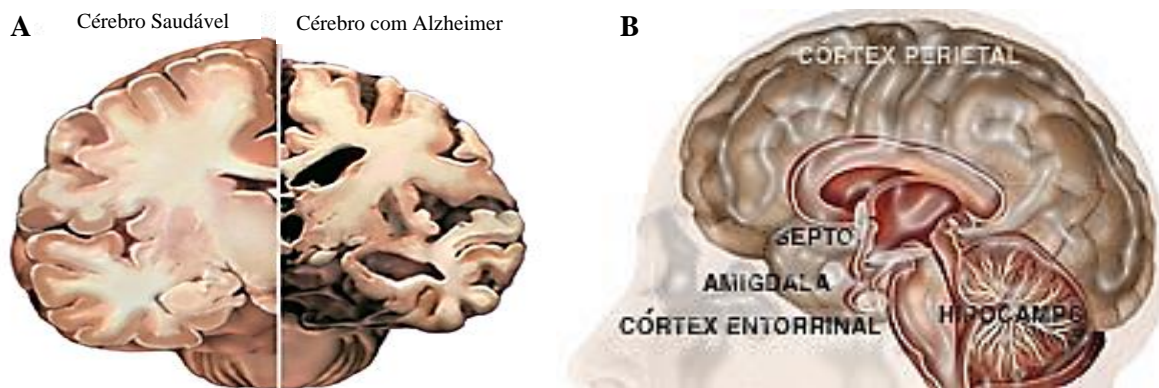


Figura 1.3 A) Degeneração de um cérebro saudável para um cérebro com Alzheimer. B) Localização do hipocampo e do córtex entorrinal.

No entanto, existem outras doenças do foro psicológico que afetam a população mundial, entre elas a esquizofrenia e problemas de doença bipolar. Pusceddu et al. (2016).

1.1.2. Saúde cognitiva

A cognição é a capacidade de pensar, aprender, resolver problemas, relembrar e utilizar a informação armazenada no cérebro de uma forma correta. Além destas capacidades primordiais, uma boa saúde cognitiva inclui a função motora, função emocional e a função sensorial.

O comprometimento cognitivo é principalmente relatado na população mais idosa, sendo que a partir dos 85 anos de idade o grau de deterioração cognitiva é superior, podendo variar de sintomas leves até à demência. Rosano et al. (2005). Para manter uma boa saúde cognitiva é necessária uma dieta equilibrada com frutas e vegetais, carnes magras, aves e peixes, produtos lácteos com baixo teor de gordura e limitar as gorduras sólidas, açúcar e sal e incluir uma elevada ingestão de água. Todos estes cuidados ajudam a prevenir e a reduzir o risco de doenças como a AD, diabetes, depressão, derrames e doenças cardiovasculares. Além do fator alimentação, existem muitos outros como a atividade física, fatores genéticos, ambientais, estilo de vida que influenciam a saúde cognitiva. Alguns exemplos associados negativamente aos fatores referidos anteriormente são os casos do alcoolismo, do tabagismo, de uma dieta nutricionalmente pobre, o consumo de alguns medicamentos e o fator mais comum na população mais idosa o isolamento social e a solidão. Jedrzejewski et al. (2007).

Como foi descrito, a alimentação é um fator relevante que ajuda na saúde cognitiva, neste sentido diversos estudos apontam o pescado como um alimento importante por ser uma fonte de ácidos gordos polinsaturados ómega-3 (n-3 PUFA), que têm um papel fundamental na diminuição do risco de declínio cognitivo e AD. Lee et al. (2010).

1.2. Metabolismo lipídico

Os lípidos são considerados um dos nutrientes essenciais para os seres vivos. São compostos que possuem uma cadeia alifática (-CH₂-), com pelo menos 8 átomos de carbono, sendo que existem algumas exceções como é o caso do ácido butírico (C₄). Os lípidos são insolúveis em água, mas solúveis em compostos orgânicos como é o caso do éter e do clorofórmio. Os lípidos estão divididos em classes entre elas os ácidos gordos (FA), os esfingolípidos, esteróis, céridos, hidrocarbonetos, lípidos poli-isoprénicos e em glicerolípidos. No caso dos glicerolípidos, estes estão subdivididos em acilgliceróis

(triacilgliceróis; diacilgliceróis; monoacilgliceróis), glicerofosfolípidos e glicoglicerolípidos. Campos (2008).

Os acilgliceróis (Figura 1.4), são constituídos por uma molécula de glicerol e entre 1-3 ácidos esterificados que podem ser denominados mono- (MAG), di- (DAG) ou triacilgliceróis (TAG). São os lípidos mais comuns nos seres vivos e desempenham a função de reserva ou energética.

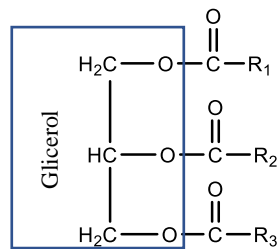


Figura 1.4 Estrutura molecular do triacilglicerol

Os fosfolípidos (PL) ou glicerofosfolípidos (Figura 1.5), têm uma estrutura idêntica aos TAG, com uma molécula de glicerol, dois ácidos gordos e um fosfato. São os componentes mais abundantes das membranas biológicas uma vez que desempenham uma função estrutural.

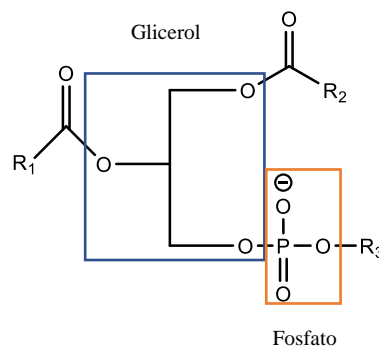


Figura 1.5 Estrutura molecular dos fosfolípidos

Os esfingolípidos (Figura 1.6), possuem uma região hidrofóbica que é constituída por uma cadeia longa, uma base esfingóide com 18 carbonos, ligada através de uma amida a um ácido gordo e uma região hidrofílica que é normalmente constituída por grupos hidróxilo e nos esfingolípidos mais complexos por fosfatos e resíduos de açúcares. Este grupo lipídico, tal como os PL, desempenham uma função importante nas estruturas membranares.

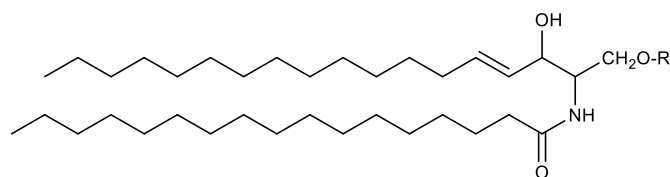


Figura 1.6 Estrutura geral de um esfingolípido

Os esteróis são constituídos por quatro anéis de carbono, sendo que as cadeias ligadas aos carbonos C₃ e C₁₇ definem o esteroide. O colesterol (Figura 1.7), é o esteroide mais abundante no corpo humano e define-se por ter um grupo OH no C₃ que lhe confere um carácter anfipático (possui características hidrofílicas e hidrofóbicas) sendo que o sistema de anéis proporciona uma maior rigidez.

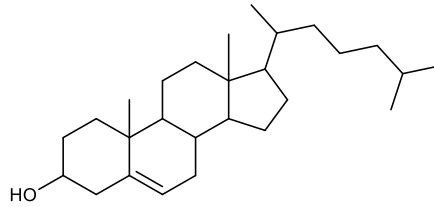


Figura 1.7 Estrutura molecular do colesterol

O metabolismo lipídico desempenha várias funções como armazenamento e transporte de energia, gera moléculas bioativas que são indispensáveis para a composição das membranas celulares e que vão mediar diversas vias de sinalização, além de serem importantes na manutenção da estrutura e integridade das mesmas, na síntese de prostaglandinas e no transporte de vitaminas lipossolúveis. Nunes et al. (2010). Qualquer alteração neste metabolismo pode resultar numa modificação na composição membranar, mudanças na permeabilidade e alterações nas vias de sinalização que podem induzir o organismo humano em erro provocando doenças como o cancro, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas ou inflamações. Os lípidos podem ser adquiridos por via exógena a partir da dieta ou por via endógena quando os lípidos são obtidos através da biossíntese de outros compostos não lipídicos como a glucose. Orsavova et al. (2015).

1.2.1. Metabolismo dos lípidos de origem exógena

A via exógena ou biossíntese das lipoproteínas de densidade elevada (HDL), caracteriza-se pelo transporte dos FA do intestino para o fígado. Primeiramente, os alimentos são ingeridos, e normalmente cerca de 95 % da gordura obtida da dieta é constituída por TAG sendo o restante colesterol, PL, FA livres e esteróis. Após a ingestão, o processo de digestão inicia-se no estômago, seguindo depois para o intestino delgado onde ocorre a absorção. No entanto, o processo de absorção varia consoante o tamanho da cadeia carbonada. Após a absorção os FA de cadeia média/curta são conduzidos pela circulação sanguínea para o fígado. Os FA de cadeia longa são sintetizados em TAG formando as quilomicra. As quilomicra são lipoproteínas que contêm um centro hidrofóbico, constituído por lípidos não polares (ésteres de colesterol e TAG), rodeado por uma parte proteica (apoproteínas) e por lípidos polares (fosfolípidos e colesterol livre) e entram na circulação sanguínea através do sistema linfático, apenas após a ingestão alimentar transportando TAG, colesterol e PL desde o intestino até ao tecido adiposo e fígado. Estas macromoléculas (quilomicra, LDL, HDL, VLDL) possuem diferentes densidades, inferiores às das proteínas, sendo que quanto menores mais ricas são em lípidos. Após as quilomicra atingirem a circulação sanguínea sofrem a ação da lipoproteína-lípase, localizadas nos capilares do tecido adiposo e outros tecidos periféricos e ativada pela apoproteína C-2 (sintetizada e segregada pelo fígado e intestino), que provoca a hidrólise dos TAG formando FFA e gliceróis e reduz as quilomicra e as VLDL a fragmentos mais pequenos. Os FFA são posteriormente utilizados pelos tecidos periféricos ou armazenados nos adipócitos. Campos (2008); Zhou et al. (2015).

1.2.2. Metabolismo dos lípidos de origem endógena

A síntese dos ácidos gordos endógenos ou biossíntese das lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), efetua-se essencialmente no fígado, caracterizando-se pelo transporte das lipoproteínas sintetizadas nos hepatócitos do fígado para os tecidos periféricos ou dos adipócitos para os tecidos periféricos.

Esta síntese acontece após a chegada dos lípidos ao fígado, processo explicado no capítulo 1.2.1. Neste sentido o fígado desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo lipídico uma vez que

quando há abundância de alimentos energéticos, estes alimentos são esterificados sob a forma de VLDL que são encaminhadas através da corrente sanguínea para o tecido adiposo constituindo a principal fonte de FA para a síntese de TAG. Os FFA provenientes do tecido adiposo representam o metabolismo em situação de jejum onde os lípidos de reserva são mobilizados e são o principal substrato para oxidação nos tecidos periféricos seja na forma de FFA ou corpos cetônicos que são sintetizados no fígado e utilizados pelos músculos e pelo cérebro. Neste sentido o tecido adiposo sintetiza, armazena e mobiliza os TAG que constituem a maior reserva energética. Após a ingestão de alimentos, quando consumidos valores energéticos superiores aos necessários no momento, estes são convertidos em glicogênio e lípidos de reserva. Campos (2008); Vaz et al. (2006).

1.2.3. Biossíntese dos ácidos gordos

Os n-3 e os n-6 são consumidos na forma de TAG e digeridos no intestino delgado o que permite o transporte na corrente sanguínea e a conseqüente absorção pelo cérebro, retina, coração e outros tecidos. Estes ácidos gordos podem sofrer β -oxidação que ocorre na matriz mitocondrial e que permite a formação de acetil-coA que origina energia na forma de ATP (Figura 1.8), esterificação em lípidos celulares (colesterol, fosfolípidos e triglicéridos) e podem ainda ser convertidos em cadeias longas e produtos insaturados.

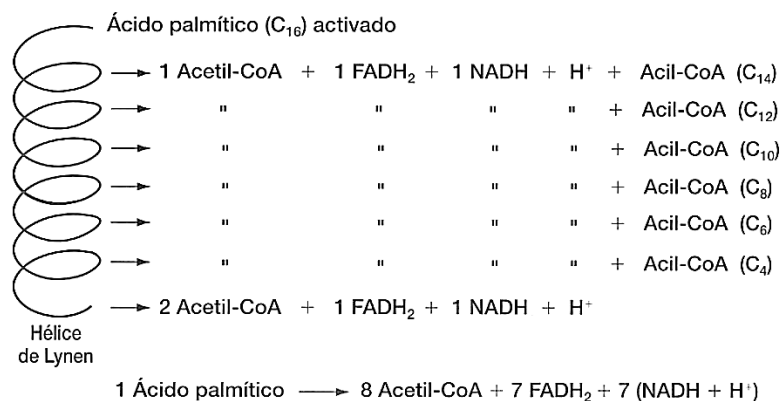


Figura 1.8 Representação da β -oxidação, segundo Lynen, em que cada espira corresponde a um encurtamento de 2 átomos de carbono no FA.

Os ácidos gordos essenciais (EFA) que são assimilados principalmente em fosfolípidos são importantes na estrutura e função geral dos FA, uma vez que estes têm um papel importante na integridade e funcionamento das membranas celulares do corpo.

O ácido linoleico (LA) e o ácido α -linolénico (ALA) são obtidos através dos alimentos, uma vez que o organismo humano não possui as enzimas para sintetizar estes dois EFA. O LA está presente na maioria dos lípidos celulares enquanto a maioria do ALA sofre β -oxidação na mitocôndria, diminuindo assim a sua disponibilidade para a conversão no ácido eicosapentaenóico (EPA) e no ácido docosa-hexaenóico (DHA). Kaur et al. (2014).

1.2.3.1. Descrição e nomenclatura dos ácidos gordos

Os ácidos gordos são os principais constituintes dos lípidos e estão presentes nas plantas, animais e microrganismos. Pode ser atribuído a qualquer ácido monocarboxílico alifático que se liberte por hidrólise de óleos ou gorduras naturais.

Um FA geralmente possui uma cadeia linear com um número par ou ímpar de átomos de carbono, com um grupo carboxilo (-COOH) numa das extremidades (carbono 1) que lhe confere a função de ácido

carboxílico e na outra extremidade um grupo metilo (-CH₃) hidrofóbico, não funcional. A classificação dos FA é feita consoante o comprimento da cadeia carbonada, o número de átomos de carbono, a posição e a configuração das ligações duplas. A classificação dos FA é normalmente apresentada na forma de n-1; n-2ωn-3, em que o “n-1” representa o número de átomos de carbono, o “n-2” número de ligações duplas e o “n-3” o número de átomos de carbono que se encontra mais próximo da extremidade do grupo metilo e mais próximo da primeira ligação dupla. Assim a numeração dos carbonos pode ser apresentada através da Figura 1.9. Leonard et al. (2004).

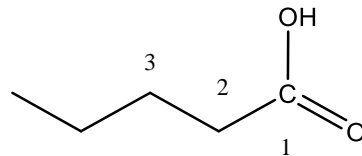


Figura 1.9 Numeração carbónica de um ácido gordo

Existem três tipos de ácidos gordos consoante o número de ligações duplas, os ácidos gordos saturados (SFA), os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e os ácidos gordos polinsaturados (PUFA). Os SFA não possuem nenhuma ligação dupla e são designados de acordo com o número de átomos de carbono e com o sufixo “-óico” do ácido carboxílico correspondente, com a fórmula geral CH₃-(CH₂)_n-COOH em que “n” varia entre 2 e 22. Os MUFA apresentam apenas uma ligação dupla e o número de átomos de carbono varia entre 10 e 30. Os PUFA têm um número par de átomos de carbono, 2 a 7 ligações duplas separadas por uma ponte de metileno (-CH₂) e apresentam normalmente uma configuração cis. Os SFA mais comuns são o ácido mirístico (14:0), o palmítico (16:0) e o esteárico (18:0), no caso dos MUFA o ácido oleico (18:1n-9) é o mais comum. Os PUFA estão divididos em 3 famílias em que a letra “n” indica a distância, em átomos de carbono, da ligação dupla ao metilo terminal. Assim, o “n-9” representa a família oleica, o “n-6” a família linoleica e os “n-3” a família linolénica. No caso dos n-3 PUFA os mais abundantes são o EPA (20:5n-3) e o DHA (22:6n-3) e o ácido linoleico (18:2n-6) e o ácido araquidónico (20:4n-6) no caso dos n-6 PUFA. Nunes et al. (2003).

O metabolismo humano, no entanto, não consegue sintetizar adequadamente níveis de PUFA com a ligação dupla no C₃ (n-3 PUFA) ou no C₆ (n-6 PUFA) a contar do último radical metilo, sendo de extrema importância obtê-los através do consumo de gordura saudável, como é o caso do pescado, e do óleo de fígado de peixes. Os MUFA e os PUFA podem apresentar duas formas estruturais diferentes, a forma cis e a forma trans. Os FA trans podem formar-se, apesar de em quantidades diferentes, através de três processos distintos. Assim, pequenas quantidades de FA trans surgem após a transformação bacteriana dos FA no aparelho digestivo dos animais ruminantes que depois é consumido através da carne, gordura e leite desses animais. Por outro lado, a hidrogenação industrial das gorduras e o aquecimento/fritura dos óleos vegetais a temperaturas elevadas formam grandes quantidades de FA trans. Como foi descrito por Katan et al. (1995), em diversos estudos realizados, a ingestão de FA trans promove a formação de colesterol LDL, conhecido por “mau colesterol” e diminui o HDL “bom colesterol”, aumentando assim o risco de doenças cardíacas e vasculares. Stansby (1986).

1.2.3.2. Ácidos gordos essenciais

Os EFA têm sido considerados alimentos funcionais e nutracêuticos devido à sua importância nas vias bioquímicas, que resulta num efeito cardioprotetor devido às características anti-aterogénicas, anti-trombóticas, anti-inflamatórias e antiarrítmicas que possibilitam a diminuição do risco de doenças cardiovasculares, cancro, osteoporose, diabetes, entre outros. Todos estes benefícios advêm da intervenção dos EFA na concentração das lipoproteínas, fluidez das membranas, funções das enzimas, recetores membranares e regulação da pressão arterial. O ser humano tem a capacidade de sintetizar

muitos compostos sendo que os SFA e os MUFA são obtidos pela dieta ou pela síntese completa via acetil-coA. Kaur et al. (2014).

De modo a conhecer a qualidade dos lípidos é adequado realizar o cálculo de dois parâmetros, o índice de aterogenicidade (AI) e o índice de trombogenicidade (TI) proposto por Ulbricht and Southgate (1991). O AI (Equação 1.1) relaciona a soma dos principais ácidos gordos que são considerados pró-aterogénicos com as principais classes de FA insaturados considerados anti-aterogénico. Um ácido gordo pró-aterogénico facilita a adesão dos lípidos às células do sistema imunológico e circulatório enquanto o anti-aterogénico ajuda a diminuir os níveis de ácidos gordos esterificados (ácidos gordos que reagem com álcoois e formam ésteres), colesterol e PL impedindo assim o aparecimento de doenças coronárias. O TI (Equação 1.2) evidencia a tendência para a formação de coágulos nos vasos sanguíneos através de uma relação entre os ácidos gordos saturados que são considerados pró-trombogénicos e as frações de ácidos gordos como os MUFA, n-3 PUFA e n-6 PUFA, considerados neste caso anti-trombogénicos. Considera-se que valores de $AI \leq 0,51$ e $TI \leq 0,30$ serão benéficos para a saúde humana. Garaffo et al. (2011); Łuczyńska et al. (2017); Truzzi et al. (2018).

$$\text{Equação 1.1} \quad AI = [C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0] / (\Sigma MUFA + \Sigma n-6 PUFA + \Sigma n-3 PUFA)$$

$$\text{Equação 1.2} \quad TI = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0,5 \times MUFA + 0,5 \times n-6 PUFA + 3 \times n-3 PUFA + \frac{n-3 PUFA}{n-6 PUFA}}$$

1.2.4. Bioacessibilidade

Os lípidos representam uma grande percentagem da ingestão energética diária, sendo maioritariamente constituídos por TAG. A bioacessibilidade corresponde à quantidade de conteúdo inicial que é libertado da matriz alimentar para o lúmen intestinal, após a digestão. No entanto, o conteúdo presente no trato intestinal pode não ser 100 % absorvido, contribuindo assim a bioacessibilidade para avaliar o possível potencial nutricional do alimento. Neste sentido, utilizar a digestão *in vitro* para simular a digestão humana é um processo adequado para o estudo da bioacessibilidade. Costa et al. (2016); Garcia et al. (2019).

Desde a ingestão até ao intestino, os lípidos sofrem diversas transformações físicas e químicas que permitem obter produtos absorvíveis como FA livres, não esterificados e monoacilgliceróis (MAG). Estes produtos são libertados das estruturas moleculares por lípases que permitem assim a quebra dos mesmos e são incorporados em micelas que são absorvidas pelas células epiteliais do intestino. A esta porção absorvida dá-se o nome de fração bioacessível.

Para o alimento ser absorvido e se obter a fração bioacessível, é necessário saber como funciona todo o processo. Assim, para o pescado, como para todos os alimentos, a digestão dos lípidos inicia-se na boca onde os efeitos da mastigação e da saliva permitem diversas reações enzimáticas em que as condições de temperatura e pH são específicas para esta zona do corpo humano. A mistura na boca com a saliva permite o aumento da superfície de contacto dos lípidos para as etapas de digestão seguintes. No estômago, a lipólise é iniciada, o bolo alimentar é misturado com o suco gástrico (pH 1-3) que sofre a ação mecânica do estômago devido aos movimentos peristálticos, a hidrólise dos hidratos de carbono pelas pepsinas e amílases e a hidrólise parcial dos TAG pela lípase gástrica que é responsável pela

maioria dos TAG ingeridos. Os lípidos restantes são emulsionados. A libertação final e a absorção dos ácidos gordos livres (FFA) e MAG e outras espécies oxidadas ocorre no duodeno. Os lípidos hidrolisados e emulsionados são libertados no intestino delgado e misturados com sucos intestinais. Genot et al. (2016).

1.3. Efeito benéfico dos n-3 PUFA na dieta

Uma dieta equilibrada pode ajudar a reduzir os riscos de doenças crónicas como a diabetes e doenças cardíacas assim como ajudar a manter um cérebro saudável. Ao longo dos anos, começou a haver uma consciencialização dos efeitos da nutrição na saúde física e mental. Este facto suscitou o início de diversas pesquisas relacionadas com o benefício dos n-3 PUFA na saúde e no cérebro.

Os n-3 PUFA estão associados a uma dieta que influencia positivamente o declínio cognitivo ao longo dos anos, uma vez que possuem propriedades neuroprotetoras. Os n-3 PUFA de cadeia longa, concretamente o DHA e o EPA, são essenciais para o normal funcionamento do cérebro humano assim como para o seu desenvolvimento. O DHA tem um papel especialmente importante, porque afeta as propriedades da membrana neuronal, que modula os sinais celulares. Danthiir et al. (2011). Os sinais celulares, por sua vez são importantes nas respostas ao ambiente que nos rodeia, ou seja, na reparação de tecidos, imunidade ou outras funções de equilíbrio necessárias ao corpo humano. Quando ocorrem erros no processamento de informação celular estes podem levar a doenças como cancro, diabetes ou autoimunidade (respostas de imunidade contra tecidos do próprio organismo). Kim et al. (2010). Assim, o consumo de n-3 presente em óleos de peixe, no músculo de peixes gordos como a cavala, salmão ou sardinha e ainda no fígado de peixes magros como o bacalhau é essencial para aumentar os níveis de DHA e EPA no organismo. Daiello et al. (2015); Dangour et al. (2009). Estes n-3 estão também presentes em sementes de linhaça, chia, soja ou nozes, mas numa quantidade muito reduzida. Martins et al. (2019). Vários estudos indicam que um consumo superior a 250 mg/100g dia de DHA e 500 mg/100g dia de EPA + DHA pode ajudar no bom funcionamento, desenvolvimento e crescimento de todos os tecidos e órgãos especialmente a retina, o coração e o cérebro contribuindo por exemplo para a prevenção doenças neurodegenerativas ou cardiovasculares. Avallone et al. (2019); Zhang et al. (2018).

Além de um maior consumo de alimentos com elevadas percentagens de DHA e EPA é também necessário recorrer a um estilo de vida saudável, que inclua atividade física, controlar outro tipo de doenças como a apneia do sono, diabetes e hipertensão. Illario et al. (2016). Muitos estudos associam o consumo de pescado à diminuição do risco de declínio cognitivo e AD, pelo facto de serem uma fonte de n-3 PUFA.

1.3.1. Funções dos PUFA

O desenvolvimento humano tem por base uma dieta equilibrada no qual as gorduras têm um papel importante como alimento energético. Os PUFA desempenham funções importantes no processo de coagulação do sangue, nas inflamações e no funcionamento e desenvolvimento da retina e do cérebro. Estas funções permitem que os PUFA sejam muito importantes no crescimento, desenvolvimento e bom funcionamento do corpo humano.

As membranas celulares, são constituídas por proteínas e lípidos. Os FA saturados uma vez que não têm ligações duplas e são estruturas compactas conferem rigidez às membranas, neste sentido a presença de PUFA que têm diversas ligações duplas permite obter uma estrutura mais flexível e por consequência

os PUFA afetam positivamente a fluidez, elasticidade membranar, a quantidade e a função das proteínas da membrana.

O facto dos PUFA incorporarem as membranas celulares, ajuda a que tenham um papel importante na resposta inflamatória, imunidade, aumento do número de plaquetas, crescimento celular, entre outros. Os PUFA são libertados das membranas por fosfolipases e entram na síntese dos eicosanóides. Os n-3 PUFA têm uma resposta anti-inflamatória e antialérgica, uma vez que inibem a resposta imune excessiva, diminuindo a síntese de compostos pró-inflamatórios. No entanto, é importante realçar que os n-6 e os n-3 têm respostas distintas, em relação à atividade anti-inflamatória, que será explicado adiante. Doenças como a artrite reumatoide, asma e psoríase beneficiam com a ingestão de alimentos ou suplementos que contenham a presença de n-3 PUFA. Segundo Bentsen (2017) um consumo de até 3 g por dia de EPA + DHA é o necessário para obter os efeitos positivos do consumo de n-3 PUFA.

Outra característica importante dos n-3 PUFA prende-se com o facto de ajudarem a normalizar a pressão arterial através do aumento de prostaciclina (PGI₂), que são sintetizadas nas células endoteliais pela enzima ciclo-oxigenase na cascata do ARA. O PGI₂ é assim um vasodilatador e ajuda também na inibição da agregação das plaquetas funcionando como anti-trombótico. A prevenção da morte súbita em pessoas com doença cardíaca isquémica é outro efeito benéfico dos n-3 PUFA. Estes vão atuar como moduladores do fluxo de cálcio, controlando a sua libertação no retículo endoplasmático.

A saúde mental mundial tem sido um objeto de estudo ao longo dos últimos anos, sendo que os n-3 PUFA têm demonstrado ser importantes nas doenças associadas ao sistema nervoso. Como foi abordado, o DHA é essencial no bom funcionamento do cérebro dos adultos, assim como para o desenvolvimento na infância e na vida fetal uma vez que fazem parte da constituição dos fosfolípidos membranares, especialmente das sinapses. Em geral, os n-3 PUFA estão envolvidos na síntese de serotonina e dopamina. A Serotonina em níveis baixos está associada a sintomas de depressão enquanto níveis elevados de dopamina está intrinsecamente ligado à esquizofrenia. Wiktorowska-Owczarek et al. (2015).

No cérebro, os n-6 PUFA representam cerca de 10% do total de ácidos gordos. Os n-6 PUFA têm duas funções principais entre elas atuarem como precursores dos eicosanóides e também funcionam como componentes estruturais das membranas dos fosfolípidos, formando a base da bicamada lipídica das membranas plasmáticas em todas as células. Neste sentido a saturação de n-6 afeta a fluidez das membranas, transdução de sinal e a expressão dos recetores celulares. Mori and Hodgson (2013). Tendo em conta que a maioria dos n-6 PUFA têm propriedades pró-inflamatórias e sendo o ARA o n-6 PUFA mais abundante no cérebro e está envolvido em diversas funções como a neurotransmissão e a neuroinflamação, uma redução deste ácido gordo no cérebro diminuí a probabilidade de doenças psiquiátricas e neurológicas. Alashmali et al. (2019)

1.3.2. Associação entre os PUFA e a doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (AD) tem uma incidência de cerca de 60-80 % em relação a outras doenças do foro psicológico. A idade é o fator mais comum, afetando uma em cada cinco pessoas com idades superiores a 80 anos e uma em cada três pessoas com idades superiores a 90 anos. Uma vez que a esperança média de vida está a aumentar a nível global, é de esperar que haja uma escalada de pessoas com AD. A AD pode ter uma forma familiar que tem início normalmente aos 65 anos de idade e é encontrada em cerca de 1 % da população. Esta forma caracteriza-se por mutações autossómicas no gene da proteína precursora amiloide (*APP*) e nos genes presenilina 1 (*PS1*) e 2 (*PS2*). A forma mais comum é a forma esporádica em que o alelo apolipoproteína E4 (*ApoE*) tem uma elevada associação ao risco de desenvolvimento de AD. Apesar das muitas dúvidas nas alterações que promovem a AD e da

ordem das mesmas sabe-se que estes sintomas têm início cerca de 20 anos antes desta se manifestar com maior agressividade. À medida que a doença progride, a capacidade das sinapses para transmitirem informação diminui, há também uma diminuição no número de sinapses e por consequência começa a haver a morte dos neurónios.

Como foi anteriormente referido os n-3 PUFA podem ser encontrados essencialmente nos peixes e nas algas, principalmente na forma de DHA e EPA e em alguns frutos secos na forma de ALA. Os n-3 PUFA são importantes na construção das membranas das células neuronais sendo que desempenham um papel chave no desenvolvimento, transmissão neurológica e na neuroprotecção. Com o avançar da idade, os níveis de DHA no cérebro tendem a diminuir e especialmente em pacientes com a AD. Este facto sugere que esta diminuição pode contribuir para a deterioração das funções cognitivas e da memória.

Os PUFA atuam no cérebro e no sistema vascular e protegem contra o declínio cognitivo e contra a demência. Neste sentido, os PUFA ajudam na redução da produção de amiloides, diminuindo a sua agregação, promovendo o seu afastamento. Além desta função, especificamente o DHA através da neuroprotectina D1 (NPD1), uma via de oxigenação derivada do DHA, beneficia a sobrevivência e reparação das células cerebrais através da sinalização neurotrófica, anti-apoptótica e anti-inflamatória. Fotuhi et al. (2009).

1.3.3. DHA e EPA

O EPA e o DHA pertencem ao grupo dos n-3 PUFA e apresentam diversos benefícios para a saúde. Ambos desempenham diversas ações no corpo humano, entre elas um papel fundamental nos processos anti-inflamatórios, na viscosidade das células membranares, no desenvolvimento fetal, na saúde mental e visão sendo que se encontram em abundância no cérebro e na retina.

O EPA e o DHA estão presentes em algas, pescado e óleo de peixe, sendo que a principal forma são os triacilgliceróis (TAG) e fosfolípidos (PL). No entanto, a presença de DHA e EPA nos TAG e PL varia consoante a espécie. É importante realçar que os PL são importantes na manutenção e funcionamento da estrutura celular, enquanto os TAG são depósitos de energia metabólica. Zhang et al. (2019). O EPA e o DHA também podem ser sintetizados através de reações de alongamento e dessaturação do ácido alfa-linolénico (ALA) (Figura 1.10), no entanto, a síntese do ALA é limitada. A percentagem de conversão de ALA em EPA e DHA pode variar entre indivíduos sendo que a taxa limite de produção de EPA de acordo com Welch et al. (2010) pode atingir os 5 % e apenas 0,5 % para o DHA, sendo que estas taxas confirmam a importância da inclusão destes n-3 PUFA na dieta.

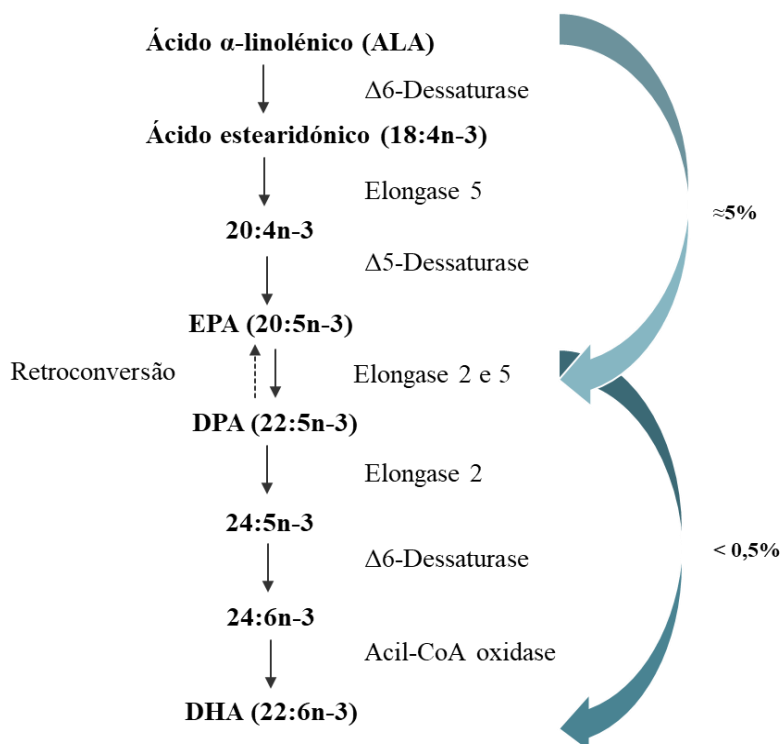


Figura 1.10 Conversão de ALA em DHA (Fonte: Lenihan-Geels et al. (2013)).

O Consumo de pescado uma a duas vezes por semana pode ajudar na prevenção de algumas doenças como doenças cardiovasculares, diabetes, cancro e doenças neurodegenerativas como a AD. Como foi referido acima, o EPA e o DHA têm um papel importante nos processos anti-inflamatórios. Uma inflamação é o mecanismo de defesa do organismo contra infeções e pode surgir através de vários sintomas como vermelhidão, inchaço, calor e dor. Os eicosanóides, que incluem as prostaglandinas (PGs), são mediadores e reguladores das inflamações. O ácido araquidónico (ARA) é o ácido gordo presente em maior quantidade na membrana dos fosfolípidos das células que contêm a inflamação, sendo assim o maior precursor dos eicosanóides, principalmente o PGE2, que normalmente atua como pró-inflamatório. O EPA e o DHA são ambos substratos para as enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX). O EPA produz eicosanóides com uma estrutura diferente dos produzidos pelo ARA e no caso do DHA docosanóides. Os eicosanóides derivados do EPA são das séries 3 e 5 que, geralmente, são mediadores inflamatórios menos potentes em comparação com os da série 2 e 4 produzidos pelo ARA. Os docosanóides derivados do DHA, como demonstrado na Figura 1.11, produzem protetinas e resolvinas que atuam como anti-inflamatórias. Os eicosanóides provenientes do ARA são também responsáveis por efeitos de agregação, vasoconstrição e proliferação de células cancerígenas. Calder (2010).

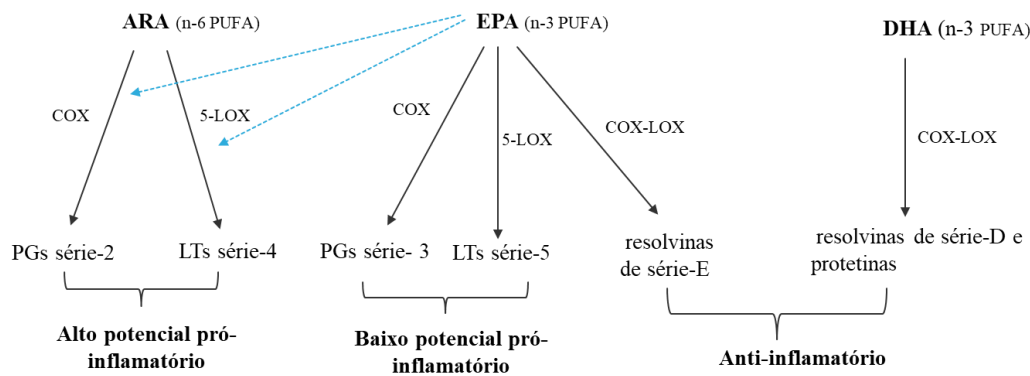


Figura 1.11 Cascata de reações para o ARA, EPA e DHA e consequente resultado inflamatório (Calder, 2010).

Os n-3, como foi referido têm um papel importante na saúde mental, em doenças como a AD e o Parkinson. Neste sentido, o DHA representa 90 % dos n-3 PUFA presentes no cérebro e representa cerca de 20 % do total de FA no cérebro sendo que com a idade os níveis de DHA no cérebro tendem a diminuir. O ARA representa cerca de 15 % do total de FA no cérebro. A doença de Parkinson caracteriza-se por ser uma doença neurodegenerativa progressiva que provoca a perda de neurónios dopaminérgicos e que pode ter diversas origens como toxinas ambientais, estilo de vida, neuroinflamações entre outras. Diversos estudos indicam que os n-3 PUFA previnem o declínio cognitivo e tendem a retardar os sintomas, mas que ainda não representam uma cura para este tipo de doenças. Avallone et al. (2019); Thomas et al. (2015).

1.3.4. DHA e EPA na gravidez

O DHA e o EPA têm sido associados a vários efeitos benéficos, durante a gravidez, para as crianças. Durante a gravidez a placenta transfere nutrientes da mãe para o feto, sendo que há uma correlação entre a quantidade que é ingerida pela mãe e a transferida para o feto. Segundo Cardoso et al. (2017), a dieta da mãe, em amamentação, deve incluir cerca de 200 a 300 mg de n-3 PUFA diariamente, para garantir uma concentração suficiente de DHA pré-formado no leite. Aumentar o consumo de DHA entre 18 e 20 semanas de gestação até ao parto ou até aos 3 meses após o parto, promove uma melhor acuidade visual, melhor coordenação motora nas crianças e uma melhor função cognitiva. Rombaldi Bernardi et al. (2012).. A acumulação de PUFA vai variando ao longo do tempo, sendo que durante o terceiro trimestre de gravidez e até aos dois anos de idade da criança esta acumulação é maior. Uma vez, que as crianças nascem com apenas 25 % do volume de um cérebro adulto é necessário que haja uma dieta equilibrada em PUFA de forma a estimular o crescimento saudável de todas as estruturas cerebrais.

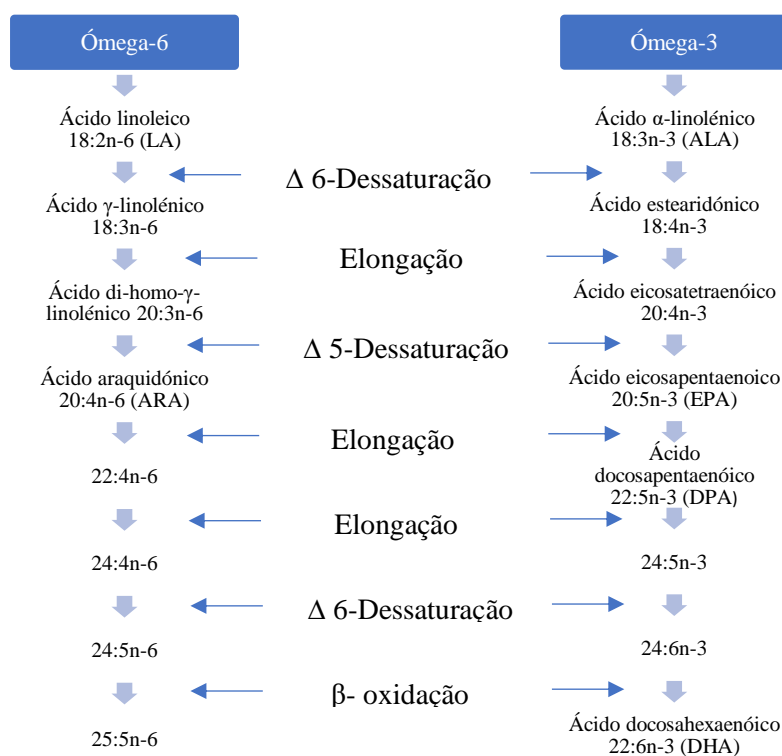
Durante a gravidez é essencial o transporte de DHA pela mãe para o feto através da placenta para a corrente sanguínea do feto, uma vez que o cérebro e o fígado não produzem o DHA suficiente. Esta deposição de PUFA no sistema nervoso central (CNS) é elevada no pré e pós-natal e depende, como foi referido, da quantidade fornecida pela mãe durante a gravidez e o período de lactação. Um fornecimento desajustado de PUFA vai implicar problemas no desenvolvimento mental e na acuidade visual da criança. Borsonelo and Galduróz (2008).

Como foi referido, os n-3 mais especificamente o EPA e o DHA são benéficos no desenvolvimento do cérebro e da retina, sendo que o DHA é mais importante neste processo. Baixos níveis de DHA, representam um maior risco de atraso no desenvolvimento, défice de atenção e distúrbio de hiperatividade nas crianças. No entanto, ambos estão associados a uma gestação mais longa, diminuindo o risco de um nascimento prematuro, causa de diversas doenças e 85 % dos óbitos. O EPA e o DHA

diminuem a produção de prostaglandinas (PGs) pró-inflamatórias (E2 e E2 α), diminuindo por consequência a possibilidade de inflamação no útero, que está associada ao parto prematuro. Swanson et al. (2012).

1.3.5. Índice ômega-3, fator de risco

A população mundial tem vindo a alterar os hábitos alimentares devido principalmente à industrialização aumentando por consequência a ingestão de alimentos menos saudáveis mais ricos em gorduras saturadas, que aliado a outros problemas como o stress ou a falta de exercício físico tem contribuído para o aumento de doenças cardiovasculares. Como é possível observar pelo Esquema 1.1, o LA e o ALA competem pela enzima Δ 6-dessaturase, sendo que um elevado consumo desta enzima pelo LA diminui a disponibilidade da mesma para o metabolismo do ALA, diminuindo a produção de DHA que como foi referido ajuda na diminuição do risco de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Assim, para que os ômega-3 possam ter um impacto positivo no organismo, é fundamental equilibrar o consumo de ambos. Como referido o n-6 e o n-3 competem por algumas enzimas, logo o consumo deve seguir um rácio de 1:1 a 1:5 (n-3/n-6) para haver o equilíbrio necessário, para um benefício para a saúde.



Esquema 1.1 Representação esquemática da biossíntese dos ácidos gordos essenciais. (Adaptado de Leonard et al. (2004)).

A abundância de alimentos processados e pobres nutricionalmente, promove o desequilíbrio uma vez que o consumo de n-6 atinge 15 vezes o consumo de alimentos ricos em n-3. O aumento do consumo de n-6 leva a uma elevada produção de substâncias inflamatórias, a doenças como a obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras. O índice de n-3, permite saber a percentagem destes ômega-3 na membrana dos glóbulos vermelhos, sendo um indicador de risco de doença coronária se este índice for igual ou inferior a 4 %, uma vez que uma percentagem superior a 8 % é indicativa de um risco reduzido de doença coronária. Para garantir um bom índice de n-3 deve-se privilegiar o consumo de peixes gordos, utilizar o azeite como gordura preferencial e aumentar também o consumo de frutos oleaginosos. É importante realçar que o consumo equilibrado destes ômega-3 contribuirá para diversos benefícios para a saúde. Simopoulos (2004).

1.4. Composição química

Os principais constituintes da composição química são a proteína, cinza, gordura, humidade, as vitaminas e os minerais. A composição química varia consoante a espécie, idade, maturação sexual, ciclo de alimentação, comportamento migratório e variação sazonal. Normalmente, a variação entre peixes está principalmente ligada ao período da desova, à ingestão de alimento uma vez que não é constante devido à migração ou à escassez do mesmo. Nesta época de desova os peixes utilizam os depósitos de energia e as proteínas. Após o período de desova o teor proteico e lipídico tende a aumentar com o aumento da ingestão de alimentos. Sendo assim, o teor lipídico apresenta normalmente um mínimo na época de desova de cada espécie enquanto o teor proteico, apesar de ser menor na época de desova, apresenta um valor mais constante ao longo do ano. As proteínas do tecido muscular dos peixes, estão divididas em estruturais que representam cerca de 70-80 % do teor total de proteína, proteínas sarcoplasmáticas que representam 25-30 % do total e proteínas do tecido conjuntivo (colagénio) que representam cerca de 3 % do total de proteínas. No entanto, a quantidade de proteína no músculo é aproximadamente de 15-20 %. A água é o principal constituinte do músculo do pescado podendo variar entre 50-85 % consoante a espécie e a época do ano, sendo que nas espécies magras é cerca de 80 % e nas espécies gordas de 70 %. Esta humidade está ligada às proteínas estruturais. No entanto o teor de água aumenta à medida que se aproxima a época da desova enquanto o teor de proteína diminui. A quantidade de vitaminas e minerais tal como a maioria dos outros constituintes da composição química varia consoante a espécie e varia sazonalmente. As vitaminas podem ser divididas em solúveis em gordura como a A, D, E e K e solúveis em água como B e C. No caso do pescado as principais vitaminas são a A, B, D. No caso dos minerais os peixes são uma importante fonte de fósforo e cálcio, mas também de ferro, cobre e selénio. A cinza constitui uma parte de outros minerais que não excede 1-2 % da parte edível. Huss (1995).

Tal como a maioria dos organismos, o pescado contém a maioria dos elementos químicos presentes na natureza entre eles o potássio, fósforo, sódio, magnésio e cálcio. O teor de minerais, situa-se normalmente entre os 0,8 e 2,0 % sendo a ordem de concentrações $K > P > Na > Mg > Ca > Zn > Fe$. Nunes et al. (2008).

1.4.1. Mercúrio e selénio

Uma das principais preocupações mundiais é o teor de mercúrio (Hg) presente na parte edível do pescado. Os peixes têm a capacidade de acumular mercúrio, principalmente na forma de metilmercúrio (forma mais tóxica) em concentrações relativamente elevadas. No entanto as concentrações dependem do local de captura, se o peixe é de grande porte e se representa o topo da cadeia alimentar. Além de mercúrio os peixes também acumulam selénio (Se), sendo este um elemento importante na alimentação dos mesmos. No pescado o teor de selénio situa-se entre os 10 e 100 $\mu\text{g}/100\text{g}$, valor este superior ao encontrado nos animais terrestres. O teor de selénio está, no entanto, relacionado com o teor de mercúrio e segundo Cappon and Smith (1981), o selénio neutraliza a toxicidade do mercúrio. Assim, o aumento em proporção de Hg para o Se no sangue é sinónimo de aumento do risco de toxicidade. Yamashita et al. (2011). É importante realçar que o mercúrio nos peixes tem origem antropogénica, enquanto o selénio é um constituinte natural.

1.4.2. Aminoácidos

Nos últimos anos, o interesse nos aminoácidos (AA) no pescado aumentou devido à capacidade demonstrada na resposta imunológica, reprodução e resistência a doenças. Todas as proteínas são cadeias de unidades químicas ligadas para fazer uma molécula longa, sendo essas unidades os AA.

Os AA podem ser classificados em essenciais (EAA) e não essenciais (NEAA). Os EAA são arginina, glutamina, leucina, isoleucina, valina, histidina, metionina e o glutamato e a prolina no caso dos NEAA. Os AA estão associados a diversas funções entre elas a modulação das vias metabólicas, reprodução, crescimento e sinalização celular. Os aminoácidos são cruciais na alimentação dos peixes porque funcionam como substratos de energia para a síntese de proteínas endógenas e ajudam na regulação das vias metabólicas. A deficiência nos AA pode criar um desequilíbrio no metabolismo e nas funções para o bom funcionamento do organismo. Kaushik and Seiliez (2010).

1.4.3. Vitamina B12

As vitaminas do grupo B são solúveis em água das quais fazem parte a tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), ácido pantoténico (B5), piridoxina (B6), biotina (B7), ácido fólico (B9) e a cobalamina (B12). Cada vitamina do complexo B, atua individualmente ou em conjunto nas células e são extremamente importantes para o metabolismo das células. As vitaminas do complexo B, nomeadamente a vitamina B12 também denominada cobalamina, é um importante constituinte da cavala. Nos últimos 50 anos esta vitamina tem sido associada ao declínio cognitivo. Pitzschke et al. (2015).

A vitamina B12 é essencial para a síntese do DNA e para a produção de energia celular. A deficiência em vitamina B12 é normalmente causada pela má absorção ou por uma dieta inadequada e pode ter implicações na saúde como a anemia megaloblástica ou doenças neurológicas como depressão ou psicose. Esta deficiência é mais comum nos idosos, vegans ou vegetarianos. A absorção da vitamina B12 acontece após a clivagem dos alimentos pelo ácido clorídrico produzido pela mucosa gástrica, a formação de um complexo com proteínas R e a ligação a um fator intrínseco segregado pelo estômago, sendo que as taxas de absorção variam com a quantidade e o tipo de proteína consumida. Após a absorção, no intestino delgado a vitamina B12 é transferida pela transcobalamina I, II e III para os locais onde é necessária. As suas duas formas ativas são a adenosilcobalamina nos tecidos celulares e a metilcobalamina no plasma. As perdas diárias de vitamina B12 são de aproximadamente de 0,1 %. Por outro lado, a biodisponibilidade da vitamina B12 em humanos varia consoante a capacidade de absorção gastrointestinal sendo que esta varia com a idade. O'Leary and Samman (2010); Wolffenbuttel et al., (2019). Segundo um artigo de Malouf and Areosa Sastre (2003) a prevalência de valores baixos de vitamina B12 estão associados a pessoas com AD. Este facto pode estar relacionado com a diminuição da transcobalamina II que é responsável por transportar cerca de 15 % a 20 % da vitamina B12.

A quantidade diária recomendada nos adultos é de 2-5 microgramas, sendo que o seu armazenamento no fígado é de cerca de 2-5 mg. No entanto, uma vez que a absorção desta vitamina diminui com a idade devido à perda do fator intrínseco, à diminuição da secreção de ácido gástrico, à toma de alguns medicamentos ou álcool, é recomendado a toma de suplementos.

A vitamina B12 é necessária para a metilação da homocisteína (Figura 1.12), este ciclo uma vez interrompido pode comprometer a integridade do sistema nervoso e hematopoiético além de poder causar a acumulação de homocisteína, composto tóxico para os neurónios. Os níveis sanguíneos de homocisteína por consequência também aumentam o que representa um fator de risco para doenças vasculares e de declínio cognitivo. O'Leary et al. (2012).

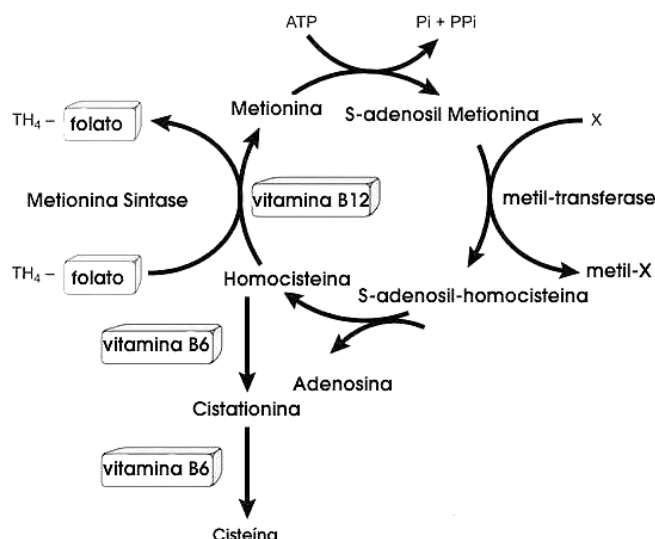


Figura 1.12 Ciclo da homocisteína.

1.5. Lípidos no pescado

O conteúdo lipídico no pescado encontra-se principalmente no fígado, músculo, e zona visceral e depende da espécie, da disponibilidade, época do ano e do ciclo de maturação sexual. Bandarra et al. (2001). Segundo Ackman (1990), de acordo com os teores de gordura os peixes podem ser classificados em quatro categorias. Tabela 1.1.

Tabela 1.1 Classificação do pescado. Ackman (1990).

Classificação	Teor de gordura (%)
Magro	< 2 %
Pouco gordo	2-4 %
Semi-gordo	4-8 %
Gordo	> 8 %

O teor de gordura varia assim consoante o peixe, por exemplo o bacalhau é considerado um peixe magro enquanto o salmão é considerado um peixe gordo.

Os peixes possuem tecido muscular claro e tecido muscular escuro, sendo que a quantidade de ambos varia consoante a atividade do peixe. No caso dos peixes pelágicos, como a cavala que nadam maior parte do tempo, o músculo escuro representa cerca de 48 % do peso corporal enquanto nos peixes demersais, espécies que se alimentam no fundo do mar e que nadam menos, tem menor quantidade de músculo escuro. Neste sentido, o teor lipídico varia do músculo escuro para o músculo claro, sendo maior no músculo escuro porque utiliza não só o glicogénio como é o caso do músculo claro, mas também lípidos para gerar energia. O músculo claro é constituído por fibras do tipo II (fibras brancas) que são utilizadas pelo peixe para movimentos bruscos, enquanto as fibras do músculo escuro são do tipo I (fibras vermelhas) utilizadas para movimentos contínuos e constantes, razão pela qual os peixes pelágicos possuem maior percentagem de músculo escuro na sua composição corporal que os peixes demersais. As reservas de energia no músculo escuro são catabolizadas em CO₂ e água, enquanto no claro é formado ácido láctico. Apesar da mobilização de energia ser muito mais eficaz no músculo claro a formação de ácido láctico provoca fadiga, impedindo o músculo de trabalhar por longos períodos de

tempo a uma velocidade considerável. Em suma, as espécies constituídas maioritariamente por tecido muscular claro são aquelas que não efetuam deslocações constantes tanto para se alimentar como reproduzir o que implica assim um menor consumo de energia ao contrário das espécies pelágicas que se encontram em constante movimento. Kołakowska and Sikorski (2002). Além do músculo, o fígado também acumula reservas lipídicas sendo esta fração muito maior nas espécies magras, pois as espécies gordas acumulam preferencialmente no músculo.

Os lípidos existentes no músculo são compostos essencialmente por TAG que têm uma função de reserva energética e por PL, também denominados lípidos estruturais, por fazerem parte da estrutura das membranas celulares. Neste sentido, os peixes magros possuem uma maior proporção de PL (90 %) em comparação com os TAG.

1.5.1. Cromatografia gasosa (GC)

A caracterização da composição das frações lipídicas abordadas no capítulo anterior e respetivos ácidos gordos em percentagem (%) é obtida pela técnica analítica de cromatografia gasosa.

Esta técnica é normalmente utilizada para isolamento, separação e identificação de compostos. Nogueira et al. (1995). Ao longo dos anos, a determinação dos FA tem conhecido avanços sendo que atualmente a caracterização da composição dos FA por GC tornou-se a mais utilizada na pesquisa de lípidos, uma vez que o GC é utilizado para compostos voláteis ou semi-voláteis, não termolábeis entre eles os ésteres. Em termos de constituição o GC apresenta um injetor, coluna, o detetor e o software (Figura 1.13). No caso dos lípidos, o detetor mais utilizado é o detetor de ionização de chama (GC-FID). No entanto, este detetor apresenta algumas limitações ao nível da seletividade, que se representa através de dois parâmetros, o tempo de retenção (t_R) e o fator de capacidade (k') que relaciona o tempo que o analito permanece na fase estacionária em relação à fase móvel. Dodds et al. (2005).

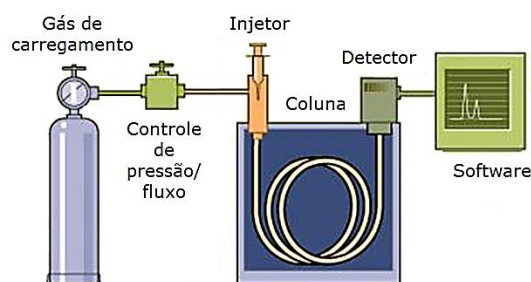


Figura 1.13 Constituição do GC.

1.6. Importância do pescado na dieta

Atualmente, as pequenas espécies de peixes pelágicos que inclui sardinhas, cavala, arenque, entre outros constituem o principal grupo de espécies pescadas tanto para alimentação humana como para a alimentação direta de animais. No entanto, devido ao aumento populacional o consumo per capita aumentou, e a pesca destas espécies não conseguiu acompanhar este aumento, levando ao crescimento do fornecimento de pescado proveniente de aquacultura. Figura 1.14.

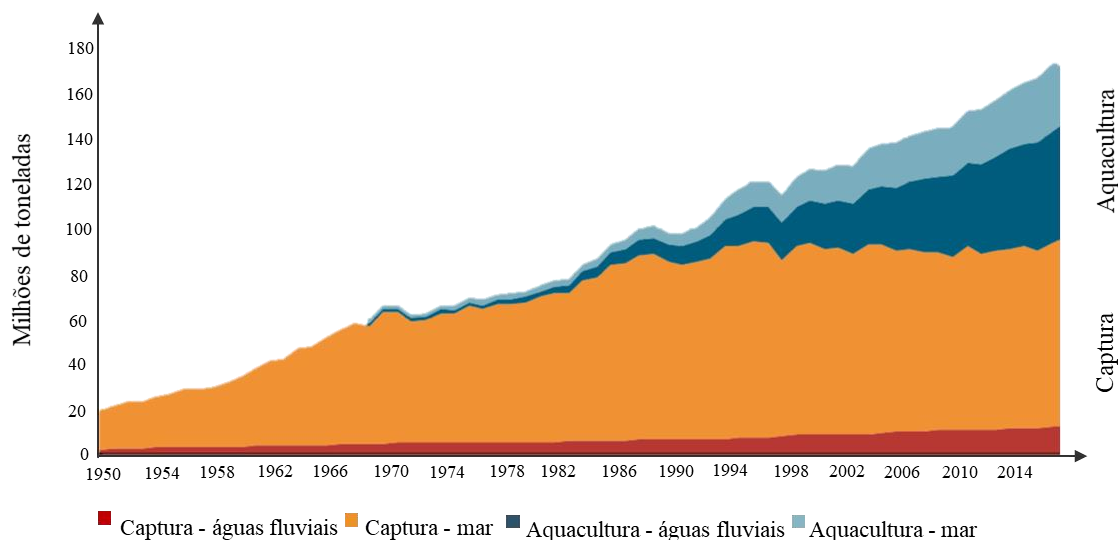


Figura 1.14 Variação da captura e aquacultura no pescado (FAO, 2020).

O pescado seja de captura ou de aquacultura, desempenha um papel importante na nutrição humana, como fonte de nutrientes essenciais na dieta e de proteína animal e apresenta diversos benefícios para a saúde. Neste sentido, o pescado contém um elevado teor de proteína, baixo teor de gordura, essencialmente constituído por n-3, são uma fonte dos principais minerais como o cálcio, fósforo, magnésio e de vitaminas A, B12, D, entre outras e a própria alimentação de cada espécie favorece o aumento destes constituintes essenciais. Tacon and Metian (2013).

As espécies consideradas gordas como o salmão, sardinha e a cavala, são também as mais saudáveis, ou seja, as que ajudam a manter e proporcionam um bem-estar maior ao consumidor porque são mais ricas em nutrientes que estão presentes essencialmente na gordura. Inclui a vitamina D que é solúvel em gordura, n-3 que é essencial para o ótimo funcionamento do organismo e do cérebro, ajuda na redução do risco de diversas doenças cardiovasculares, ajuda a reduzir o risco de doenças neurodegenerativas, de doenças autoimunes, contem nutrientes que são importantes para o crescimento e desenvolvimento e ajuda a melhorar a qualidade do sono. Raji et al. (2014)

1.6.1. Cavala

De acordo com o “Taxomic information system” a espécie em estudo neste trabalho, *Scomber colias* (Gemlin, 1789), pertence ao reino Animalia, filo Chordata, classe Actinopterygii, ordem Perciformes, família Scombridae, género *Scomber Linnaeus 1758*, sendo que em Portugal é denominada de cavala. A família *Scombridae* que inclui as cavalas, o atum e os bonitos tem uma distribuição mundial e contém cerca de 15 géneros e 51 espécies de peixes epipelágicos. O género *Scomber* é representativo desta família contendo três espécies distintas a *Scomber scombrus* (sarda), *Scomber australasicus* (cavala azul) e a *Scomber japonicus* (cavala). As diferenças destas espécies incidem sobretudo nas características morfológicas, como o número de vertebrae ou de espinhos dorsais. Inicialmente a espécie *S. japonicus* era considerada a mais abundante geograficamente, mais precisamente em águas quentes e temperadas dos oceanos atlântico, índico e pacífico. No entanto, como referido por Infante et al. (2007), existem variações fenotípicas entre as amostras do pacífico e do atlântico, nomeadamente na genética do DNA mitocondrial e nuclear. Assim sendo, à cavala do atlântico foi atribuído o nome de *Scomber colias*. FAO (2018).

1.6.2. Características gerais

A cavala (Figura 1.15) é uma espécie muito utilizada para a alimentação humana em diversas partes do mundo.

A cavala, no entanto, é o nome comum aplicado a mais de 30 espécies desta família, consoante a zona do globo a que pertencem ou as suas características, diferem na família e no género a que pertencem. A *Scomber colias* tem uma cor ventral dorsal azulada e esverdeada. Possui duas barbatanas dorsais, uma primeira com 19 ou 21 raios e 9 ou 10 espinhos e uma segunda com 11 ou 12 raios. Tem como principal característica, que a distingue da cavala do pacífico, a barriga marcada por linhas tracejadas ou onduladas. Collete (1983). A cavala pode atingir um máximo de 50 cm e um tempo máximo de vida de 13 anos. No entanto na costa portuguesa esta espécie cresce até aos 20 cm no primeiro ano de vida e atinge a maturidade nos primeiros dois anos de vida. Martins et al. (2013). É considerada um peixe gordo e os lípidos musculares desta espécie têm um interesse especial uma vez que tanto o músculo escuro como o claro podem ser utilizados como alimento. Ackman and Eaton (1971). Segundo um estudo de Čikeš Keč (2012) efetuado na cavala do mar adriático, a cavala apresenta um menor teor lipídico (TL) nos meses mais quentes, entre março e setembro. Por outro lado, existem algumas diferenças no TL entre machos e fêmeas, sendo que os machos são mais gordos nos meses de outubro, dezembro e fevereiro. É um peixe oleoso que tem, como foi referido acima, uma camada externa de músculo escuro e de músculo claro no interior. Esta proporção entre o músculo escuro e músculo claro varia consoante as espécies, assim como a percentagem de gordura. No entanto, todas as espécies de cavala têm um alto teor de gordura, sendo ricas principalmente em gorduras polinsaturadas saudáveis, n-3 PUFA. Além disto, a cavala também é uma importante fonte de proteínas, de selénio, um mineral que ajuda a proteger as células contra radicais livres prejudiciais e vitaminas do complexo B, principalmente a vitamina B12. Dias et al. (2003).

O mercúrio é um dos metais mais prejudiciais para a saúde humana, devido à sua toxicidade. No caso da concentração de mercúrio presentes no pescado, o máximo regulamentado em Portugal para consumo humano é de 0,50 mg/kg (regulamento (CE) n° 1881/2006 da Comissão, de 19 de dezembro de 2006) de peso no pescado em geral. Segundo um estudo de Costa et al. (2020) a cavala, *Scomber colias*, tem um máximo de 0,090 mg/kg. Este valor é mais de 5 vezes inferior ao permitido para consumo. O consumo de peixe é muito recomendado devido às suas propriedades, que ajudam na prevenção e retardamento de diversas doenças além dos benefícios durante a gravidez e no desenvolvimento das crianças.



Figura 1.15 Cavala (*Scomber colias*).

1.6.3. Distribuição geográfica e habitat

Esta espécie tem uma ampla distribuição geográfica e habita águas com temperaturas superiores a 10 °C no oceano atlântico, mar mediterrâneo e negro, (Figura 1.16) e em zonas costeiras até 300 m de profundidade. A oeste do atlântico a cavala habita toda a costa até à África do Sul, incluindo as ilhas canárias, madeira, açores, assim como toda a costa do continente americano. Collete (1983).

É considerada uma espécie pelágica, uma vez que esta espécie habita as águas livres que não estão em contacto com o fundo do mar. Allaya et al. (2016). Reproduz-se entre fevereiro e abril, altura em que ocorre a desova com cerca de 100.000 a 400.000 óvulos. Tecnológica (2014).



Figura 1.16 Distribuição geográfica da cavala (fonte: <http://www.fishbase.se/summary/Scombercolias.html>).

Esta zona pelágica é, no entanto, subdividida em diversos domínios, entre eles, a zona epipelágica, mesopelágica, batipelágica e abissopelágica, sendo que, a cavala habita essencialmente na zona epipelágica e mesopelágica quando adulta. (Figura 1.17). Martins et al. (2013); Vasconcelos et al. (2011).

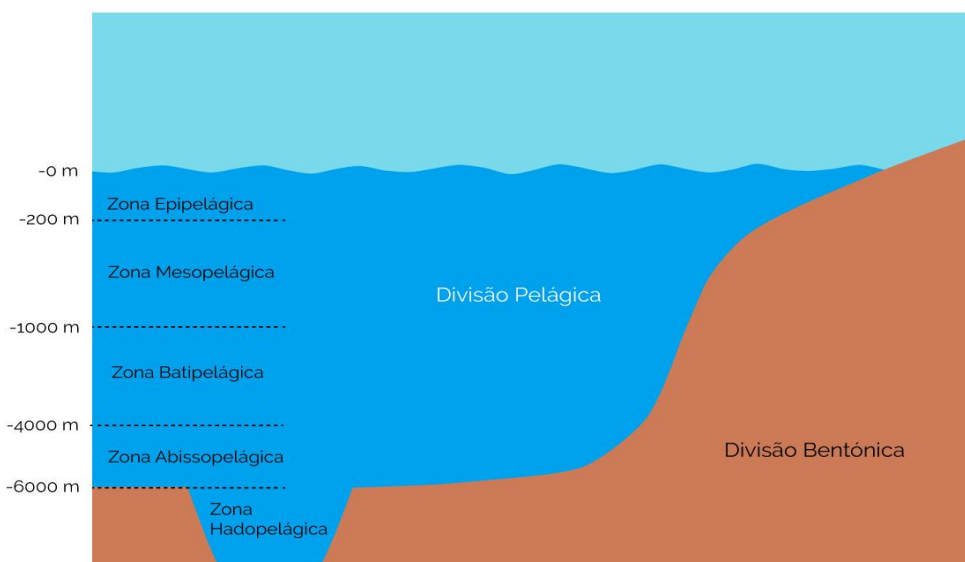


Figura 1.17 Representação da divisão pelágica do oceano.

1.6.4. Hábitos alimentares

A cavala é um peixe migrador, que se encontra em alto mar, exceto em época de reprodução, entre fevereiro e abril, que migra para águas mais quentes junto à costa. Este peixe, permanece no fundo do mar durante o dia, mas durante a noite sobe à superfície para caçar outros peixes pelágicos pequenos, moluscos ou pequenos crustáceos, essencialmente na fase adulta. Jurado-Ruzafa et al. (2017). No

entanto, como descrito por Cabral and Murta (2002) a dieta da cavala consiste principalmente em zooplâncton.

1.6.5. Importância económica

A cavala é uma espécie importante para a atividade piscatória em Portugal. Sendo que os portos nacionais com maior descarga de cavala são Sesimbra, Olhão, Sines, Porto e Figueira da Foz. DGRM (2019). A pesca deste peixe tem vindo a aumentar ao longo dos anos (Figura 1.18), sendo que esta pode ser pescada com cerco, arrasto ou redes de emalhar. Tecnológica (2014).

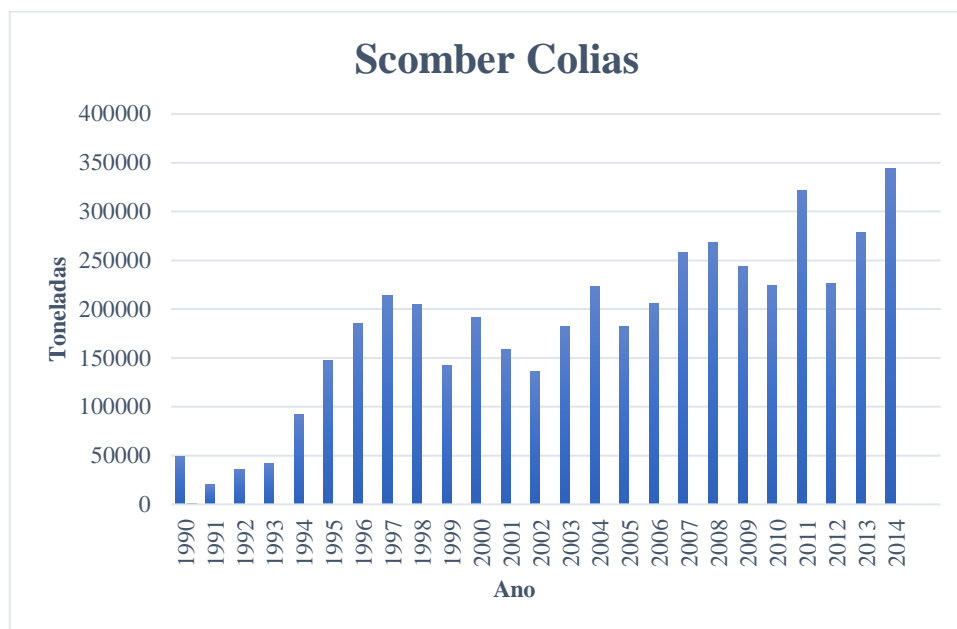


Figura 1.18 Histograma da captura global da espécie *Scomber colias* em toneladas desde 1990 até 2014 baseado no FAO 2016.

2. Objetivo

Como foi referido no capítulo 1.6.2, a composição lipídica da cavala sofre alterações com as variações sazonais, pelo que é importante conhecer essas alterações ao longo das várias épocas do ano. Assim sendo, o objetivo deste estudo consiste em caracterizar o perfil de ácidos gordos em valor relativo (%) da cavala (*Scomber colias*) e das vitaminas da cavala e estudar a sua bioacessibilidade através de um modelo *in vitro* do sistema digestivo humano de modo a conhecer a fração de ácidos gordos essenciais que são absorvidos pelo organismo, focando nos seguintes aspetos:

- Conhecimento da composição de ácidos gordos mensal, sendo este um dos principais fatores associados ao benefício do consumo de pescado;
- Caracterização mensal dos ácidos gordos da cavala;
- Comparação dos ácidos gordos das classes de lípidos entre três meses em que as variações de gordura são evidentes, neste caso entre março (magra), junho (meio-gorda) e outubro (gorda).
- Estudo da composição das frações polar e não polar;
- Determinação da composição lipídica na fração bioacessível;
- Determinação da bioacessibilidade dos ácidos gordos da cavala de forma a avaliar a diferença sazonal na composição de ácidos gordos de modo a ajustar a formulação do produto nutracêutico e usar este peixe para alimentação durante todo o ano.

3. Materiais e métodos

3.1. Instrumentação, reagentes e solventes

Os reagentes utilizados para os métodos a seguir apresentados foram adquiridos na Roth, Merck e Riedel-de Haen, assim como os solventes (p.a) com uma pureza superior a 98 %, sendo que não foram submetidos a nenhuma purificação antes do uso. Para pesar as amostras, foi utilizada uma balança analítica eletrónica (OHAUS, explorer EX224M) com uma precisão de 10^{-4} g.

Na amostragem, para homogeneizar a cavala utilizou-se o Grindomix (Retsh GM 200, Dusseldorf, Germany). As TLC (thin layer chromatography), nome com origem em inglês para cromatografia analítica de camada fina, foram realizadas em duas placas distintas, uma para as classes de lípidos (20 x 20 cm sílica gel 60 F254, 0,25 mm, Merck, Germany), as quais foram posteriormente analisadas por densitometria num densitómetro (GS-800, Bio-Rad, USA) e outra para as TLC preparativas (20 x 20 cm sílica gel 60 F254, 2 mm, Merck, Germany), esta última revelada no UV (CAMAG, Switzerland). Para realizar a análise dos “fatty acid methyl ester” (FAME) utilizou-se um GC (gas chromatography) (Scion 456-GC, West Lothian, UK) com um detetor de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida DB-WAX (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) (0,25 mm d.i × 30 m × 0,25 μm), sendo o hélio o gás de arraste. Os padrões utilizados para preparar o padrão misto¹ (PUFA-3, Menhaden oil, Sigma-Aldrich) utilizados nas técnicas de TLC e FAME foram adquiridos na marca Sigma. No caso da determinação do teor de fósforo o equipamento utilizado foi o espectrofotómetro UNICAM UV 5 220 (ATI UNICAM, Cambridge, UK).

Os reagentes utilizados para a preparação dos fluidos digestivos entre eles KCl, NaH₂PO₄, Na₂SO₄, NaCl, NaHCO₃, HCl, CaCl₂•2H₂O, KH₂PO₄ e o MgCl₂ no ensaio da bioacessibilidade *in vitro* foram adquiridos na Merck (Germany). O NH₄Cl foi obtido na marca Fluka (Switzerland) e os restantes na Sigma.

¹ TAG-trioleína; CH- colesterol; FFA- ácido oleico; PL- L- α -fosfatidilcolina (PC)

3.2. Amostragem

A cavala utilizada neste trabalho foi obtida mensalmente no mercado, no período entre março de 2019 e fevereiro de 2020, sendo o número de amostras utilizadas para cada mês de $n=10$. Inicialmente, mediu-se o comprimento total (CT) e o comprimento furcal (CF) (Figura 3.1) e pesou-se a cavala.

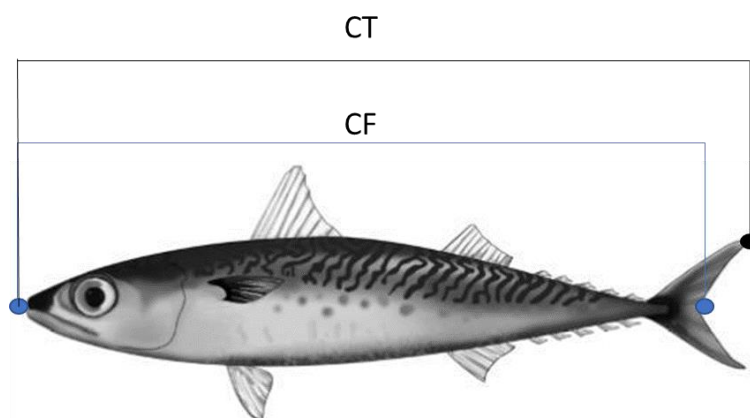


Figura 3.1 Parâmetros biométricos para a cavala.

A cada amostra composta (cavala) foram retiradas os órgãos viscerais, as espinhas e a pele. De seguida, foi retirado o músculo, tanto o escuro como o claro (parte edível). Após a recolha da parte edível das amostras, estas foram homogeneizadas e guardadas com refrigeração a -80°C em sacos selados. Nogueira et al. (2013).

Esta técnica foi utilizada para todas as amostras recolhidas mensalmente.

3.3. Extração de lípidos totais

Os lípidos totais presentes na parte edível foram extraídos segundo o método de Bligh and Dyer (1959).

Pesou-se 1 g de amostra (Pa) homogeneizada para um tubo e para extrair a gordura adicionou-se 5 mL de uma solução metanol: clorofórmio (2:1), homogeneizando no polytron durante 1 minuto. De seguida, adicionou-se 1 mL de uma solução de NaCl concentrado, homogeneizou-se 30 segundos, 2 mL de clorofórmio (30 segundos) e 2 mL de água Mili-Q (1 minuto). Centrifugou-se o homogeneizado 10 minutos a 3900 g (4°C). Retirou-se a fase aquosa (parte superior) e recolheu-se a fase orgânica para um tubo com sulfato de sódio anidro de modo a eliminar a água. A fase orgânica foi centrifugada durante 3 minutos a 3900 g (4°C). A fase orgânica foi recolhida para um balão de pera, pesado previamente (Mi), filtrando-se através de uma coluna com algodão e sulfato de sódio anidro. Para garantir que toda a fase orgânica foi recolhida, adicionou-se novamente ao tubo 2 mL de clorofórmio, agitou-se no vortex e centrifugou-se 3 minutos a 3900 g (4°C), recolhendo-se a fase orgânica novamente para o balão de pera. Para recolher todos os possíveis resíduos existentes na coluna adicionou-se 3x1 mL de clorofórmio. Para evaporar o clorofórmio, colocou-se o balão de pera no evaporador rotativo num banho (45°C) a 9,4 g. Colocou-se o balão em corrente de azoto para garantir a evaporação de todo o clorofórmio. De forma a calcular o teor de gordura, no final, pesou-se o balão pera com a gordura (Mf).

Esta técnica foi utilizada para as amostras de cavala referentes aos meses de março, junho e outubro que foram representativos da cavala magra, meio-gorda e gorda, respetivamente. As amostras foram armazenadas em conformidade com as concentrações necessárias para realizar as técnicas seguintes.

3.4. Quantificação de teor de gordura

Para quantificar o teor de gordura (%) obtido após a extração dos lípidos totais utilizou-se a Equação 3.1.

$$\text{Equação 3.1.} \quad LT(\%) = ((Mf - Mi) \div Pa) \times 100$$

3.5. Classes de lípidos (TLC analítica)

Como referido anteriormente, os lípidos totais presentes na parte edível foram extraídos através do método de Bligh and Dyer (1959) e armazenadas a uma concentração de 10 mg/mL (clorofórmio p.a).

Para se proceder à determinação das classes de lípidos presentes nos lípidos extraídos utilizou-se a TLC e foi efetuado de acordo com o procedimento descrito em Bandarra et al. (2001).

Começou-se por ativar a placa na estufa a 110 °C durante 1h (eliminar a humidade) e posteriormente colocou-se no exsiccador cerca de 30 minutos para arrefecer. Após o arrefecimento, traçou-se uma linha de corte na parte superior da placa e aplicou-se, na placa, 10 µl de amostra e 10 µl de padrão misto na concentração de 5 mg/mL. Preparou-se a fase móvel para determinar a fração apolar com hexano: éter dietílico: ácido acético (65:35:1 v/v/v) que foi colocada numa câmara de TLC de modo a obter-se uma atmosfera saturada. Colocou-se a placa na mistura e deixou-se o solvente eluir até à parte superior (linha de corte efetuada previamente). Depois de eluir, a placa foi derivatizada com ácido fosfomolibdico 10 % em etanol e colocou-se na estufa durante 1h para ativar a 110 °C. Para quantificar as frações correspondente às diferentes classes de lípidos utilizou-se um scanner (Densitometer GS800) e a versão 2.4 do programa Quantity one (USA, New York).

Esta técnica foi utilizada nas amostras de cavala de março, junho e outubro e foi realizada em triplicado (n=3).

3.6. Determinação das classes de lípidos

3.6.1. TLC preparativa

Para realizar a TLC preparativa utilizou-se os lípidos extraídos pelo método Bligh and Dyer (1959) , com uma concentração inicial de 50 mg/mL. Este processo foi anteriormente descrito por Bandarra et al. (2001).

Começou-se por ativar a placa para TLC na estufa a 100 °C durante 20 minutos e colocou-se posteriormente no exsiccador 30 minutos para arrefecer. Aplicaram-se 25 µL de amostra, com o máximo de pontos possíveis (ca de 30 pontos) e 25 µL de padrão misto em clorofórmio na concentração de 5 mg/mL. A seguir colocou-se a placa na câmara de TLC com a fase móvel hexano: éter dietílico: ácido acético (65:35:1 v/v/v) e deixou-se eluir até à parte superior da placa (linha de corte). Para revelar os constituintes da placa, aplicou-se uniformemente uma solução de diclorofluoresceína 0,2 % em etanol, previamente preparada, em toda a placa e deixou-se reagir durante 10 minutos e revelou-se no UV a 254 nm. As frações reveladas pelo UV, foram assinaladas na placa e cada fração foi raspada, separadamente, para tubos.

3.6.2. Transesterificação com catálise ácida

Os FAME foram determinados por transesterificação com catálise ácida como descrito por Bandarra et al. (1997).

A cada tubo foi adicionado 5 mL da mistura cloreto de acetilo: metanol (1:19 v/v) e foram agitados no vortex durante 1 minuto. Após este processo, os tubos foram colocados num banho a 80 °C durante 1 hora e arrefeceram à temperatura ambiente. De seguida, adicionou-se aos tubos 1 mL de água Mili-Q e 2 mL de n-heptano e agitou-se 30 segundos no vortex. Centrifugou-se 3 minutos a 3000 g. Recolheu-se a fase orgânica (parte superior) para um tubo, filtrando por uma coluna de algodão e sulfato de sódio anidro para eliminar a água. Lavou-se a coluna com 15 mL de n-heptano para limpar os possíveis resíduos ainda existentes na coluna. Todo o solvente foi evaporado sob corrente de azoto e posteriormente pesou-se. As amostras foram analisadas por GC.

3.7. Determinação do perfil de ácidos gordos

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

Para determinar o perfil de ácidos gordos começou-se por pesar 300 mg de amostra na balança analítica, previamente liofilizada durante 48 horas. A cada tubo foi adicionado 5 mL de uma solução de cloreto de acetilo: metanol (1:19 v/v). Uma vez que esta reação é exotérmica, esta solução foi preparada na hotte e em gelo, sendo que se adicionou o metanol e depois, com uma pipeta de Pasteur, adicionou-se lentamente pelas paredes, gota-a-gota, o cloreto de acetilo. Após se adicionar esta mistura, os tubos foram agitados durante 30 segundos no vortex e colocou-se num banho a 80° C durante uma hora. Deixou-se arrefecer os tubos à temperatura ambiente e adicionou-se 1 mL de água mili-Q e 2 mL de n-heptano. De seguida agitou-se os tubos durante 30 segundos no vortex, para homogeneizar, e centrifugou-se a 3900 g, durante 3 minutos a 4 °C. Após a centrifugação formaram-se duas fases (fase aquosa e fase orgânica) e recolheu-se a parte superior (orgânica), onde estão presentes os ésteres metílicos, para um vial, filtrando através de uma coluna com algodão e sulfato de sódio anidro. As amostras foram analisadas por GC. Os resultados foram expressos tanto em conteúdo relativo (%) como em conteúdo absoluto (mg/100g). Para avaliar a influencia do consumo de cavala em doenças coronárias avaliou-se os índices AI e TI como referenciado no capítulo 1.2.3.2.

3.8. Análise cromatográfica

A análise dos esteres metílicos dos ácidos gordos foi efetuada através da injeção de 2µL do preparado no GC.

A coluna foi sujeita a uma temperatura que começou a 180 °C por 5 minutos, aquecendo 4 °C min⁻¹ até aos 200 °C, ficando a esta temperatura por 10 minutos, aquecendo de seguida até aos 210 °C, proporcionando assim uma separação limpa. Cada análise demorou cerca de 40 minutos.

Os cromatogramas obtidos fornecem a percentagem relativa dos ácidos gordos presentes na amostra. Cada ácido gordo foi identificado comparando o tempo de retenção de cada um deles com os tempos de retenção de padrões de FAME já previamente analisados, aos quais foi aplicado posteriormente um fator corretivo segundo a Equação 3.2.

Equação 3.2 $F. \text{correctivo} = (0,933 - 0,143)/\text{gordura} (\%)$

3.9. Composição química

3.9.1 Determinação do teor de cinza

O teor de cinza foi determinado gravimetricamente através da incineração da amostra numa mufla a 500 °C, de acordo com a metodologia da NP 2032 de 2009. Pesou-se 5 g de amostra para cadinhos e secou-se na estufa a 100 °C durante uma noite. As amostras secas foram transferidas para uma mufla a 200 °C, aumentando-se progressivamente até aos 500 °C, ficando a esta temperatura durante uma noite. Após este processo, transferiram-se os cadinhos para um exsicador para arrefecerem até à temperatura ambiente e pesou-se em conjunto o cadinho e a amostra incinerada. O procedimento (incineração, arrefecimento e pesagem) foi repetido até que os resultados das pesagens fossem semelhantes, não diferindo em mais de 1 mg. Para determinar o teor de cinza utilizou-se a Equação 3.3.

$$\text{Equação 3.3} \quad \text{Teor de cinza}(\%) = \frac{m(\text{cadinho} + \text{amostras incineradas})(g) - m(\text{cadinho})(g)}{m(\text{amostra})(g)} \times 100$$

3.9.2 Determinação do teor de humidade

O teor de humidade da cavala foi determinado segundo a Norma Portuguesa NP 2282 de 2009.

Pesou-se 10 g de amostra, para placas de Petri, previamente identificadas e secas em estufa a 105 ± 2 °C, posteriormente arrefecidas no exsicador e pesadas. Colocou-se as placas de petri com a amostra na estufa à temperatura de 105 ± 2 °C, durante uma noite. De seguida, retirou-se as amostras da estufa, colocando-as no exsicador até atingirem a temperatura ambiente e pesaram-se. Para garantir que a amostra se encontrava totalmente seca, foram colocadas novamente durante 30 minutos na estufa, arrefeceu-se até atingir a temperatura ambiente e pesou-se. Repetiu-se entre processo até que as diferenças entre pesagens não diferenciassem entre si, mas do que 10 mg. Para determinar o teor de humidade recorreu-se à Equação 3.4. Afonso et al. (2013).

$$\text{Equação 3.4} \quad \text{Teor de humidade}(\%) = 100 - \left[\frac{m(\text{c.petri} + \text{amostra seca})(g) - m(\text{c.petri})(g)}{m(\text{amostra})(g)} \times 100 \right]$$

3.9.3 Determinação do teor de proteína

Uma amostra com cerca de 1 g foi pesada e colocada em um cadinho de cerâmica. O cadinho por sua vez é colocado num forno a 1050 °C com uma atmosfera de oxigénio. A amostra é queimada e os elementos orgânicos são oxidados. Os gases provenientes da combustão (O₂, CO₂, H₂O, N₂ e óxidos de azoto) são recolhidos e passam por várias armadilhas sendo que todos são eliminados exceto o azoto e o óxido de azoto. Uma vez que é produzido um elevado volume de gases de combustão apenas uma parte representativa (10 cm³) é transportada pelo Hélio (He) através de um catalisador de cobre para converter os óxidos de azoto em azoto. A mistura é depois transportada para uma célula de condutividade térmica que emite um sinal elétrico, que é integrado durante 40 s, proporcional ao teor de azoto. O teor de proteína é depois calculado através de uma curva de calibração que é traçada utilizando padrões de glicina conhecido e é expresso em percentagem. Figura 3.2.

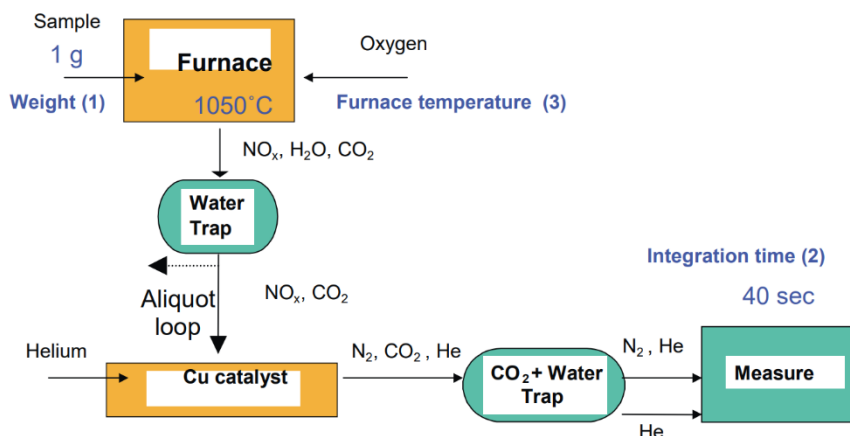


Figura 3.2 Diagrama do analisador de azoto LECO pelo método *DUMAS* (Fonte : Saint-Denis and Goupy (2004))

3.9.4 Determinação do teor de gordura

A determinação do teor de gordura é efetuada através da extração por Soxhlet. Nesta extração, o solvente é destilado na câmara de extração enquanto o aquecimento superior está ligado. A temperatura da câmara de extração depende da mistura de solventes sendo que por norma deve ser 20 °C inferior à temperatura de ebulição da mistura. Neste sentido pesou-se 5 g de amostra que foi submetida à extração com 80 mL de solvente. Após a extração e evaporação do solvente a amostra foi seca a 104 °C durante 30 min, após se obter um peso constante. Manirakiza et al. (2001); Maulvault et al. (2012)

3.9.5 Determinação do teor de fósforo

O teor de fósforo da cavala foi determinado espectrofotometricamente como descrito em ISO (1996) e adaptado de Cavell (1955).

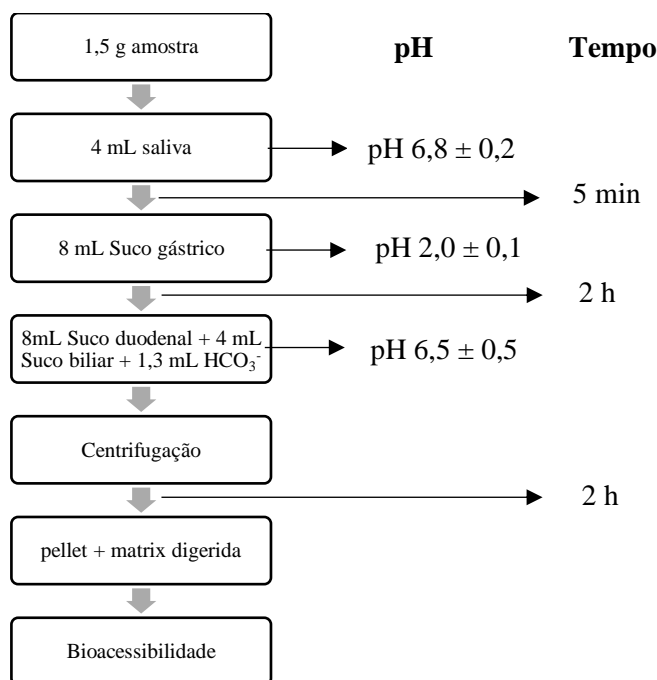
Inicialmente, começou-se por incinerar 5 g de amostra que foram posteriormente dissolvidas em HCl (20 % *p/v*). Para determinar o teor de fósforo realizaram-se medidas calorimétricas da absorvência de um composto amarelo, resultante da reação do fósforo com uma mistura de vanadato de amónio e molibdato de amónio.

3.10. Digestão *in vitro* da cavala

Para determinar a composição lipídica da fração bioacessível na cavala foi necessário inicialmente simular *in vitro* o processo de digestão gastrointestinal no ser humano. Este processo foi inicialmente descrito por Versantvoort et al. (2005) e adaptado por Afonso et al. (2015). As soluções e enzimas utilizadas na preparação dos sucos digestivos são apresentados na Tabela 3.1.

Inicialmente pesou-se 1,5 g de amostra para tubos de centrifuga e prepararam-se as soluções de saliva, suco gástrico, suco duodenal e suco biliar recorrendo às quantidades apresentadas na Tabela 3.1. Para se iniciar o processo digestivo adicionou-se a cada tubo a 4 mL da solução de saliva (pH de $6,8 \pm 0,2$) e deixou-se por 5 minutos a misturar e 8 mL da solução de suco gástrico (pH $1,3 \pm 0,02$ a 37 ± 2 °C), diminuindo o pH para $2,0 \pm 0,1$ (para simular uma situação de estômago vazio) e colocaram-se os tubos no agitador rotativo ($28,9$ g a 37 ± 2 °C), durante 2 horas de forma a simular a 1ª digestão (estômago). Após este passo o pH dos tubos foi acertado para um pH= $2 \pm 0,1$. Posteriormente, adicionou-se 8 mL

da solução de suco duodenal ($\text{pH } 8,1 \pm 0,2$ a $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), 4 mL de solução de suco biliar ($\text{pH } 8,2 \pm 0,2$ a $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e 1,3 mL de HCO_3^- (1 M) aos tubos. O pH foi acertado para um $\text{pH} = 6,5 \pm 0,5$ e colocaram-se os tubos novamente no agitador rotativo (28,9 g a $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), durante 2 horas para simular a 2ª digestão (intestinal). Os tubos foram centrifugados durante 5 minutos a 2750 g e separou-se o sobrenadante (fração bioacessível) do pellet (fração não digerida). Recolher, se existir, a gordura da parede dos tubos com algodão e colocar num tubo. O processo é apresentado, em suma, pelo Esquema 3.1.



Esquema 3.1 Representação esquemática do modelo digestivo *in vitro*. Este processo desenvolve-se em 3 etapas, na boca, estômago e no intestino delgado. Em todas as etapas a amostra deve manter-se por volta dos $37 \text{ }^\circ\text{C}$.

O ensaio foi efetuado para as amostras de cavala correspondentes aos meses de março sendo realizado em sextuplicado ($n=6$) e junho e outubro que foram realizados em triplicado ($n=3$). Foi realizado também uma simulação do processo digestivo contendo apenas os sucos digestivos (controlo negativo) em quintuplicado ($n=5$), tendo como objetivo final subtrair a quantidade de cada nutriente presente nos sucos digestivos à quantidade desse mesmo nutriente na fração bioacessível.

Tabela 3.1 Composição dos sucos digestivos utilizados na digestão *in vitro*.

Soluções /Enzimas	Saliva	Suco gástrico	Suco duodenal	Suco biliar
	100 mL	200 mL	200 mL	100 mL
	mL	mL	mL	mL
KCl ($89,6 \text{ g/L}^{-1}$)	2	3,64	2,52	0,84
KSCN ($20,0 \text{ g/L}^{-1}$)	2	-	-	-
NaH_2PO_4 ($88,8 \text{ g/L}^{-1}$)	2	1,2	-	-
NaSO_4 ($57,0 \text{ g/L}^{-1}$)	2	-	-	-
NaCl ($175,3 \text{ g/L}^{-1}$)	0,34	6,28	16	6

NaHCO ₃ (84,7 g/ L ⁻¹)	4	-	16	12,76
CaCl ₂ .2H ₂ O (22,2 g/ L ⁻¹)	-	7,2	3,6	2
NH ₄ Cl (30,6 g/ L ⁻¹)	-	4	-	-
KH ₂ PO ₄ (8,0 g/ L ⁻¹)	-	-	4	-
MgCl ₂ (5,0 g/ L ⁻¹)	-	-	4	-
HCl 37% (p/p)	-	2,6	0,072	0,030
Ureia (25,0 g/ L ⁻¹)	1,6	1,36	1,6	2
Ácido glucorónico (2,0 g/ L ⁻¹)	-	4	-	-
Glucose (65,0 g/ L ⁻¹)	-	4	-	-
Hidrocloreto de glucosamina (33,0 g/ L ⁻¹)	-	4	-	-
	mg	g	g	g
α -Amilase	58	-	-	-
Ácido úrico	3	-	-	-
Mucina	3	1,2	-	-
BSA	-	0,4	0,4	0,36
Pepsina	-	1,32	-	-
Pancreatina	-	-	3,6	-
Lipase	-	-	0,6	-
Tripsina	-	-	-	6
α -Quimotripsina	-	-	0,032	-
Bilis	-	-	0,348	-
pH	6,8 \pm 0,2	1,3 \pm 0,02	8,1 \pm 0,2	8,2 \pm 0,2

3.10.1. Extração lipídica da fração bioacessível

Após se realizar o referido no capítulo 3.10, é necessário extrair os lípidos da fração bioacessível. Primeiramente, lavou-se o algodão por 3 vezes com 2 mL de CHCl₃, agitou-se no vortex e transferiu-se para o tubo com a fração bioacessível. A cada tubo adicionou-se 1 g de NaCl, agitou-se durante 1 minuto no vortex e centrifugou-se durante 10 minutos a 3900 g a 4°C. Retirou-se a fase orgânica (inferior) para tubos tarados com a pipeta de Pasteur filtrando por uma coluna de algodão e sulfato de sódio anidro. Extraíu-se novamente com 3 mL de CHCl₃ agitou-se no vortex e centrifugou-se com as mesmas condições. Retirou-se a fase orgânica e filtrou-se. Repetiu-se este passo por 2 vezes.

Após as extrações os tubos foram evaporados à secura e pesados. Fez-se uma pool de cada mês e do controlo. Adicionou-se a cada tubo inicial 2 mL de CHCl₃ transferindo para o tubo da pool, correspondente. Lavou-se cada tubo com 2 x 1 mL de CHCl₃ e evaporou-se o CHCl₃ dos tubos e

pesou-se. Tendo em conta a massa inicial (antes da pool) adicionou-se CHCl_3 de forma a obter uma concentração final de 10 mg/mL e armazenou-se a $-80\text{ }^\circ\text{C}$.

3.10.2. Determinação das classes de lípidos da fração bioacessível por TLC

Colocou-se a placa analítica na estufa a $110\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora para ativar e depois durante 30 minutos no exsiccador para arrefecer. Após este processo traçou-se uma linha de corte na parte superior da placa e na parte inferior aplicou-se 10 μl de amostra e 10 μl de padrão misto e padrão² com 1,3 DAG; 1,2 DAG e MAG. Entretanto, preparou-se a fase móvel com hexano: éter dietílico: ácido acético (50:50:2 v/v/v), colocou-se na câmara de TLC e deixou-se saturar durante 10 minutos. Colocou-se a placa dentro da câmara de TLC e deixou-se eluir até à linha de corte. Retirou-se a placa e derivatizou-se uniformemente toda a placa com uma solução de ácido fosfomolibdico a 10 % (p/v) em etanol. A placa foi colocada na estufa durante 1 hora a $110\text{ }^\circ\text{C}$ para ativar. Depois de se retirar da estufa quantificou-se as frações das diferentes classes de lípidos no densitómetro.

O processo foi realizado para os meses de março, junho e outubro e para o controlo negativo em triplicado (n=3).

3.10.3. Determinação do perfil de ácidos gordos da fração bioacessível

Este passo realizou-se nas mesmas condições descritas no capítulo 3.7, sendo que a gordura utilizada para os FAME foi toda a gordura obtida em 3.10.1.

A percentagem (%) de ácidos gordos na fração bioacessível foi calculada através da Equação 3.5.

$$\text{Equação 3.5} \quad \% \text{ C Bioacessível (\%)} = \frac{[C] \text{ Bioacessível} \times 100}{[S]}$$

Sendo que, o “[C] Bioacessível” consiste na concentração de gordura presente na fração bioacessível e “[S]” a concentração de gordura inicial da cavala antes da digestão obtida no capítulo 4.1.

Para se obter a quantidade lipídica que é absorvida pelo organismo humano após a digestão foi necessário calcular a bioacessibilidade de cada ácido gordo. Assim os resultados, vão representar a quantidade que cada ácido gordo inicial apresenta, para ser assimilada, após a digestão. Esta quantidade pode ser obtida através da Equação 3.6.

$$\text{Equação 3.6} \quad \text{Ácido gordo bioacessível (mg/g)} = \frac{\text{ác. gordo inicial (mg/g)} \times \text{ác. gordo bioacessível (\%)}}{100}$$

3.11. Tratamento estatístico dos dados

Todos os dados foram posteriormente analisados no software StatisticaTM v.12 (statsoft, Inc., Tulsa OK74104, USA). Inicialmente foi verificada a homogeneidade de variâncias, seguiu-se a análise da variância unidirecional (one-Way ANOVA) e o teste de comparação múltipla “Tukey HSD test” que foi

² Padrão – 1,2 DAG (gliceril 1,2 dipalmitato); 1,3 DAG (gliceril 1,3 dipalmitato); MAG (DL- α -monoleína)

essencialmente para determinar as diferenças significativas (confiança 95 %, p -value < 0,05) para os diversos parâmetros analisados.

4. Resultados e discussão

4.1. Caracterização biométrica

Procedeu-se à caracterização biométrica da cavala para os meses de março/19 até fevereiro/20 e os dados obtidos são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Características biométricas mensais da cavala.

Mês	Comprimento total (cm)	Peso (g)
Março	28,0 ± 0,6 ^c	189,1 ± 10,1 ^{b,c}
Abril	30,0 ± 0,8 ^{e,f}	227,0 ± 17,6 ^{c,d}
Maio	27,3 ± 0,9 ^{b,c}	176,2 ± 20,6 ^{a,b}
Junho	26,2 ± 1,1 ^{a,b}	212,8 ± 25,0 ^{b,c,d}
Julho	29,5 ± 0,9 ^{d,e,f}	246,8 ± 21,4 ^{d,e}
Agosto	27,5 ± 1,3 ^{b,c}	178,6 ± 23,1 ^{a,b}
Setembro	25,1 ± 0,7 ^a	145,6 ± 15,1 ^a
Outubro	27,6 ± 1,1 ^{b,c}	212,7 ± 36,4 ^{b,c,d}
Novembro	30,4 ± 1,0 ^f	266,1 ± 42,2 ^e
Dezembro	29,2 ± 1,0 ^{d,e,f}	224,2 ± 30,1 ^{c,d}
Janeiro	26,5 ± 1,0 ^{a,b}	144,2 ± 19,7 ^a
Fevereiro	28,6 ± 1,2 ^{c,d,e}	212,7 ± 32,2 ^{b,c,d}
Média	27,8 ± 1,0	212,7 ± 22,3

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Na mesma linha, as diferentes letras representam médias aritméticas significativamente diferentes ($p < 0,05$).

O comprimento médio das amostras compostas dos diversos meses variou entre 25,1 cm e 30,4 cm, sendo que o peso médio variou entre 144,2 g e 266,1 g. Pela Tabela 4.1 é possível observar semelhanças no que diz respeito ao comprimento das amostras mensais. No caso do peso, este varia consoante o mês, no entanto os meses de março, maio, agosto, setembro e janeiro apresentam um peso inferior em relação aos restantes meses, facto também relatado por Čikeš Keč (2012). Os meses de julho e novembro apresentaram um conteúdo relativo significativo ($p < 0,05$) superior aos restantes meses.

Segundo Bandarra et al. (2004), a cavala apresenta um comprimento máximo de 60 cm e um comprimento mínimo de 20 cm, sendo que o comprimento mais usual varia entre 15-30 cm, o que vai ao encontro com os comprimentos obtidos para as amostras em estudo. O peso também se encontra em conformidade com um estudo realizado por Torres et al. (2012) que indica um peso entre 12,8-347,5 g (min-máx).

4.2. Composição química

A composição química da cavala foi obtida num período de um ano (março 2019 a fevereiro 2020) e os resultados encontram-se na Figura 4.1.

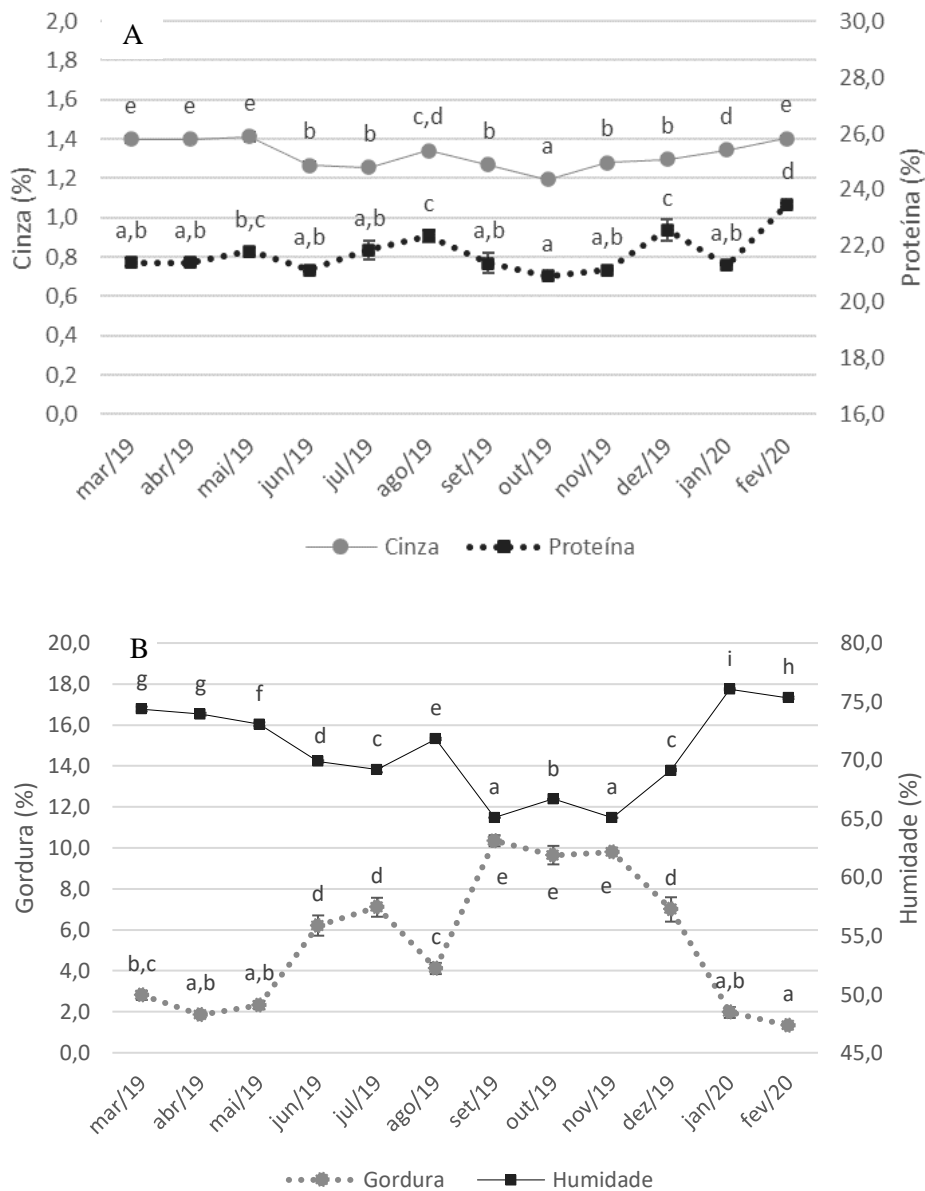


Figura 4.1 Alterações sazonais da composição química (%) da cavala (A – cinza e proteína; B – gordura e humidade).

Na Figura 4.1 é possível observar que as maiores variações sazonais presentes no músculo da cavala (parte edível) estão presentes na gordura e na humidade. Em relação à proteína tem a sua percentagem mínima em outubro (20,9 %) e a máxima em fevereiro (23,5 %), sendo que a cinza apenas varia entre 1,2 % e 1,4 % (outubro e maio, respetivamente). Os valores de proteína e cinza mantêm-se relativamente estáveis ao longo dos meses e estão em conformidade com os valores apresentados por Bandarra et al. (2004); Karakoltsidis et al. (1995).

Na Figura 4.1 B) a percentagem de gordura variou entre 1,3 % e 10,5 %, sendo que os valores mais elevados foram obtidos entre os meses de setembro e novembro e o mínimo no mês de fevereiro. De acordo com Vasconcelos et al. (2012) a época de desova da cavala ocorre durante os meses de janeiro e abril, mas o pico acontece no mês de fevereiro o que pode explicar o valor mínimo na percentagem de gordura deste mês. No entanto, a baixa percentagem de gordura permanece no mês de maio, o que segundo Martins (1996) pode acontecer devido a uma desova tardia observada na costa portuguesa. A quebra na percentagem de gordura no mês de agosto pode ser explicada segundo Romotowska et al. (2016); Turchini et al. (2009) através de fatores externos como a disponibilidade de alimento, a competição por alimento com outras espécies, salinidade ou temperatura da água. Em relação à humidade, esta variou entre 65,1 % e 76,1 % entre setembro e janeiro, respetivamente.

Os resultados observados na Figura 4.1 B) são consistentes com estudos realizados por Zotos and Vouzanidou (2012), onde é reportado que a quantidade de lípidos acumulados variam ao longo do ano, uma vez que dependem do equilíbrio entre a alimentação e o consumo de energia do peixe. A menor percentagem de gordura é também associada ao período de desova, sendo que nesta altura os peixes normalmente não se alimentam e as reservas são usadas no processo reprodutivo que se traduz na quebra das reservas lipídicas, que pode ser observada entre os meses de janeiro e maio. Resultados similares foram reportados para espécies pelágicas comuns na costa portuguesa como a sardinha (*Sardina pilchardus*), carapau (*Trachurus trachurus*) e o peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*). Bandarra et al. (2009); Bandarra et al. (1997); Bandarra et al. (2001). É importante realçar que a humidade e gordura são inversamente proporcionais.

4.1. Perfil de ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos no músculo (parte edível) da cavala é apresentado na Tabela 4.2 ((conteúdo relativo (% ácidos gordos totais)) e na Tabela 4.3 (conteúdo absoluto mg/100g ww, que foi estimado através do fator corretivo proposto por Weihrauch et al. (1977)). A Figura 4.2 é um exemplo dos cromatogramas obtidos para o perfil de ácidos gordos assim como para Composição de ácidos gordos polares e não polares (4.3), Perfil de ácidos gordos da fração bioacessível (4.6.2) e para a Bioacessibilidade de cada ácido gordo (4.6.3).

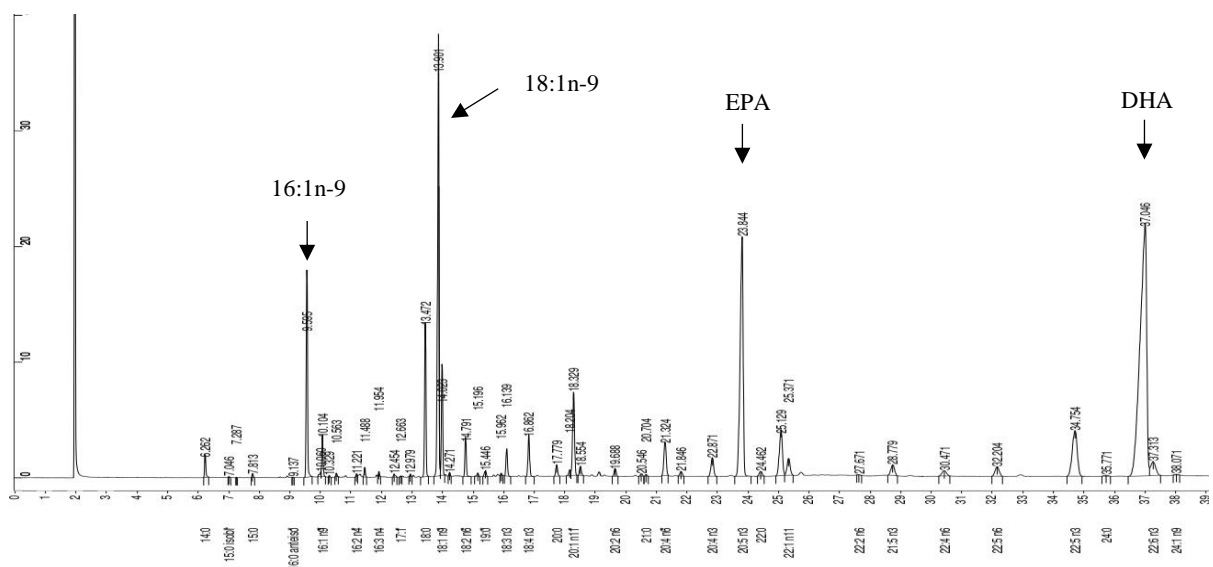


Figura 4.2 Cromatograma do mês de dezembro

Tabela 4.2. Variação sazonal do perfil de ácidos gordos na cavala na parte edível, expressos em percentagem relativa.

	mar/19	abr/19	mai/19	jun/19	jul/19	ago/19	set/19	out/19	nov/19	dez/19	jan/20	fev/20
<i>14:0</i>	1,6 ± 0,1 ^d	1,8 ± 0,0 ^d	2,6 ± 0,1 ^e	3,3 ± 0,1 ^g	3,0 ± 0,0 ^f	3,5 ± 0,0 ^g	0,7 ± 0,0 ^{ab}	1,1 ± 0,1 ^c	0,6 ± 0,1 ^{ab}	0,5 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,1 ^{bc}	0,9 ± 0,1 ^{bc}
<i>16:0</i>	13,1 ± 0,7 ^e	15,3 ± 0,1 ^f	17,4 ± 0,1 ^g	19,0 ± 0,1 ^{gh}	19,7 ± 0,1 ^h	18,1 ± 0,1 ^{gh}	7,4 ± 0,2 ^{bc}	10,6 ± 0,4 ^d	8,4 ± 0,9 ^c	5,7 ± 0,3 ^a	6,6 ± 0,5 ^b	8,0 ± 0,4 ^{bc}
<i>18:0</i>	7,4 ± 0,2 ^e	10,0 ± 0,1 ^g	8,4 ± 0,0 ^f	6,1 ± 0,0 ^{bc}	6,5 ± 0,0 ^{cd}	6,7 ± 0,0 ^d	4,9 ± 0,0 ^a	5,6 ± 0,1 ^b	5,9 ± 0,2 ^b	4,5 ± 0,3 ^a	4,9 ± 0,1 ^a	5,6 ± 0,1 ^b
<i>Σ SFA</i>	25,3 ± 1,1 ^d	30,5 ± 0,2 ^e	32,2 ± 0,1 ^e	31,5 ± 0,1 ^e	32,3 ± 0,1 ^e	32,2 ± 0,2 ^e	15,6 ± 0,2 ^b	19,5 ± 0,5 ^c	16,8 ± 1,3 ^b	12,2 ± 0,1 ^a	14,4 ± 0,0 ^{ab}	16,7 ± 0,0 ^b
<i>16:1 n-9</i>	0,2 ± 0,0 ^b	ND ¹	ND	ND	ND	ND	0,1 ± 0,0 ^{ab}	0,2 ± 0,2 ^a	0,2 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^{ab}	0,2 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^b
<i>16:1 n-7</i>	2,6 ± 0,1 ^d	2,2 ± 0,0 ^c	3,3 ± 0,0 ^e	5,2 ± 0,0 ^g	4,9 ± 0,0 ^f	5,1 ± 0,0 ^{fg}	2,6 ± 0,1 ^d	2,4 ± 0,1 ^d	1,6 ± 0,2 ^b	1,1 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,0 ^a
<i>18:1 n-9</i>	10,4 ± 0,1 ^c	14,7 ^f ± 0,0	12,0 ± 0,0 ^{de}	13,1 ± 0,0 ^e	15,9 ± 0,0 ^{gh}	11,4 ± 0,1 ^{cd}	8,0 ± 0,1 ^b	15,1 ± 0,4 ^{fg}	16,9 ± 0,8 ^h	12,9 ± 0,3 ^e	6,0 ± 0,2 ^a	5,1 ± 0,0 ^a
<i>18:1 n-7</i>	3,4 ± 0,1 ^d	3,8 ± 0,0 ^{fg}	2,7 ± 0,0 ^b	3,4 ± 0,0 ^{de}	3,9 ± 0,0 ^g	2,9 ± 0,0 ^b	3,1 ± 0,0 ^c	3,8 ± 0,1 ^{fg}	3,6 ± 0,1 ^{ef}	2,9 ± 0,0 ^b	2,2 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1 ^a
<i>20:1 n-9</i>	1,7 ± 0,0 ^b	2,4 ± 0,0 ^d	1,7 ± 0,0 ^b	2,8 ± 0,0 ^f	2,3 ± 0,0 ^d	1,5 ± 0,0 ^a	3,7 ± 0,0 ^h	2,6 ± 0,0 ^e	3,1 ± 0,1 ^g	3,1 ± 0,0 ^g	2,1 ± 0,0 ^c	1,5 ± 0,1 ^a
<i>22:1 n-11</i>	1,4 ± 0,0 ^c	1,1 ± 0,0 ^b	0,6 ± 0,0 ^a	3,6 ± 0,1 ^g	1,6 ± 0,0 ^{cd}	0,6 ± 0,0 ^a	6,7 ± 0,2 ^h	1,7 ± 0,1 ^{cd}	1,8 ± 0,1 ^d	2,8 ± 0,1 ^f	3,7 ± 0,1 ^g	2,2 ± 0,0 ^c
<i>Σ MUFA</i>	21,1 ± 0,2 ^b	26,8 ± 0,0 ^{de}	22,6 ± 0,0 ^c	30,4 ± 0,0 ^g	30,4 ± 0,0 ^g	23,6 ± 0,0 ^e	26,6 ± 0,0 ^{de}	27,5 ± 0,5 ^e	29,0 ± 0,8 ^f	26,1 ± 0,6 ^d	20,3 ± 0,2 ^b	16,0 ± 0,1 ^a
<i>18:2 n-6</i>	1,5 ± 0,0 ^f	1,3 ± 0,0 ^{ef}	1,4 ± 0,0 ^{ef}	1,2 ± 0,0 ^d	1,3 ± 0,0 ^{de}	1,3 ± 0,0 ^{de}	1,0 ± 0,0 ^{bc}	1,3 ± 0,0 ^{de}	1,3 ± 0,1 ^{de}	1,1 ± 0,1 ^c	0,8 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,1 ^{ab}
<i>18:3 n-3</i>	1,3 ± 0,0 ⁱ	0,6 ± 0,0 ^{bc}	1,1 ± 0,0 ^{gh}	0,8 ± 0,0 ^{cd}	0,8 ± 0,1 ^{def}	1,0 ± 0,0 ^{fg}	0,8 ± 0,1 ^{def}	1,1 ± 0,0 ^h	1,0 ± 0,0 ^{efg}	0,8 ± 0,0 ^{de}	0,4 ± 0,1 ^a	0,5 ± 0,0 ^{ab}
<i>18:4 n-3</i>	2,1 ± 0,0 ^f	0,9 ± 0,0 ^b	2,3 ± 0,0 ^g	1,5 ± 0,0 ^d	1,3 ± 0,0 ^c	2,3 ± 0,0 ^g	1,8 ± 0,0 ^e	2,0 ± 0,0 ^f	1,6 ± 0,1 ^d	1,3 ± 0,1 ^c	0,8 ± 0,1 ^{ab}	0,7 ± 0,0 ^a
<i>20:4 n-6</i>	1,6 ± 0,0 ^{cd}	1,8 ± 0,0 ^e	1,4 ± 0,0 ^{ab}	1,4 ± 0,0 ^{ab}	1,4 ± 0,0 ^b	1,3 ± 0,0 ^a	1,9 ± 0,0 ^{ef}	1,7 ± 0,0 ^d	1,6 ± 0,0 ^d	1,6 ± 0,0 ^c	1,6 ± 0,0 ^c	1,9 ± 0,0 ^f
<i>20:5 n-3</i>	10,0 ± 0,1 ^d	7,1 ± 0,0 ^a	8,1 ± 0,0 ^b	9,7 ± 0,0 ^{cd}	10,6 ± 0,1 ^c	9,2 ± 0,0 ^c	16,1 ± 0,1 ^h	16,1 ± 0,2 ^h	14,9 ± 0,2 ^g	14,2 ± 0,4 ^f	8,6 ± 0,0 ^b	6,8 ± 0,0 ^a
<i>22:5 n-6</i>	0,9 ± 0,0 ^c	1,1 ± 0,1 ^d	1,1 ± 0,0 ^d	0,7 ± 0,0 ^{ab}	0,6 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,0 ^c	0,8 ± 0,0 ^c	0,5 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,0 ^{bc}	1,3 ± 0,0 ^d	1,5 ± 0,0 ^e
<i>22:5 n-3</i>	2,6 ± 0,1 ^b	2,3 ± 0,0 ^b	1,6 ± 0,0 ^a	1,8 ± 0,0 ^a	1,8 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,0 ^a	3,8 ± 0,1 ^{ef}	3,2 ± 0,1 ^c	3,6 ± 0,2 ^{de}	4,6 ± 0,0 ^g	4,2 ± 0,1 ^f	3,4 ± 0,0 ^{cd}
<i>22:6 n-3</i>	28,2 ± 1,0 ^d	21,5 ± 0,2 ^{bc}	21,4 ± 0,2 ^{bc}	15,4 ± 0,1 ^a	13,8 ± 0,0 ^a	19,5 ± 0,3 ^b	26,0 ± 0,7 ^d	22,5 ± 0,8 ^c	25,6 ± 1,6 ^d	33,3 ± 0,4 ^e	43,7 ± 0,4 ^f	48,6 ± 0,9 ^g
<i>Σ PUFA</i>	51,5 ± 1,2 ^c	39,4 ± 0,0 ^b	41,4 ± 0,1 ^b	35,3 ± 0,1 ^a	34,5 ± 0,1 ^a	40,7 ± 0,3 ^b	56,3 ± 0,9 ^d	52,1 ± 1,0 ^c	53,6 ± 2,0 ^{cd}	60,9 ± 0,9 ^e	64,5 ± 1,0 ^{ef}	66,9 ± 1,0 ^f
<i>Σ n-3</i>	46,1 ± 1,2 ^d	33,8 ± 0,1 ^{bc}	36,0 ± 0,2 ^c	30,7 ± 0,0 ^{ab}	29,8 ± 0,0 ^a	35,5 ± 0,2 ^c	50,8 ± 0,9 ^e	47,2 ± 1,0 ^d	48,7 ± 2,0 ^{de}	56,2 ± 1,0 ^f	59,1 ± 0,6 ^{fg}	61,1 ± 0,9 ^g
<i>Σ n-6</i>	5,1 ± 0,0 ^{de}	5,3 ± 0,2 ^{ef}	5,0 ± 0,1 ^d	4,0 ± 0,0 ^a	4,1 ± 0,1 ^{ab}	4,6 ± 0,0 ^c	5,0 ± 0,0 ^d	4,4 ± 0,0 ^{bc}	4,5 ± 0,0 ^c	4,5 ± 0,0 ^c	5,0 ± 0,1 ^d	5,5 ± 0,1 ^f
<i>n-3/n-6</i>	9,1	6,4	7,2	7,7	7,2	7,7	10,2	10,7	10,9	12,6	11,9	11,1
<i>AI²</i>	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>TI³</i>	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Na mesma linha, as diferentes letras representam médias aritméticas significativamente diferentes ($p < 0,05$). A soma destes valores não atinge os 100% porque os ácidos gordos em minoria não estão aqui reportados.

¹ND- não detetados.

Tabela 4.3. Variação sazonal do perfil de ácidos gordos na cavala na parte edível, expressos mg/100g ww.

	Mar/19	Abr/19	Mai/19	Jun/19	Jul/19	Ago/19	Set/19	Out/19	Nov/19	Dez/19	Jan/20	Fev/20
<i>14:0</i>	41,4 ± 3,2 ^{b,c}	28,7 ± 0,0 ^b	51,1 ± 0,4 ^{c,d}	188,5 ± 5,5 ^h	194,4 ± 1,4 ^h	127,3 ± 0,9 ^g	66,7 ± 0,7 ^e	102,6 ± 6,6 ^f	56,8 ± 6,6 ^{d,e}	34,3 ± 0,4 ^b	15,3 ± 1,9 ^a	9,5 ± 0,9 ^a
<i>16:0</i>	333,9 ± 17,8 ^{b,c}	248,5 ± 1,4 ^b	349,1 ± 1,9 ^{b,c}	1075,1 ± 1,7 ^f	1280,0 ± 5,6 ^g	667,2 ± 3,2 ^d	707,0 ± 19,8 ^d	950,8 ± 39,6 ^e	759,9 ± 82,2 ^d	367,2 ± 9,2 ^c	111,5 ± 8,9 ^a	85,9 ± 4,1 ^a
<i>18:0</i>	188,9 ± 5,1 ^b	162,3 ± 1,0 ^b	169,0 ± 0,4 ^b	345,0 ± 0,6 ^e	423,6 ± 2,4 ^f	246,6 ± 1,1 ^c	465,1 ± 0,3 ^g	507,4 ± 8,9 ^h	527,8 ± 20,5 ^h	293,8 ± 9,9 ^d	83,8 ± 1,8 ^a	59,7 ± 1,4 ^a
Σ SFA	644,1 ± 27,0 ^{b,c}	497,9 ± 3,3 ^b	645,3 ± 2,8 ^{b,c}	1776,1 ± 6,8 ^f	2094,9 ± 7,4 ^g	1184,9 ± 6,3 ^d	1485,9 ± 23,7 ^e	1755,9 ± 42,6 ^f	1510,4 ± 118,6 ^e	790,1 ± 20,6 ^c	242,5 ± 13,3 ^a	178,7 ± 6,5 ^a
<i>16:1 n-9</i>	6,0 ± 0,2 ^{a,b,c}	ND ¹	ND	ND	ND	ND	7,4 ± 0,1 ^{a,b}	21,5 ± 14,5 ^{c,d}	21,0 ± 1,5 ^{b,c,d}	10,0 ± 0,4 ^{a,b,c}	4,1 ± 0,7 ^{a,b,c}	2,6 ± 0,4 ^a
<i>16:1 n-7</i>	65,3 ± 3,5 ^c	35,9 ± 0,0 ^b	66,3 ± 0,2 ^e	294,4 ± 1,1 ^h	315,1 ± 0,6 ^h	189,4 ± 0,1 ^f	249,8 ± 7,9 ^g	218,3 ± 4,8 ^e	146,5 ± 16,4 ^d	66,6 ± 0,8 ^c	20,3 ± 1,9 ^b	9,8 ± 0,5 ^{a,b}
<i>18:1 n-9</i>	264,0 ± 3,3 ^b	239,3 ± 0,6 ^b	239,9 ± 0,5 ^b	739,6 ± 1,1 ^d	1033,7 ± 0,6 ^e	420,2 ± 2,3 ^c	764,4 ± 11,6 ^d	1355,6 ± 35,5 ^f	1523,1 ± 73,7 ^g	817,1 ± 9,0 ^d	102,2 ± 3,9 ^a	54,1 ± 0,5 ^a
<i>18:1 n-7</i>	86,0 ± 1,3 ^d	61,6 ± 0,1 ^c	54,0 ± 0,1 ^c	193,4 ± 0,4 ^f	251,4 ± 1,1 ^g	106,2 ± 0,4 ^e	296,5 ± 2,2 ^h	339,3 ± 5,6 ⁱ	324,5 ± 11,9 ⁱ	184,5 ± 0,1 ^f	38,0 ± 1,5 ^b	22,4 ± 0,6 ^a
<i>20:1 n-9</i>	43,1 ± 0,6 ^c	38,4 ± 0,1 ^{b,c}	33,5 ± 0,1 ^b	155,3 ± 0,0 ^e	150,7 ± 1,2 ^e	56,1 ± 0,0 ^d	354,9 ± 0,7 ⁱ	233,9 ± 0,9 ^g	275,7 ± 6,2 ^h	198,0 ± 2,1 ^f	36,1 ± 0,7 ^{b,c}	15,5 ± 0,6 ^a
<i>22:1 n-11</i>	36,6 ± 1,1 ^b	18,0 ± 0,4 ^{a,b}	12,0 ± 0,1 ^a	206,4 ± 1,8 ^f	102,0 ± 0,4 ^d	21,2 ± 0,1 ^{a,b}	638,1 ± 17,2 ^g	155,4 ± 5,5 ^e	165,7 ± 9,7 ^e	173,9 ± 2,9 ^e	62,5 ± 1,5 ^c	23,8 ± 0,3 ^{a,b}
Σ MUFA	537,8 ± 5,9 ^d	436,5 ± 0,0 ^{b,c}	452,9 ± 0,3 ^{c,d}	1713,2 ± 1,4 ^f	1971,3 ± 1,3 ^g	867,6 ± 0,2 ^e	2532,1 ± 0,9 ^{h,i}	2478,1 ± 40,6 ^h	2608,6 ± 74,2 ⁱ	1649,5 ± 18,7 ^f	344,1 ± 4,1 ^b	171,4 ± 1,0 ^a
<i>18:2 n-6</i>	37,1 ± 0,9 ^c	21,8 ± 0,2 ^b	27,8 ± 0,1 ^b	68,4 ± 0,1 ^e	83,5 ± 1,6 ^f	47,8 ± 0,2 ^d	95,6 ± 0,1 ^g	117,4 ± 1,8 ^h	115,5 ± 5,3 ^h	67,3 ± 1,6 ^e	14,4 ± 0,0 ^a	9,8 ± 0,5 ^a
<i>18:3 n-3</i>	32,6 ± 0,8 ^c	10,4 ± 0,2 ^a	21,6 ± 0,1 ^b	43,0 ± 1,2 ^{d,e}	52,7 ± 3,8 ^f	35,5 ± 0,3 ^{c,d}	79,9 ± 5,9 ^g	101,1 ± 2,0 ^h	85,7 ± 2,4 ^g	50,7 ± 1,0 ^{e,f}	7,6 ± 1,2 ^a	5,2 ± 0,1 ^a
<i>18:4 n-3</i>	52,8 ± 0,8 ^b	14,7 ± 0,0 ^a	45,6 ± 0,1 ^b	84,9 ± 0,5 ^c	85,3 ± 0,2 ^c	84,4 ± 0,6 ^c	175,2 ± 1,4 ^e	183,4 ± 3,5 ^e	142,7 ± 6,7 ^d	84,5 ± 1,9 ^c	13,6 ± 1,2 ^a	7,6 ± 0,1 ^a
<i>20:4 n-6</i>	41,5 ± 0,5 ^c	30,1 ± 0,0 ^b	27,1 ± 0,3 ^b	76,3 ± 0,0 ^e	91,0 ± 0,1 ^f	48,5 ± 0,3 ^d	181,3 ± 2,0 ⁱ	149,1 ± 1,5 ^h	147,6 ± 3,6 ^h	99,9 ± 0,2 ^g	26,6 ± 0,2 ^b	20,5 ± 0,1 ^a
<i>20:5 n-3</i>	255,4 ± 2,3 ^d	116,1 ± 0,1 ^b	161,7 ± 0,9 ^c	544,8 ± 0,7 ^f	689,8 ± 4,4 ^g	339,9 ± 0,2 ^e	1534,5 ± 12,3 _k	1451,3 ± 17,6 ⁱ	1339,2 ± 20,2 ⁱ	894,0 ± 12,1 ^h	145,8 ± 0,7 ^{b,c}	73,2 ± 0,1 ^a
<i>22:5 n-6</i>	22,8 ± 0,1 ^b	18,7 ± 2,0 ^{a,b}	22,8 ± 0,9 ^b	37,6 ± 0,7 ^c	37,9 ± 0,8 ^c	34,4 ± 0,9 ^c	79,2 ± 1,2 ^f	47,5 ± 2,4 ^d	54,7 ± 3,5 ^e	52,2 ± 0,7 ^{d,e}	21,6 ± 0,2 ^{a,b}	16,6 ± 0,0 ^a
<i>22:5 n-3</i>	65,3 ± 2,5 ^c	37,0 ± 0,4 ^{a,b}	31,8 ± 0,2 ^a	103,7 ± 0,5 ^d	119,5 ± 0,9 ^d	62,6 ± 0,6 ^{b,c}	364,1 ± 9,6 ^g	290,7 ± 9,7 ^e	327,7 ± 20,0 ^f	292,0 ± 0,2 ^e	70,5 ± 1,7 ^c	36,4 ± 0,0 ^{a,b}
<i>22:6 n-3</i>	717,7 ± 26,2 ^c	349,9 ± 2,5 ^a	427,6 ± 3,2 ^a	869,2 ± 3,4 ^c	896,4 ± 1,1 ^c	716,5 ± 10,0 ^{b,c}	2473,8 ± 70,0 ^f	2024,4 ± 70,7 ^d	2302,7 ± 147,8 ^{e,f}	2112,7 ± 14,0 ^{d,e}	740,5 ± 7,0 ^e	519,8 ± 9,1 ^{a,b}
Σ PUFA	1310,1 ± 31,0 ^{b,c}	642,5 ± 0,0 ^a	828,7 ± 2,3 ^a	1992,9 ± 2,0 ^d	2235,8 ± 3,8 ^d	1497,2 ± 9,6 ^c	5352,6 ± 82,4 _g	4690,2 ± 90,3 ^f	4820,1 ± 180,8 ^f	3864,9 ± 27,8 ^e	1093,6 ± 16,3 ^b	716,0 ± 10,4 ^a
Σ n-3	1171,8 ± 30,4 ^{b,c}	550,8 ± 2,4 ^a	721,1 ± 4,3 ^a	1733,3 ± 1,3 ^d	1930,8 ± 1,3 ^d	1306,4 ± 8,7 ^c	4834,6 ± 86,5 _g	4245,4 ± 90,7 ^f	4380,8 ± 182,0 _f	3560,9 ± 3,0 ^e	1002,1 ± 10,9 ^b	654,1 ± 9,7 ^a
Σ n-6	128,9 ± 0,5 ^d	86,5 ± 2,5 ^b	100,4 ± 2,0 ^c	226,2 ± 1,0 ^f	268,0 ± 3,7 ^g	168,8 ± 1,1 ^e	475,1 ± 3,1 ^j	396,8 ± 1,5 ⁱ	400,8 ± 1,8 ⁱ	285,6 ± 1,4 ^h	84,1 ± 1,5 ^b	59,1 ± 1,1 ^a
n-3/n-6	9,1	6,4	7,2	7,7	7,2	7,7	10,2	10,7	10,9	12,5	11,9	11,1

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Na mesma linha, as diferentes letras representam médias aritméticas significativamente diferentes ($p < 0,05$). A soma destes valores não atinge os 100% porque os ácidos gordos em minoria não estão aqui reportados. ND¹- não detetados.

Os resultados apresentados nas tabelas Tabela 4.2 e Tabela 4.3 demonstram uma grande variedade no perfil de ácidos gordos dos lípidos totais da cavala ao longo do ano.

A fração de lípidos saturados (SFA) é mais abundante entre os meses de março e agosto com 25,3 % (644,1 mg/100g) e 32,2 % (1184,9 mg/100g), respetivamente. De todos os SFA, o ácido palmítico (16:0) é o ácido gordo mais abundante nesta fração, seguido do ácido esteárico (18:0). Nos outros seis meses (setembro a fevereiro) a percentagem de SFA foi significativamente mais baixa que nos meses de março a agosto, sendo que variou entre 12,2 % (1485,9 mg/100g) em setembro e 19,5 % (1755,9 mg/100g) em outubro. Relativamente à fração de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), o mais abundante é o ácido oleico (18:1) mais especificamente o 18:1n-9, algo já reportado anteriormente para a cavala por Nogueira et al. (2013); Zotos and Vouzanidou (2012).

No entanto, o grupo dominante foi a fração de ácidos gordos polinsaturados (PUFA), que apresentou valores inferiores a 50 % entre abril e agosto, sendo que atinge um mínimo em julho e um máximo em maio, com 34,5 % (2235,8 mg/100g) e 41,4 % (828,7 mg/100g), respetivamente. Por outro lado, entre os meses de setembro a março, o conteúdo relativo significativo ($p < 0,05$) foi sempre superior a 50 %, entre março 51,5 % (1310,1 mg/100g) e fevereiro 66,9 % (716,0 mg/100g). Nesta fração, o DHA foi o ácido gordo mais abundância ao longo do ano sendo que o valor mais baixo foi detetado em julho 13,8 % (896,4 mg/100g) e o mais elevado em fevereiro de 48,6 % (519,8 mg/100g), seguido do EPA com valores entre 6,8 % (73,2 mg/100g) e 16,1 % (1534,5 mg/100g; 1451,3 mg/100g) em fevereiro e setembro e outubro, respetivamente.

O DHA é também o principal ácido gordo ao longo do ano, o que segundo Bandarra et al. (2001) será devido à alimentação desta espécie. A presença mais elevada deste ácido gordo em fevereiro, em que a percentagem de lípidos totais é a mais baixa (Figura 4.1B), sendo a cavala considerada magra neste mês, deve-se ao facto do DHA ser principalmente encontrado na fração fosfolipídica (PL) que desempenha um papel estrutural nas membranas celulares. Rainuzzo et al. (1997). Contudo, é nos meses de outono (setembro a dezembro) que o DHA apresenta um valor absoluto mais elevado. Neste sentido, como referido no capítulo 1.3, um consumo de pelo menos 250 mg/100g dia de DHA ajuda a prevenir doenças neurodegenerativas, sendo que estas quantidades se podem alterar por exemplo no caso da gravidez, sendo necessário uma dose maior. Hibbeln et al. (2007). Assim, os resultados obtidos indicam que seria necessário consumir cerca de 10 g (setembro) a 71 g (abril) de cavala por dia, dependendo do mês, para se obter a dose diária recomendada de DHA. A soma dos ácidos gordos EPA + DHA representa um total de 75 % do conteúdo relativo dos PUFA e 84 % dos n-3. A dose diária recomendada de EPA+ DHA é 500 mg/100g dia, o que segundo os resultados obtidos corresponderia a um consumo de cavala de cerca de 12 g (setembro) e de 107 g (abril) por dia, dependendo do mês do ano. Kris-Etherton et al. (2009).

Um parâmetro também importante é o elevado rácio n-3/n-6 PUFA uma vez que quando maior o rácio menor é o risco de doenças cardiovasculares e inflamatórias como referido no capítulo 1.3.5. No entanto, nos últimos anos com as novas dietas (dieta ocidental) tem aumentado o consumo de n-6 PUFA que está essencialmente presente nos peixes pré-fritos e nos óleos vegetais (essencialmente 18:2n-6) desequilibrando assim o rácio n-3/n-6 para 1:8 a 1:17. Strobel et al. (2012). Assim sendo, o pescado, mais especificamente a cavala, seria uma boa alternativa para equilibrar o rácio de n-3/n-6 PUFA, uma vez que aumentaria o consumo de n-3 PUFA de forma a atingir valores recomendados por nutricionistas. Simopoulos (2004).

Como foi referido no capítulo 1.3.5, o cálculo do AI e do TI é importante de forma a saber a influência positiva da cavala para a prevenção de doenças coronárias. Os resultados demonstram que os valores obtidos para a cavala para o AI variam entre 0,1 - 0,5 e o de TI entre 0,0 - 0,1. Estes valores são inferiores

quando comparados com outras espécies de peixes relatados por Bandarra et al. (2009); Łuczyńska et al. (2017) e estão entre os valores benéficos para a saúde humana.

4.2. Classes de lípidos

Após a extração de lípidos totais mensal, observou-se diferentes percentagens de gordura, sendo que para estudar as classes de lípidos, optou-se por escolher três meses em que estas variações fossem mais evidentes. A composição das classes de lípidos da cavala magra, meio-gorda e gorda é apresentada na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Composição das classes de lípidos (% lípidos totais) da cavala em diferentes meses do ano.

	Magra (março)	Meio-gorda (junho)	Gorda (outubro)
LT	2,9 ± 0,2 ^a	6,2 ± 0,4 ^b	9,8 ± 0,4 ^c
<u>Lípidos não polares¹</u>			
CH	6,3 ± 0,4 ^c	3,5 ± 0,1 ^b	2,3 ± 0,2 ^a
1,2 DAG	ND ³	ND	0,6 ± 0,2
FFA	ND	ND	6,4 ± 0,5
TAG	87,6 ± 0,6 ^b	92,1 ± 0,3 ^c	82,2 ± 0,8 ^a
<u>Lípidos polares²</u>			
PL	6,1 ± 0,3 ^b	4,4 ± 0,2 ^a	8,4 ± 0,9 ^c

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Na mesma linha, as diferentes letras representam médias aritméticas significativamente diferentes ($p < 0,05$)

CH¹– colesterol; DAG- diacilgliceróis; FFA- ácidos gordos livres; TAG- triacilgliceróis

PL² – fosfolípidos

ND³ – Não detetado

OS fosfolípidos (PL), o colesterol (CH) e os triacilgliceróis (TAG) foram as principais classes de lípidos identificadas, sendo que os ácidos gordos livres (FFA) e os diacilgliceróis (DAG) apenas estão presentes na cavala gorda, como mostra a Tabela 4.4.

Os compostos não polares apresentam-se em maior percentagem que os compostos polares, sendo os TAG os que contêm a maior percentagem. A percentagem de TAG é sempre superior a 80 % dos lípidos totais sendo que apresenta o seu máximo nas amostras de junho (meio-gorda) com 92,1 %. Através da literatura Bandarra et al. (1997) e recordando que nos peixes a energia é armazenada através da produção e deposição de TAG, uma vez que estes possuem funções energéticas, como por exemplo reserva de lípidos, era de esperar uma maior percentagem de TAG no mês de outubro uma vez que possui a maior percentagem de gordura, no entanto este facto não se verifica o que pode ser explicado através da presença de FFA e dos DAG, que não foram detetados nos outros meses. A presença de FFA e de DAG na cavala de outubro revela a possível hidrólise dos TAG. Os FFA em outubro representam 6,4 % do total de lípidos. Normalmente, os valores de FFA nos peixes são baixos, uma vez que quanto maior a percentagem de FFA pior a qualidade do peixe. As percentagens encontradas nas amostras de cavala

podem surgir da hidrólise dos TAG (presença de DAG) ou da hidrólise de PL. Bernardez et al. (205). Estas hidrólises podem ter ocorrido durante o processo de armazenagem.

Em relação aos esteróis, o CH foi o único detetado. Os valores diminuíram com o aumento do teor de gordura de 6,3 % para 2,3 %, em março e outubro, respetivamente. Estas percentagens estão acima dos valores reportados para outros trabalhos com a cavala por Nogueira et al. (2013); Zotos and Vouzanidou (2012), mas, no entanto, estes valores podem advir de uma quantificação por excesso do CH, uma vez que a mistura de eluição não permitia uma separação nítida do CH de outras estruturas como 1,2 DAG ou 1,3 DAG, assim como para o método de quantificação utilizado, os valores destas estruturas estavam abaixo do limite de quantificação.

O conteúdo relativo dos PL variam menos que os TAG, e apresentam o valor mais alto (8,4 %) em outubro (cavala gorda). É possível observar uma quebra na percentagem de PL depois de março. Este facto pode sugerir a utilização de alguns lípidos estruturais, além dos TAG, no processo de reprodução da cavala. Esta redução de PL no inverno foi também reportada por Colaço et al. (2009) para os mexilhões, devido à escassez de alimento e à reprodução.

4.3. Composição de ácidos gordos polares e não polares

A composição de ácidos gordos presentes na fração polar (PL) e não polar (TAG) para a primavera (cavala magra), verão (meio gorda) e outono (gorda) é comparada na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 Variações sazonais do perfil de ácidos gordos nos lípidos polares e não polares da cavala magra, meio-gorda e gorda. ((conteúdo relativo (% ácidos gordos totais)).

	Cavala magra		Cavala meio gorda		Cavala gorda	
	Março		Junho		Outubro	
	PL	TAG	PL	TAG	PL	TAG
14:0	0,1 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,0 ^A	0,1 ± 0,0 ^a	1,4 ± 0,3 ^A	0,2 ± 0,0 ^b	3,0 ± 0,2 ^B
16:0	6,7 ± 0,3 ^a	9,8 ± 0,0 ^A	7,8 ± 0,5 ^b	13,2 ± 1,7 ^B	7,9 ± 0,4 ^b	19,1 ± 0,4 ^C
18:0	8,4 ± 0,1 ^a	6,5 ± 0,1 ^C	9,0 ± 0,3 ^a	5,5 ± 0,1 ^A	8,8 ± 0,3 ^a	5,7 ± 0,0 ^B
ΣSFA	16,5 ± 0,4 ^a	20,9 ± 0,3 ^A	18,5 ± 1,0 ^b	22,3 ± 2,2 ^A	18,4 ± 0,3 ^b	30,3 ± 0,6 ^B
16:1 n-9	0,1 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,0 ^A	0,1 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,1 ^B	0,1 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^B
16:1 n-7	0,3 ± 0,0 ^a	1,9 ± 0,0 ^A	0,4 ± 0,0 ^b	3,2 ± 0,5 ^B	0,4 ± 0,1 ^b	4,6 ± 0,1 ^C
18:1 n-9	3,9 ± 0,2 ^a	12,7 ± 0,1 ^A	4,1 ± 0,2 ^a	14,3 ± 0,6 ^B	4,8 ± 0,3 ^b	18,3 ± 0,2 ^C
18:1 n-7	2,4 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,0 ^A	2,5 ± 0,2 ^a	3,5 ± 0,1 ^A	2,7 ± 0,1 ^a	4,2 ± 0,0 ^B
20:1 n-9	0,5 ± 0,0 ^a	3,1 ± 0,1 ^B	0,9 ± 0,0 ^b	3,8 ± 0,2 ^C	0,8 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,0 ^A
22:1 n-11	0,1 ± 0,0 ^a	3,6 ± 0,2 ^B	0,4 ± 0,0 ^b	5,6 ± 0,7 ^C	0,4 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,0 ^A
ΣMUFA	7,5 ± 0,4 ^a	28,8 ± 0,7 ^A	10,6 ± 0,5 ^b	33,9 ± 0,0 ^C	11,6 ± 1,3 ^b	32,3 ± 0,3 ^B
18:2 n-6	0,8 ± 0,0 ^b	1,4 ± 0,0 ^B	0,7 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,1 ^A	0,8 ± 0,0 ^b	1,5 ± 0,0 ^B
18:3 n-3	0,5 ± 0,0 ^b	1,2 ± 0,1 ^B	0,3 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,0 ^A	0,4 ± 0,0 ^b	1,3 ± 0,0 ^B
18:4 n-3	0,3 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,2 ^B	0,1 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,1 ^A	0,3 ± 0,1 ^b	2,4 ± 0,1 ^B
20:4 n-6	2,2 ± 0,0 ^{ab}	1,5 ± 0,0 ^B	2,4 ± 0,0 ^b	1,5 ± 0,1 ^B	2,2 ± 0,1 ^a	1,2 ± 0,0 ^A
20:5 n-3	9,6 ± 0,5 ^a	10,4 ± 0,6 ^A	9,7 ± 0,1 ^a	12,7 ± 0,5 ^B	11,8 ± 0,5 ^b	12,5 ± 0,4 ^B
22:5 n-6	1,6 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,1 ^C	1,7 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,1 ^B	1,8 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,0 ^A
22:5 n-3	2,7 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,0 ^C	3,0 ± 0,1 ^b	2,6 ± 0,2 ^B	3,3 ± 0,0 ^c	1,9 ± 0,1 ^A
22:6 n-3	55,1 ± 0,8 ^c	24,0 ± 0,4 ^C	50,1 ± 1,4 ^b	19,1 ± 1,8 ^B	45,2 ± 2,0 ^a	11,9 ± 0,5 ^A
ΣPUFA	74,5 ± 0,5 ^b	49,1 ± 1,3 ^C	70,2 ± 1,5 ^a	43,3 ± 2,2 ^B	68,6 ± 1,7 ^a	36,6 ± 1,0 ^A
Σn-3	69,0 ± 0,5 ^b	43,3 ± 1,4 ^C	64,2 ± 1,6 ^a	38,5 ± 2,3 ^B	62,7 ± 1,7 ^a	31,8 ± 1,0 ^A
Σn-6	5,2 ± 0,0 ^a	5,0 ± 0,1 ^C	5,8 ± 0,1 ^b	4,1 ± 0,0 ^B	5,7 ± 0,3 ^b	3,7 ± 0,1 ^A

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma linha representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre ácidos gordos relativos (%) em lípidos polares em diferentes estações do ano. Letras maiúsculas na mesma linha representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre ácidos gordos relativos (%) entre lípidos não polares em diferentes estações do ano.

Os resultados mostram diferenças consideráveis na distribuição dos ácidos saturados, monoenóicos e polienóicos tanto na fração lipídica polar (PL) como na fração lipídica não polar (TAG). Em relação à fração PL, a quantidade de ácidos gordos insaturados é superior à detetada na fração TAG principalmente no que diz respeito aos ácidos gordos polienóicos, facto que está de acordo com a literatura para outras espécies marinhas. Bandarra et al. (2018); Bandarra et al. (2001). A fração PL apresenta uma predominância de PUFA sendo que corresponde a uma percentagem de 68,6 % e 74,5 % do total de ácidos gordos nessa fração, na cavala gorda e na cavala magra, respetivamente. O DHA, ácido gordo maioritário, representa cerca 66 % na cavala gorda e cerca de 74 % na cavala magra dos PUFA presentes nas amostras respetivas e em média o DHA contém 50 % do total de ácidos gordos dos

três meses e 70 % do total de PUFA presentes nos mesmos três meses. Estes conteúdos relativos elevados devem-se ao facto de o DHA desempenhar um papel fundamental nos lípidos estruturais da membrana e também representar uma fonte de energia metabólica para a reprodução. Hishikawa et al. (2017); Huynh et al. (2007). Por outro lado, não são observadas grandes diferenças nas percentagens de EPA comparando ambas as frações (PL e TAG). Assim a distribuição varia em média 3 % sendo, no entanto, sempre superior nos TAG. O EPA apresenta um aumento da primavera para o outono de 10,4 % e 12,7 %, respetivamente.

Em relação aos ácidos monoénicos, observa-se uma percentagem baixa, em que a cavala gorda apresenta um conteúdo relativo mais elevado. Estes factos, foram também observados por Bandarra et al. (2001) para o carapau (*Trachurus trachurus*). O grupo 18:1 é o principal contribuinte para as percentagens de MUFA tanto nos PL como nos TAG nas três estações do ano estudadas estando assim de acordo com dados obtidos por outros estudos. Bandarra et al. (1997); Bandarra et al. (2001). O 18:1 encontra-se em percentagens mais elevadas nos PL representado no mínimo 62 % do total de MUFA.

Os SFA e os MUFA apresentam sempre uma percentagem mais elevada na fração TAG. Em média, cerca de 58 % de SFA foram identificados na fração TAG, sendo que na fração PL esta percentagem foi de 42 %. Nos MUFA a percentagem foi superior a 76 % na fração TAG e apenas 24 % na fração PL. Segundo Colaço et al. (2009), as reservas lipídicas são constituídas maioritariamente por ácidos gordos saturados e monoinsaturados o que é congruente com os resultados apresentados, uma vez que a fração TAG que desempenha uma função energética apresenta maior quantidade de SFA e MUFA que a fração PL. Apenas o ácido esteárico (18:0) apresenta uma percentagem superior na fração PL do que na fração TAG. A percentagem de 18:0 é superior à percentagem de 16:0 na fração PL, contrariamente ao reportado para diversas espécies marinhas. Bandarra et al. (1997); Bandarra et al. (2001); Colaço et al. (2009). Na primavera (cavala magra), os PUFA são os ácidos gordos mais abundantes sendo que na fração TAG apresentam uma percentagem de 49,1 %. Como foi referido para a fração PL, também na fração TAG estes valores são devido aos níveis de DHA que representam nesta fração cerca de 49 % dos PUFA. No entanto, apresenta percentagens relativamente mais baixas do que na fração PL, de 24 % na cavala magra e 12 % na cavala gorda, enquanto na fração PL estes valores são de 55,1 % e 45,2 %, respetivamente. Os valores mais elevados de DHA para a fração PL estão em concordância com a principal função desempenhada por este ácido gordo (estrutural) assim como a sua maior afinidade para os PL do que para os TAG. Liu et al. (2014); Calder (2016).

Na fração TAG, os SFA e MUFA têm valores de 20,9 % e 28,8 %, para a cavala magra, respetivamente. Estas percentagens são relativamente mais baixas que os PUFA. Ao contrário do DHA que diminui os seus valores no outono (cavala gorda), no caso do ácido palmítico (16:0) e do ácido oleico (18:1n-9) há um aumento significativo ($p < 0,05$) entre os meses de primavera (cavala magra) e outono (cavala gorda) de 9,8 % para 19,1 % e de 12,7 % para 18,3 %, respetivamente. Estes factos, estão também descritos para outras espécies. Bandarra et al. (2001); Colaço et al. (2009). Na cavala gorda, as percentagens relativas de PUFA, MUFA e SFA na fração TAG são 36,6 %, 32,3 % e 30,3 %, pela mesma ordem. Como a fração TAG possui funções energéticas, é altamente influenciada pela disponibilidade de alimento. Assim a elevada presença de SFA e MUFA na fração TAG, que aumentam à medida que aumenta o teor de gordura, assim como uma presença equilibrada de EPA em ambas as frações representam um regime alimentar equilibrado em termos de SFA, MUFA e PUFA, em detrimento do zooplâncton que está associado a elevadas quantidades de EPA. Visentainer et al. (2007).

Assim comparando as frações TAG e PL, o aumento mensal dos SFA e MUFA é menos evidente nos PL, sendo o aumento máximo de 4 %, entre meses. Além disto, outros aspetos referentes à associação entre diferentes ácidos gordos nos TAG e o regime alimentar da cavala presentes nos resultados apresentados devem ser referidos. Por exemplo, ácidos gordos como os 16:1n-7 e 18:1n-9 estão

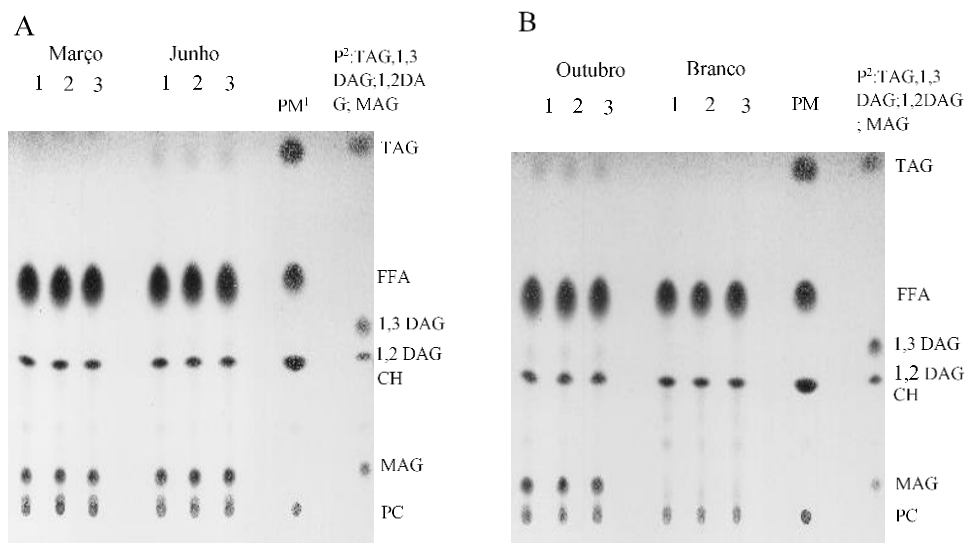
presentes em diatomáceas (algas), que fazem parte da alimentação da cavala, o que pode justificar a sua maior proporção na fração TAG, por possuir uma função energética. Dalsgaard et al. (2003). Nos PUFA, o 18:3n-3 e o 18:4n-3 são encontrados em maiores quantidades na fração TAG, representando em média 74 % e 90 % do total de ambas as frações, respetivamente. Estes valores podem resultar da ingestão de fitoplâncton, regularmente presente nestes ácidos gordos. Laakmann et al. (2009).

4.4. Determinação da composição lipídica na fração bioacessível

Para determinar a composição lipídica na fração bioacessível da cavala foi necessário inicialmente simular *in vitro* o processo de digestão gastrointestinal no ser humano. Este processo pretendia determinar qual a bioacessibilidade dos lípidos da cavala (capítulo 4.1) que após a digestão se encontra bioacessível. Este processo foi realizado para os meses de março, junho e outubro.

4.6.1. Identificação das classes de lípidos na fração bioacessível

A Figura 4.3 evidencia a distribuição das diferentes classes de lípidos na fração bioacessível nos meses de março, junho e outubro.



PM¹- Padrão misto

P² (Padrão) – TAG (triacilglicerol); FFA (ácidos gordos livres); 1,3 DAG e 1,2 DAG (diacilglicerol); CH (colesterol); MAG (monoacilglicerol); PC (fosfatidilcolina)

Figura 4.3 A) TLC da fração bioacessível de março e junho. B) TLC da fração bioacessível de outubro e do controlo (branco)

É possível verificar que os FFA são a fração dominante após a digestão e que acontece a hidrólise total dos TAG principalmente no mês de março uma vez que representa a cavala magra onde a quantidade de TAG inicial é significativamente menor e quase total nos meses de junho (meio-gorda) e outubro (gorda), e por consequência fora do limite de deteção do aparelho. Contrariamente ao verificado na amostra inicial (Tabela 4.4), a fração bioacessível apresenta MAG e 1,2 DAG, este facto deve-se à hidrólise dos TAG que na amostra inicial não se verifica. A Tabela 4.6 apresenta a percentagem total de lípidos na fração bioacessível, provenientes da digestão *in vitro* da parte edível da cavala.

Tabela 4.6 Comparação da composição das classes de lípidos (% lípidos totais) inicial da cavala com a fração bioacessível em diferentes meses do ano.

	Magra (março)		Meio-gorda (junho)		Gorda (outubro)	
	Inicial	Pós-digestão	Inicial	Pós-Digestão	Inicial	Pós-digestão
	<u>Lípidos não polares¹</u>					
CH + 1,2 DAG	6,3±0,4 ^c	12,3 ± 0,8 ^A	3,5±0,1 ^b	12,2 ± 0,1 ^A	2,3±0,2 ^a	13,3 ± 0,5 ^A
1,2 DAG	ND ³	-	ND	-	0,6±0,2	-
MAG	ND	9,8 ± 0,6 ^A	ND	11,6 ± 0,6 ^{A,B}	ND	12,7 ± 1,2 ^B
FFA	ND	67,2 ± 1,6 ^A	ND	66,1 ± 0,4 ^A	6,4±0,5	65,8 ± 1,7 ^A
TAG	87,6±0,6 ^b	ND	92,1±0,3 ^c	ND	82,2±0,8 ^a	ND
<u>Lípidos polares²</u>						
PL	6,1±0,3 ^b	10,8 ± 0,9 ^B	4,4±0,2 ^a	10,1 ± 0,4 ^{A,B}	8,4±0,9 ^c	8,1±1,3 ^A

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma linha, representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras maiúsculas na mesma linha representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$).

CH¹-colesterol; DAG-diacilglicerol; FFA- ácidos gordos livres; MAG - monoacilglicerol

PL²-fosfolípidos

ND³ – Não detetado

Como é possível observar tanto pela Figura 4.3 como pela Tabela 4.6, após a digestão não há a presença de TAG em nenhum dos meses, uma vez que foram, hidrolisados em FFA, DAG e MAG. Assim, a presença de MAG acontece apenas na fração bioacessível uma vez que ocorre a hidrólise dos TAG e os ácidos gordos nas posições sn-1 e sn-3 são mais facilmente hidrolisados pela enzima lípase pancreática. Não tendo sido possível obter uma separação entre CH e 1,2 DAG, é possível, no entanto verificar que a presença de MAG é superior à presença de CH + 1,2 DAG, o que comprova que as posições sn-1 e sn-3 são hidrolisadas com maior facilidade. Os MAG atingiram o seu máximo no mês da cavala mais gorda (12,7 %), ou seja, onde esta apresenta as maiores reservas lipídicas (outubro) e o mínimo em março (9,8 %). Em contraste, os PL têm o seu valor mais elevado em março com 10,8 % e o seu valor mínimo em outubro com 8,1%. É possível observar pela Figura 4.3 que o controlo (branco), apresenta também duas manchas o que explica o aumento dos PL após a digestão principalmente nos meses de março e junho, revelando que contêm produtos provenientes da digestão. Em relação aos FFA, comparando a amostra inicial com a fração bioacessível há um aumento significativo em todos os meses em relação à amostra inicial (antes da digestão), atingindo o máximo no mês de março (cavala magra) com 67,2 % e o mínimo no mês de outubro 65,8 % (cavala gorda). Estes valores, como foi explicado para a Tabela 4.4, são coerentes com o facto de haver na amostra inicial alguma hidrólise dos TAG sendo a percentagem de TAG menor do que era esperado e também como foi explicado para a hidrólise dos TAG não ser completa no mês de outubro. Este resultado também foi reportado por Garcia et al. (2019). Os FFA são a principal classe de lípidos na fração bioacessível. Este facto foi relatado também para o linguado por Afonso et al. (2017), sardinha em conserva, cavala em conserva por Garcia et al. (2019) e para o salmão por Costa et al. (2015). A identificação das classes de lípidos da fração bioacessível pretendia essencialmente comprovar que após o processo de digestão em todas as amostras

havia a hidrólise completa dos TAG, o que se verificou demonstrando assim que um resultado eficaz do modelo *in vitro* utilizado, como já tinha sido reportado por Gomes et al. (2019).

4.6.2. Perfil de ácidos gordos da fração bioacessível

Para posteriormente obter a quantidade de cada ácido gordo disponível para ser absorvido após a digestão foi necessário avaliar o perfil de ácidos gordos da fração bioacessível que é apresentado na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 Perfil de ácidos gordos da fração bioacessível da cavala, na parte edível, expressos em percentagem relativa (% dos ácidos gordos totais) e percentagem de lípidos totais bioacessível.

	Cavala magra	Cavala meio gorda	Cavala gorda
	Março	Junho	Outubro
<i>LT</i>	2,4	5,48	8,98
<i>16:0</i>	20,6 ± 0,1 ^b	19,5 ± 0,2 ^a	19,4 ± 0,0 ^a
<i>18:0</i>	9,9 ± 0,1 ^c	6,9 ± 0,0 ^b	5,8 ± 0,0 ^a
<i>19:0</i>	0,3 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^a
<i>20:0</i>	0,3 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^a
<i>22:0</i>	0,2 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a
Σ SFA	31,3 ± 0,2 ^c	27,1 ± 0,2 ^b	25,8 ± 0,0 ^a
<i>18:1 n-9</i>	15,9 ± 0,1 ^b	15,6 ± 0,0 ^a	17,8 ± 0,1 ^b
<i>18:1 n-7</i>	3,2 ± 0,0 ^a	3,4 ± 0,0 ^b	3,9 ± 0,0 ^c
<i>20:1 n-9</i>	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^a
<i>20:1 n-11</i>	1,3 ± 0,0 ^a	2,6 ± 0,0 ^c	1,8 ± 0,0 ^b
<i>20:1 n-7</i>	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^a
<i>22:1 n-11</i>	1,1 ± 0,0 ^b	3,4 ± 0,0 ^c	0,9 ± 0,0 ^a
Σ MUFA	22,0 ± 0,0 ^a	25,8 ± 0,1 ^c	25,0 ± 0,0 ^b
<i>18:2 n-6</i>	9,6 ± 0,1 ^c	5,0 ± 0,0 ^b	3,7 ± 0,0 ^a
<i>18:3 n-3</i>	1,1 ± 0,0 ^b	0,8 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,0 ^c
<i>18:4 n-3</i>	1,4 ± 0,0 ^b	1,2 ± 0,0 ^a	2,0 ± 0,1 ^c
<i>20:2 n-6</i>	0,3 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^a
<i>20:4 n-6</i>	3,7 ± 0,0 ^c	2,4 ± 0,0 ^b	1,8 ± 0,0 ^a
<i>20:5 n-3</i>	0,5 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^b	0,6 ± 0,1 ^b
<i>20:4 n-3</i>	5,2 ± 0,0 ^a	7,9 ± 0,1 ^b	10,6 ± 0,0 ^c
<i>22:4 n-6</i>	0,2 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a
<i>22:5 n-6</i>	0,4 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^a
<i>22:5 n-3</i>	1,5 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,0 ^a	1,8 ± 0,0 ^b

22:6 n-3	11,1 ± 0,0 ^b	11,9 ± 0,2 ^c	10,9 ± 0,0 ^a
Σ PUFA	35,1 ± 0,1 ^c	32,5 ± 0,3 ^a	33,4 ± 0,0 ^b
Σ n3	20,8 ± 0,1 ^a	24,0 ± 0,2 ^b	27,1 ± 0,0 ^c
Σ n6	14,3 ± 0,0 ^c	8,5 ± 0,0 ^b	6,3 ± 0,0 ^a
n-3/n-6	1,5	2,8	4,3

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Na mesma linha, as diferentes letras representam médias aritméticas significativamente diferentes ($p < 0,05$). A soma destes valores não atinge os 100% porque os ácidos gordos em minoria não estão aqui reportados.

Os valores de lípidos totais bioacessíveis (Tabela 4.7) em comparação com os valores de lípidos totais iniciais apresentadas na Tabela 4.4, demonstram uma percentagem superior a 85 % em todos os meses de LT que após o processo digestivo *in vitro* estão biodisponíveis para absorção. O mês de outubro apresenta a percentagem mais elevada com 93,0 % e o mês de março a mais baixa com 86,0 %.

A fração de SFA é mais representada no mês de março com 31,3 % e tem o seu mínimo no mês de outubro com 25,8 %. Claramente, entre os SFA o ácido palmítico (16:0) é o mais abundante seguido do ácido esteárico (18:0). No caso dos MUFA, o FA mais abundante é o ácido oleico (18:1n-9), sendo o FA maioritário, com o valor mais elevado em outubro de 17,8 %. Os PUFA apresentam os valores mais altos sendo que o DHA é o FA mais representado com o máximo em junho com 11,9 %.

Assim em comparação com o perfil de FA inicial, ou seja, antes da digestão (Tabela 4.2), a abundância relativa ($p < 0,05$) do SFA aumentou e tanto os MUFA como os PUFA diminuíram na fração bioacessível. O 16:0 e o 18:0 têm valores mais elevados na fração bioacessível do que na inicial, assim como o 18:1n-9. No caso do EPA e do DHA ambos apresentam uma percentagem muito inferior à observada na amostra inicial. Resultados concordantes foram referidos por Garcia et al. (2019) para a cavala em conserva. Comparando a soma de n-3 e n-6 há uma variação inversa em relação à amostra inicial, ou seja, há um aumento dos n-6 e uma diminuição considerável dos n-3 que influencia a razão n-3/n-6. Assim, há uma diminuição de 9,1 % para 1,5 % no mês de março e de 10,7 % para 4,3 % em outubro.

4.6.3. Bioacessibilidade de cada ácido gordo

Os valores calculados de bioacessibilidade para os FA dos meses de março, junho e outubro em mg/100g de parte edível são apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 Comparação do teor de ácidos gordos inicial e do teor de ácidos gordos disponíveis para ser absorvidos após a digestão em mg/100g ww de parte edível.

	Cavala magra		Cavala meio gorda		Cavala gorda	
	Março		Junho		Outubro	
	<i>Inicial</i>	<i>Após digestão</i>	<i>Inicial</i>	<i>Após digestão</i>	<i>Inicial</i>	<i>Após digestão</i>
16:0	333,9 ± 17,8 ^a	395,6 ± 21,1 ^A	1075,1 ± 1,7 ^c	842,7 ± 2,7 ^B	950,8 ± 39,6 ^b	950,8 ± 39,6 ^B
18:0	188,9 ± 5,1 ^a	142,7 ± 3,8 ^A	345,0 ± 0,6 ^b	215,5 ± 0,7 ^B	507,4 ± 8,9 ^c	318,2 ± 5,6 ^C
19:0	9,7 ± 0,1 ^a	7,8 ± 0,1 ^A	16,1 ± 0,0 ^b	12,8 ± 0,1 ^B	25,3 ± 0,8 ^c	19,0 ± 0,6 ^C
20:0	11,7 ± 0,2 ^a	10,1 ± 0,2 ^A	17,9 ± 0,1 ^b	15,5 ± 0,2 ^B	32,7 ± 0,3 ^c	18,9 ± 0,2 ^C
22:0	5,0 ± 0,0 ^a	2,6 ± 0,0 ^A	7,3 ± 0,1 ^b	3,7 ± 0,1 ^B	18,2 ± 0,7 ^c	6,2 ± 0,2 ^C
Σ SFA	644,1 ± 27,0 ^a	558,8 ± 24,8 ^A	1776,1 ± 6,8 ^b	1090,1 ± 1,7 ^B	1755,9 ± 42,6 ^b	1313,1 ± 45,3 ^C
18:1 n-9	264,0 ± 3,3 ^a	259,1 ± 3,2 ^A	739,6 ± 1,1 ^b	639,8 ± 2,0 ^B	1355,6 ± 35,5 ^c	1294,9 ± 33,9 ^C
18:1 n-7	86,0 ± 1,3 ^a	81,8 ± 1,2 ^A	193,4 ± 0,4 ^b	174,1 ± 0,8 ^B	339,3 ± 5,6 ^c	322,3 ± 5,3 ^C
20:1 n-9	43,1 ± 0,6 ^a	43,5 ± 0,7 ^A	155,3 ± 0,0 ^b	152,5 ± 0,0 ^B	233,9 ± 0,9 ^c	160,8 ± 0,6 ^C
20:1 n-11	6,4 ± 0,2 ^a	5,2 ± 0,2 ^A	17,1 ± 0,3 ^b	17,3 ± 0,6 ^C	21,3 ± 1,0 ^c	14,9 ± 0,7 ^B
20:1 n-7	10,4 ± 0,2 ^a	8,5 ± 0,1 ^A	20,1 ± 0,3 ^b	19,4 ± 0,5 ^B	38,6 ± 0,9 ^c	23,0 ± 0,5 ^C
22:1 n-11	36,6 ± 1,1 ^a	36,7 ± 1,1 ^A	206,4 ± 1,8 ^c	205,1 ± 3,6 ^C	155,4 ± 5,5 ^b	83,5 ± 2,9 ^B
Σ MUFA	537,8 ± 5,9 ^a	434,9 ± 2,3 ^A	1713,2 ± 1,4 ^b	1208,2 ± 1,0 ^B	2478,1 ± 40,6 ^c	1899,4 ± 36,9 ^C
18:2 n-6	37,1 ± 0,9 ^a	12,4 ± 0,3 ^B	68,4 ± 0,1 ^b	0,0 ± 0,0 ^A	117,4 ± 1,8 ^c	0,0 ± 0,0 ^A
18:3 n-3	32,6 ± 0,8 ^a	30,5 ± 0,7 ^A	43,0 ± 1,2 ^b	39,1 ± 2,1 ^B	101,1 ± 2,0 ^c	100,8 ± 2,0 ^C
18:4 n-3	52,8 ± 0,8 ^a	48,5 ± 0,8 ^A	84,9 ± 0,5 ^b	72,3 ± 0,9 ^B	183,4 ± 3,5 ^c	180,7 ± 3,4 ^C
20:2 n-6	9,2 ± 0,8 ^a	9,9 ± 0,9 ^A	17,5 ± 0,0 ^b	17,4 ± 0,1 ^B	28,7 ± 0,6 ^c	24,8 ± 0,5 ^C

<i>20:4 n-6</i>	41,5 ± 0,5 ^a	10,7 ± 0,1 ^A	76,3 ± 0,0 ^b	26,5 ± 0,0 ^B	149,1 ± 1,5 ^c	43,1 ± 0,4 ^C
<i>20:5 n-3</i>	255,4 ± 2,3 ^a	177,0 ± 1,6 ^A	544,8 ± 0,7 ^b	467,6 ± 1,1 ^B	1451,3 ± 17,6 ^c	941,9 ± 11,4 ^C
<i>20:4 n-3</i>	22,6 ± 0,4 ^a	16,0 ± 0,3 ^A	35,0 ± 0,3 ^b	35,9 ± 0,7 ^B	84,2 ± 1,1 ^c	55,0 ± 0,7 ^C
<i>22:4 n-6</i>	10,3 ± 0,6 ^a	1,7 ± 0,1 ^A	11,0 ± 0,0 ^a	8,2 ± 0,0 ^B	30,7 ± 1,5 ^b	11,1 ± 0,6 ^C
<i>22:5 n-6</i>	22,8 ± 0,1 ^a	13,9 ± 0,0 ^A	37,6 ± 0,7 ^b	22,9 ± 0,9 ^B	47,5 ± 2,4 ^c	24,1 ± 1,2 ^B
<i>22:5 n-3</i>	65,3 ± 2,5 ^a	42,1 ± 1,6 ^A	103,7 ± 0,5 ^b	84,5 ± 0,8 ^B	290,7 ± 9,7 ^c	148,9 ± 5,0 ^C
<i>22:6 n-3</i>	717,7 ± 26,2 ^a	380,6 ± 13,9 ^A	869,2 ± 3,4 ^a	702,8 ± 5,5 ^B	2024,4 ± 70,7 ^b	965,6 ± 33,7 ^C
<i>Σ PUFA</i>	1310,1 ± 31,0 ^a	743,2 ± 16,7 ^A	1992,9 ± 2,0 ^b	1477,3 ± 2,4 ^B	4690,2 ± 90,3 ^c	2495,9 ± 47,2 ^C
<i>Σ n-3</i>	1171,8 ± 30,4 ^a	694,6 ± 15,9 ^A	1733,3 ± 1,3 ^b	1402,3 ± 1,5 ^B	4245,4 ± 90,7 ^c	2392,9 ± 45,5 ^C
<i>Σ n-6</i>	128,9 ± 0,5 ^a	48,5 ± 0,8 ^A	226,2 ± 1,0 ^b	75,0 ± 0,9 ^B	396,8 ± 1,5 ^c	103,0 ± 1,7 ^C
<i>n-3/n-6</i>	14,4	14,2	18,8	18,5	23,3	23,2

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma linha representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre ácidos gordos relativos (%) em diferentes estações do ano. Letras maiúsculas na mesma linha representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre ácidos gordos relativos (%) em diferentes estações do ano.

Em geral, todos os FA têm uma bioacessibilidade superior a 50 %, no entanto de uma forma geral quase todos têm uma menor disponibilidade para absorção do organismo (após a digestão) do que o conteúdo inicial apresentado. No entanto, há diferenças entre ácidos gordos e entre frações, sendo que os MUFA contêm os valores mais elevados de bioacessibilidade. Tendo em conta os principais SFA, é possível observar pela Tabela 4.8 que o ácido palmítico (16:0) teve uma bioacessibilidade total ou quase total. No caso do mês de março, a percentagem bioacessível foi ligeiramente superior a 100 %, no entanto, este modelo considera um erro de 20 % para amostras biológicas, uma vez que não se efetua um balanço de massas. Apesar de ser um valor que levanta algumas dúvidas situa-se dentro do erro plausível de um máximo de 120 %. Para o ácido esteárico (18:0) a bioacessibilidade manteve-se entre os 62,4 % e os 76,6 % sendo que o valor mais elevado é referente ao mês de março. Para o SFA após a digestão obteve-se um valor de 558,8 mg/100g que corresponde a um total de 85,8 % de bioacessibilidade em março e o mínimo em junho com 61,4 %. Estes valores estão de acordo com a literatura e com o relatado para a cavala em conserva. Garcia et al. (2019).

Os MUFA apresentam todos uma bioacessibilidade elevada, sendo que o ácido oleico apresenta valores compreendidos entre os 86,4 % (639,8 mg/100g) e os 98,1 % (259,1 mg/100g). O EPA e o DHA apresentam valores de bioacessibilidade entre 64,9 % (941,9 mg/100g) em outubro e os 85,8 % (467,6 mg/100g) em junho para o EPA e 47,7 % (965,6 mg/100g) e 81,1 % (702,8 mg/100g) em outubro e junho, respetivamente, para o DHA.

Os PUFA apresentam uma percentagem de bioacessibilidade entre 74,1% (1477,3 mg/100g) e 53,2 % (2495,9 mg/100g), referentes aos meses de junho e outubro, respetivamente. Comparando com os valores dos SFA, os PUFA em média têm uma diferença de 18 % de bioacessibilidade o que pode indicar que os SFA estão mais disponíveis para a absorção intestinal que os PUFA. Tendo em conta a bioacessibilidade dos MUFA (70,5 % - 80,9 %) a bioacessibilidade é superior em FA mais saturados. Este facto está de acordo com o verificado para o salmão. Costa et al. (2015) .Por norma, para cadeias com o mesmo número de átomos de carbono, quanto maior o nível de insaturação (mais duplas ligações) menor a percentagem de bioacessibilidade uma vez que as lípases são menos eficazes na hidrólise de FA mais insaturados e com um maior impedimento estereoquímico. Por exemplo, a bioacessibilidade dos 20:1 é maior do que a bioacessibilidade do EPA (20:5 n-3) em todos os meses. A bioacessibilidade também diminui com o aumento de ligações duplas, assim o EPA tem em média uma bioacessibilidade 13 % superior à bioacessibilidade do DHA (22:6 n-3). Outra explicação para este dois factos é que a lípase pancreática hidrolisa preferencialmente FA que possuam as insaturações mais afastadas do éster. Estas observações foram também reportadas para o salmão (Costa et al. (2015)) para a cavala e sardinha em conserva (Garcia et al. (2019) e para três amostras distintas de peixe (Gomes et al. (2019)).

A baixa bioacessibilidade do EPA e do DHA pode estar associada também ao facto destes dois FA estarem ligados à posição sn-2 dos TAG, o que dificulta a ação das lípases, tornando as posições sn-1 e sn-3, que são ocupadas por FA de cadeia curta ou média, que são mais facilmente hidrolisáveis.

Apesar das diferenças de bioacessibilidade entre FA as quantidades finais de DHA disponíveis para absorção após a digestão para o mês de março (380,6 mg/100g), junho (702,8 mg /100g) e outubro (965,6 mg/100g) são suficientes para consumir as 250 mg/100g diárias que são recomendadas para um efeito neuroprotector, prevenção de doenças cardiovasculares e para processos anti-inflamatórios. Assim, no caso do mês de março, em que a ingestão de cavala teria de ser a maior apenas era necessário consumir 66 g por dia para se obter as 250 mg/100g dia, sendo que em outubro consumir apenas 26 g/dia da parte edível da cavala seria necessário para obter o DHA necessário.

Para o EPA + DHA é recomendado um consumo de 500 mg/100g dia em conjunto destes dois FA. No mês de março seria necessário ingerir cerca de 126 g/dia, no mês de junho 68 g/dia e em outubro cerca de 50 g/dia seriam suficientes para fornecer ao organismo a quantidade necessário de DHA + EPA.

5. Conclusão

A prevenção do declínio cognitivo na população em geral, e em especial na população idosa tornou-se uma preocupação a nível mundial. O pescado, tem revelado através da literatura científica a sua importância no retardamento de doenças como a Alzheimer. No caso da cavala diversas características abordadas neste trabalho mostram a sua mais-valia para uma alimentação mentalmente saudável.

A composição química e o teor de gordura variam ao longo do ano, como consequência dos ciclos biológicos, consumo de energia e do regime alimentar da cavala. No perfil de ácidos gordos, os SFA e os PUFA foram as frações que mais variaram, sendo que o máximo dos SFA foi entre abril e agosto e no caso dos PUFA foi entre setembro e março. Nos MUFA, o 18:1 foi o FA mais afetado pelas variações de gordura ao longo do ano. Os dados obtidos permitem afirmar que a cavala é um peixe rico em n-3 PUFA, em especial em DHA e EPA. Os valores indicam que a cavala pode fornecer as quantidades necessárias dos FA, concedendo múltiplos benefícios para a saúde, nomeadamente na prevenção de doenças cardiovasculares, da AD, na neuroprotecção, nos processos anti-inflamatórios, assim como para um bom funcionamento cerebral. A avaliação da bioacessibilidade tornou possível uma melhor percepção deste facto, após a simulação *in vitro* da quantidade de cada ácido gordo que fica disponível para absorção no corpo humano, após a digestão. A TLC analítica permitiu observar a ausência dos TAG na fração bioacessível e comprovar a eficácia do modelo digestivo.

O ácido palmítico e os SFA apresentam a maior percentagem bioacessível em relação a todos os outros FA. Em relação à bioacessibilidade, de uma forma geral todos os FA apresentam uma bioacessibilidade superior a 50 %. Os SFA e os MUFA mostraram ser mais bioacessíveis para a absorção intestinal do que os PUFA. Assim os resultados suportam a redução da bioacessibilidade para valores mais elevados de insaturação de ácidos gordos. Em comparação com a amostra inicial de cavala, após a bioacessibilidade a razão de n-3/n-6 mantém-se elevada, e quanto mais elevada menor o risco de doenças cardiovasculares. Assim, no caso específico do EPA e do DHA, apesar de a bioacessibilidade ser em norma inferior a 70 % exceto no mês de junho, as quantidades disponíveis para absorção são suficientes para consumir a DDR para estes FA contribuírem para um efeito neuroprotector, para a prevenção da AD e para a prevenção de doenças cardiovasculares, de 250 mg/100g dia de DHA e 500 mg/100g dia de EPA + DHA sendo que um consumo de cavala no caso do mês de março (magra) deveria ser de 66 g/dia de DHA e 126 g/dia de EPA + DHA.

A quantidade deste peixe pelágico disponível torna-o um recurso marinho sustentável. Tendo em conta os resultados obtidos, é importante continuar a realização deste estudo com o intuito de avaliar o impacto que o consumo de DHA e vitaminas do complexo B, em particular a B12 têm na manutenção de uma função neuronal saudável.

6. Perspetivas Futuras

Esta tese teve como intuito contribuir para o desenvolvimento de um projeto que tem como objetivo criar um produto nutracêutico que disponha de um elevado nível de bioacessibilidade para o DHA, vitamina B12 e vitamina B9, provenientes tanto da cavala como da quinoa.

Após a análise da bioacessibilidade da cavala os passos seguintes vão incluir a extração da vitamina B12 da cavala e a sua análise por LC-MS e a especificação do Selénio. Tendo em conta o grande aumento na população mundial da doença de Alzheimer o objetivo final deste trabalho será obter uma dose adequada do produto nutracêutico que possibilite o retardamento do aparecimento da doença. Neste sentido os próximos passos têm por base o uso de linhas celulares neuronais (SH-SY5Y) que são provenientes de neuroblasto humano e utilizadas em ensaios *in vitro*.

7. Referências

- Ackman, R. (1990). Seafood lipids and fatty acids. *Food Reviews International - FOOD REV INT*, 6, 617-646.
- Ackman, R. G., & Eaton, C. A. (1971). Mackerel Lipids and Fatty Acids. *Canadian Institute of Food Technology Journal*, 4(4), 169-174.
- Afonso, C., Cardoso, C., Freire, M., Silva, I. E., Linares, F., Villanueva, J. L. R., Valente, L. M. P., & Bandarra, N. M. (2017). The impact of alternative dietary lipids on the in vitro bioaccessibility of sole fillets for human consumption. *Aquaculture*, 474, 66-74.
- Afonso, C., Costa, S., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Batista, I., Coelho, I., Castanheira, I., & Nunes, M. L. (2015). Evaluation of the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked farmed meagre based on the bioaccessibility of selenium, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, total mercury, and methylmercury determined by an in vitro digestion model. *Food Chem*, 170, 249-256.
- Afonso, C., Lourenco, H. M., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Carvalho, M. L., Castro, M., & Nunes, M. L. (2013). From fish chemical characterisation to the benefit-risk assessment--part A. *Food Chem*, 137(1-4), 99-107.
- Alashmali, S. M., Lin, L., Trépanier, M.-O., Cisbani, G., & Bazinet, R. P. (2019). The effects of n-6 polyunsaturated fatty acid deprivation on the inflammatory gene response to lipopolysaccharide in the mouse hippocampus. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 237.
- Allaya, H., ben faleh, A., Rebaya, M., Zrelli, S., Hajje, G., Hattour, A., Jean-pierre, Q., & Trabelsi, M. (2016). Identification of Atlantic Chub mackerel *Scomber colias* population through the analysis of body shape in Tunisian waters. *Cahiers de Biologie Marine*, 57, 195-207.
- Avallone, R., Vitale, G., & Bertolotti, M. (2019). Omega-3 Fatty Acids and Neurodegenerative Diseases: New Evidence in Clinical Trials. *International journal of molecular sciences*, 20(17), 4256.
- Bandarra, N., Batista, I., & Nunes, M. (2009). Chemical composition and nutritional value of raw and cooked black scabbardfish (*Aphanopus carbo*). *Scientia Marina*, 73, 105-113.
- Bandarra, N., Batista, I., Nunes, M., Empis, J., & Christie, W. W. (1997). Seasonal Changes in Lipid Composition of Sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science*, 62(1), 40-42.
- Bandarra, N., M., Calhau, M. A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M., Bartolo, H., Faria, M. R., Fonseca, M. C., Gonçalves, J., Batista, I., & Nunes, M. L. (2004). Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal. . In IPIMAR (Ed.), (pp. 103). Lisboa, Portugal.
- Bandarra, N., Marçalo, A., Cordeiro, A., & Pousão-Ferreira, P. (2018). Sardine (*Sardina pilchardus*) lipid composition: Does it change after one year in captivity? *Food Chem*, 244, 408-413.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., & Empis, J. M. (2001). Seasonal variation in the chemical composition of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology*, 212(5), 535-539.
- Bentsen, H. (2017). Dietary polyunsaturated fatty acids, brain function and mental health. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 28(sup1), 1281916.
- Bernardez, M., Pastoriza, L., Sampedro, G., Herrera, J. J., & Cabo, M. L. (2005). Modified method for the analysis of free fatty acids in fish. *J Agric Food Chem*, 53(6), 1903-1906.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Borsonelo, E. C., & Galduróz, J. C. F. (2008). The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: Review and propositions. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 78(4), 237-245.
- Cabral, H., & Murta, A. G. (2002). The diet of blue whiting, hake, horse mackerel and mackerel off Portugal. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 14-23.
- Calder, P. C. (2010). Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*, 2(3), 355-374.

- Calder, P. C. (2016). Docosaehaenoic Acid. *Ann Nutr Metab*, 69 Suppl 1, 7-21.
- Campos, L. S. (2008). Lípidos. Interações metabólicas. In E. Editora (Ed.), *Entender a Bioquímica* (Vol. 5, pp. 351-422).
- Cappon, C. J., & Smith, J. C. (1981). Mercury and selenium content and chemical form in fish muscle. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 10(3), 305-319.
- Cardoso, C., Afonso, C., & Bandarra, N. (2017). Dietary DHA, Bioaccessibility, and Neurobehavioural Development in Children. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 00-00.
- Cattell, R. B. (1963). Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *Journal of Educational Psychology*, 54(1), 1-22.
- Cavell, A. J. (1955). The colorimetric determination of phosphorus in plant materials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 6(8), 479-480.
- Čikeš Keč, V. Z., B. (2012). MESENTERIC FAT AND CONDITION OF CHUB MACKEREL, *Scomber colias* IN THE ADRIATIC SEA. *Croatian Journal of Fisheries*, 70 (1), 19-30.
- Colaço, A., Prieto, C., Martins, A., Figueiredo, M., Lafon, V., Monteiro, M., & Bandarra, N. M. (2009). Seasonal variations in lipid composition of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus* from the Menez Gwen vent field. *Mar Environ Res*, 67(3), 146-152.
- Collete, B., and Nauen, C. . (1983). *An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date* (Vol. 2). Fao Species Catalog
- Costa, F., Coelho, J. P., Baptista, J., Martinho, F., Pereira, M. E., & Pardal, M. A. (2020). Mercury accumulation in fish species along the Portuguese coast: Are there potential risks to human health? *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110740.
- Costa, S., Afonso, C., Cardoso, C., Batista, I., Chaveiro, N., Nunes, M. L., & Bandarra, N. M. (2015). Fatty acids, mercury, and methylmercury bioaccessibility in salmon (*Salmo salar*) using an in vitro model: Effect of culinary treatment. *Food Chem*, 185, 268-276.
- Costa, S., Afonso, C., Cardoso, C., Oliveira, R., Alves, F., Nunes, M. L., & Bandarra, N. M. (2016). Towards a deeper understanding of fatty acid bioaccessibility and its dependence on culinary treatment and lipid class: a case study of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *British Journal of Nutrition*, 116(10), 1816-1823.
- Daiello, L. A., Gongvatana, A., Dunsiger, S., Cohen, R. A., Ott, B. R., & Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2015). Association of fish oil supplement use with preservation of brain volume and cognitive function. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 11(2), 226-235.
- Dalsgaard, J., St John, M., Kattner, G., Muller-Navarra, D., & Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol*, 46, 225-340.
- Dangour, A. D., Allen, E., Elbourne, D., Fletcher, A., Richards, M., & Uauy, R. (2009). Fish consumption and cognitive function among older people in the UK: baseline data from the OPAL study. *J Nutr Health Aging*, 13(3), 198-202.
- Danthiir, V., Burns, N. R., Nettelbeck, T., Wilson, C., & Wittert, G. (2011). The older people, omega-3, and cognitive health (EPOCH) trial design and methodology: A randomised, double-blind, controlled trial investigating the effect of long-chain omega-3 fatty acids on cognitive ageing and wellbeing in cognitively healthy older adults. *Nutrition Journal*, 10(1), 117.
- DGRM. (2019). *Estatísticas da Pesca 2018* (I. P. Instituto Nacional de Estatística Ed.).
- Dias, C., & Rauter, A. (2015). Carbohydrates and glycomimetics in Alzheimer's disease therapeutics and diagnosis. *RSC Drug Discovery Series*, 2015, 180-208.
- Dias, M. G., Sánchez, M. V., Bártolo, H., & Oliveira, L. (2003). Vitamin content of fish and fish products consumed in Portugal. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 2, 510-513.
- Dodds, E., McCoy, M., Rea, L., & Kennish, J. (2005). Gas Chromatographic Quantification of Fatty Acid Methyl Esters: Flame Ionization Detection vs. Electron Impact Mass Spectrometry. *Lipids*, 40, 419-428.

- FAO. (2018). Rome, Italy.
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome.
- Fotuhi, M., Mohassel, P., & Yaffe, K. (2009). Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: A complex association. *Nature clinical practice. Neurology*, 5, 140-152.
- Garaffo, M., Vassallo Agius, R., Nengas, Y., Lembo, E., Rando, R., Maisano, R., Dugo, G., & Giuffrida, D. (2011). Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product "Bottarga". *Food and Nutrition Sciences*, 2, 736-743.
- Garcia, T., Cardoso, C., Afonso, C., Gomes, A., Mesquita, C., Tanni, S. S., & Bandarra, N. (2019). A Study of Lipid Bioaccessibility in Canned Sardine (*Sardina pilchardus*) and Chub Mackerel (*Scomber japonicus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1-11.
- Genot, C., Meynier, A., Bernoud-Hubac, N., & Michalski, M. C. (2016). Chapter 5 - Bioavailability of Lipids in Fish and Fish Oils. In S. K. Raatz & D. M. Bibus (Eds.), *Fish and Fish Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 61-74). San Diego: Academic Press.
- Glisky, E. L. (2007). *Frontiers in Neuroscience*
- Changes in Cognitive Function in Human Aging. In D. R. Riddle (Ed.), *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis
- Taylor & Francis Group, LLC.
- Gomes, R., Martins, S., Afonso, C., Bandarra, N. M., & Cardoso, C. (2019). Comparison of fish and oil supplements for a better understanding of the role of fat level and other food constituents in determining bioaccessibility. *Food Sci Nutr*, 7(4), 1179-1189.
- Harada, C. N., Natelson Love, M. C., & Triebel, K. L. (2013). Normal cognitive aging. *Clinics in geriatric medicine*, 29(4), 737-752.
- Hibbeln, J. R., Davis, J. M., Steer, C., Emmett, P., Rogers, I., Williams, C., & Golding, J. (2007). Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet*, 369(9561), 578-585.
- Hishikawa, D., Valentine, W. J., Iizuka-Hishikawa, Y., Shindou, H., & Shimizu, T. (2017). Metabolism and functions of docosahexaenoic acid-containing membrane glycerophospholipids. *FEBS letters*, 591(18), 2730-2744.
- Huss, H. H. (1995). Quality and changes in fresh fish. from FAO fisheries Technical paper
- Huynh, M. D., Kitts, D. D., Hu, C., & Trites, A. W. (2007). Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 146(4), 504-511.
- Illario, M., Maione, A., Rusciano, M., Goessens, E., Rauter, A., Braz, N., Jager-Wittenaar, H., Di Somma, C., Crola, C., Vuolo, L., Roller, R., Soprano, M., Campiglia, P., Iaccarino, G., Griffiths, H., Hartmann, T., Tramontano, D., & Colao, A. (2016). NutriLive: An Integrated Nutritional Approach as a Sustainable Tool to Prevent Malnutrition in Older People and Promote Active and Healthy Ageing—The EIP-AHA Nutrition Action Group. *Advances in Public Health*, 2016.
- Infante, C., Blanco, E., Zuasti, E., Crespo, A., & Manchado, M. (2007). Phylogenetic differentiation between Atlantic *Scomber colias* and Pacific *Scomber japonicus* based on nuclear DNA sequences. *Genetica*, 130(1), 1-8.
- Jedrzejewski, M. K., Lee, V. M. Y., & Trojanowski, J. Q. (2007). Physical activity and cognitive health. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 3(2), 98-108.
- Jurado-Ruzafa, A., Hernández, E., & Santamaría, M. (2017). Age, growth and natural mortality of Atlantic chub mackerel *Scomber colias* Gmelin 1789 (Perciformes: Scombridae), from Mauritania (NW Africa). *Vieraea*, 45, 53-64.

- Karakoltsidis, P. A., Zotos, A., & Constantinides, S. M. (1995). Composition of the Commercially Important Mediterranean Finfish, Crustaceans, and Molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8(3), 258-273.
- Katan, M. B., Zock, P. L., & Mensink, R. P. (1995). Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Annu Rev Nutr*, 15, 473-493.
- Kaur, N., Chugh, V., & Gupta, A. K. (2014). Essential fatty acids as functional components of foods- a review. *J Food Sci Technol*, 51(10), 2289-2303.
- Kaushik, S. J., & Seiliez, I. (2010). Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41(3), 322-332.
- Kim, W., Khan, N. A., McMurray, D. N., Prior, I. A., Wang, N., & Chapkin, R. S. (2010). Regulatory activity of polyunsaturated fatty acids in T-cell signaling. *Progress in lipid research*, 49(3), 250-261.
- Kotakowska, A., & Sikorski, Z. E. (2002). The role of lipids in food quality. In A. K. Z. E. Sikorski (Ed.), *Chemical and functional properties of food lipids* (pp. 1-8). New York: CRC Press. .
- Kris-Etherton, P. M., Grieger, J. A., & Etherton, T. D. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81(2), 99-104.
- Laakmann, S., Stumpp, M., & Auel, H. (2009). Vertical distribution and dietary preferences of deep-sea copepods (Euchaetidae and Aetideidae; Calanoida) in the vicinity of the Antarctic Polar Front. *Polar Biology*, 32(5), 679-689.
- Lee, Y., Back, J. H., Kim, J., Kim, S. H., Na, D. L., Cheong, H. K., Hong, C. H., & Kim, Y. G. (2010). Systematic review of health behavioral risks and cognitive health in older adults. *Int Psychogeriatr*, 22(2), 174-187.
- Lenihan-Geels, G., Bishop, K., & Ferguson, L. (2013). Alternative Sources of Omega-3 Fats: Can We Find a Sustainable Substitute for Fish? *Nutrients*, 5, 1301-1315.
- Leonard, A. E., Pereira, S. L., Sprecher, H., & Huang, Y. S. (2004). Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in lipid research*, 43(1), 36-54.
- Lepage, G., & Roy, C. C. (1986). Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of lipid research*, 27(1), 114-120.
- Liu, L., Bartke, N., Van Daele, H., Lawrence, P., Qin, X., Park, H. G., Kothapalli, K., Windust, A., Bindels, J., Wang, Z., & Brenna, J. T. (2014). Higher efficacy of dietary DHA provided as a phospholipid than as a triglyceride for brain DHA accretion in neonatal piglets. *Journal of lipid research*, 55(3), 531-539.
- Łuczyńska, J., Paszczyk, B., Nowosad, J., & Łuczyński, M. J. (2017). Mercury, Fatty Acids Content and Lipid Quality Indexes in Muscles of Freshwater and Marine Fish on the Polish Market. Risk Assessment of Fish Consumption. *International journal of environmental research and public health*, 14(10), 1120.
- Malouf, R., & Areosa Sastre, A. (2003). Vitamin B12 for cognition. *Cochrane Database of Systematic Reviews*(3).
- Manirakiza, P., Covaci, A., & Schepens, P. (2001). Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(1), 93-100.
- Martins, B., Bandarra, N., & Figueiredo-Braga, M. (2019). The role of marine omega-3 in human neurodevelopment, including Autism Spectrum Disorders and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16.
- Martins, M., Skagen, D., Marques, V., Zwolinski, J., & Silva, A. (2013). Changes in the abundance and spatial distribution of the Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the pelagic ecosystem and fisheries off Portugal. *Scientia Marina*, 77, 551.
- Martins, M. M. (1996). New biological data on growth and maturity of Spanish Mackerel (*Scomber japonicus*) off the Portuguese coast (ICES Division IX a) (Vol. C.M. 1996/H:23, pp. 17): ICES - Pelagic Fish Committee.

- Maulvault, A. L., Anacleto, P., Lourenço, H. M., Carvalho, M. L., Nunes, M. L., & Marques, A. (2012). Nutritional quality and safety of cooked edible crab (*Cancer pagurus*). *Food Chem*, *133*(2), 277-283.
- Mori, T., & Hodgson, J. (2013). Fatty acids: Health Effects of Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids (pp. 209-214).
- Murman, D. L. (2015). The Impact of Age on Cognition. *Seminars in hearing*, *36*(3), 111-121.
- Nogueira, J. M. F., Pereira, J. L. C., & Sandra, P. (1995). Chromatographic methods for the analysis of crude tall-oil. *Journal of High Resolution Chromatography*, *18*(7), 425-432.
- Nogueira, N., Cordeiro, N., & Aveiro, M. (2013). Chemical Composition, Fatty Acids Profile and Cholesterol Content Of Commercialized Marine Fishes Captured in Northeastern Atlantic. *Journal of Fisheries Sciences com*, *7*, 271-286.
- Nunes, M., Bandarra, N., & Batista, I. (2003). Fish Products: Contribution for A Healthy Food. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem*, *2*.
- Nunes, M. L., Bandarra, N. M., & Batista, I. (2010). Health Benefits Associated with Seafood Consumption *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications* (pp. 367-379).
- Nunes, M. L., Batista, I., Vandarra, N. M., Morais, M. G., & Rodrigues, P. O. (2008). *Produtos da pesca: valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores* (Vol. 18). Publicações Avulsas do IPIMAR: IPIMAR.
- O'Leary, F., Allman-Farinelli, M., & Samman, S. (2012). Vitamin B12 status, cognitive decline and dementia: a systematic review of prospective cohort studies. *British Journal of Nutrition*, *108*(11), 1948-1961.
- O'Leary, F., & Samman, S. (2010). Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients*, *2*(3), 299-316.
- Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International journal of molecular sciences*, *16*(6), 12871-12890.
- Pitzschke, A., Fraundorfer, A., Guggemos, M., & Fuchs, N. (2015). Antioxidative responses during germination in quinoa grown in vitamin B-rich medium. *Food Sci Nutr*, *3*(3), 242-251.
- Pusceddu, M. M., Kelly, P., Stanton, C., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2016). N-3 Polyunsaturated Fatty Acids through the Lifespan: Implication for Psychopathology. *The international journal of neuropsychopharmacology*, *19*(12), pyw078.
- Rainuzzo, J. R., Reitan, K. I., & Olsen, Y. (1997). The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, *155*(1), 103-115.
- Raji, C. A., Erickson, K. I., Lopez, O. L., Kuller, L. H., Gach, H. M., Thompson, P. M., Riverol, M., & Becker, J. T. (2014). Regular fish consumption and age-related brain gray matter loss. *Am J Prev Med*, *47*(4), 444-451.
- Rombaldi Bernardi, J., de Souza Escobar, R., Ferreira, C. F., & Pelufo Silveira, P. (2012). Fetal and neonatal levels of omega-3: effects on neurodevelopment, nutrition, and growth. *ScientificWorldJournal*, *2012*, 202473.
- Romotowska, P. E., Karlsdóttir, M. G., Gudjónsdóttir, M., Kristinsson, H. G., & Arason, S. (2016). Seasonal and geographical variation in chemical composition and lipid stability of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) caught in Icelandic waters. *Journal of Food Composition and Analysis*, *49*, 9-18.
- Rosano, C., Simonsick, E. M., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Brach, J., Visser, M., Yaffe, K., & Newman, A. B. (2005). Association between Physical and Cognitive Function in Healthy Elderly: The Health, Aging and Body Composition Study. *Neuroepidemiology*, *24*(1-2), 8-14.
- Saint-Denis, T., & Goupy, J. (2004). Optimization of a nitrogen analyser based on the Dumas method. *Analytica Chimica Acta*, *515*(1), 191-198.
- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. *Food Reviews International*, *20*(1), 77-90.

- Stansby, M. E. (1986). CHAPTER 19 - FATTY ACIDS IN FISH. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer & R. E. Martin (Eds.), *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods* (pp. 389-401): Academic Press.
- Strobel, C., Jahreis, G., & Kuhnt, K. (2012). Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. *Lipids in health and disease*, *11*, 144-144.
- Swanson, D., Block, R., & Mousa, S. A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, *3*(1), 1-7.
- Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2013). Fish Matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. *Reviews in Fisheries Science*, *21*(1), 22-38.
- Tecnológica, C. V. A. N. p. a. C. C. e. (2014). *As espécies mais populares do MAR de Portugal: Num restaurante perto de si*. Lisboa.
- Thomas, J., Thomas, C. J., Radcliffe, J., & Itsiopoulos, C. (2015). Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, *2015*, 172801.
- Torres, M. A., Ramos, F., & Sobrino, I. (2012). Length–weight relationships of 76 fish species from the Gulf of Cadiz (SW Spain). *Fisheries Research*, *127-128*, 171-175.
- Truzzi, C., Annibaldi, A., Illuminati, S., Antonucci, M., Api, M., Scarponi, G., Lombardo, F., Pignalosa, P., & Carnevali, O. (2018). Characterization of the Fatty Acid Composition in Cultivated Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) Muscle by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Letters*, 1-13.
- Turchini, G., Torstensen, B., & Ng, W.-K. (2009). Fish Oil Replacement in Finfish Nutrition. *Reviews in Aquaculture*, *1*, 10-57.
- Ulbricht, T. L., & Southgate, D. A. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, *338*(8773), 985-992.
- Vasconcelos, J., Afonso-Dias, M., & Faria, G. (2012). Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) spawning season, size and age at first maturity in Madeira waters. *Arquipélago – Life and Marine Sciences*, *29*, 43-51.
- Vasconcelos, J., Dias, M. A., & Faria, G. (2011). Age and growth of the Atlantic chub mackerel *Scomber colias* Gmelin, 1789 off Madeira Island. *ARQUIPÉLAGO. Life and Marine Sciences*, *28*, 57-70.
- Vaz, J. d. S., Deboni, F., Azevedo, M. J. d., Gross, J. L., & Zelmanovitz, T. (2006). Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Revista de Nutrição*, *19*, 489-500.
- Versantvoort, C. H. M., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rempelberg, C. J. M., & Sips, A. J. A. M. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, *43*(1), 31-40.
- Visentainer, J. V., Noffs, M. D. A., de Oliveira Carvalho, P., de Almeida, V. V., de Oliveira, C. C., & de Souza, N. E. (2007). Lipid Content and Fatty Acid Composition of 15 Marine Fish Species from the Southeast Coast of Brazil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*(6), 543-547.
- Weihrauch, J. L., Posati, L. P., Anderson, B. A., & Exler, J. (1977). Lipid conversion factors for calculating fatty acid contents of foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *54*(1), 36-40.
- Welch, A. A., Shakya-Shrestha, S., Lentjes, M. A., Wareham, N. J., & Khaw, K. T. (2010). Dietary intake and status of n-3 polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the product-precursor ratio [corrected] of alpha-linolenic acid to long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: results from the EPIC-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr*, *92*(5), 1040-1051.
- Wiktorowska-Owczarek, A., Berezińska, M., & Nowak, J. Z. (2015). PUFAs: Structures, Metabolism and Functions. *Adv Clin Exp Med*, *24*(6), 931-941.
- Wolffenbittel, B. H. R., Wouters, H., Heiner-Fokkema, M. R., & van der Klauw, M. M. (2019). The Many Faces of Cobalamin (Vitamin B(12)) Deficiency. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes*, *3*(2), 200-214.

- Yamashita, Y., Amlund, H., Suzuki, T., Hara, T., Hossain, M. A., Yabu, T., Touhata, K., & Yamashita, M. (2011). Selenoneine, total selenium, and total mercury content in the muscle of fishes. *Fisheries Science*, 77(4), 679-686.
- Zhang, T.-T., Xu, J., Wang, Y.-M., & Xue, C.-H. (2019). Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids. *Progress in lipid research*, 75, 100997.
- Zhang, Z., Fulgoni, V. L., Kris-Etherton, P. M., & Mitmesser, S. H. (2018). Dietary Intakes of EPA and DHA Omega-3 Fatty Acids among US Childbearing-Age and Pregnant Women: An Analysis of NHANES 2001-2014. *Nutrients*, 10(4), 416.
- Zhou, L., Li, C., Gao, L., & Wang, A. (2015). High-density lipoprotein synthesis and metabolism (Review). *Mol Med Rep*, 12(3), 4015-4021.
- Zotos, A., & Vouzanidou, M. (2012). Seasonal changes in composition, fatty acid, cholesterol and mineral content of six highly commercial fish species of Greece. *Food Science and Technology International*, 18(2), 139-149.

Anexos

Anexo I

Cromatograma mensal da cavala de outubro

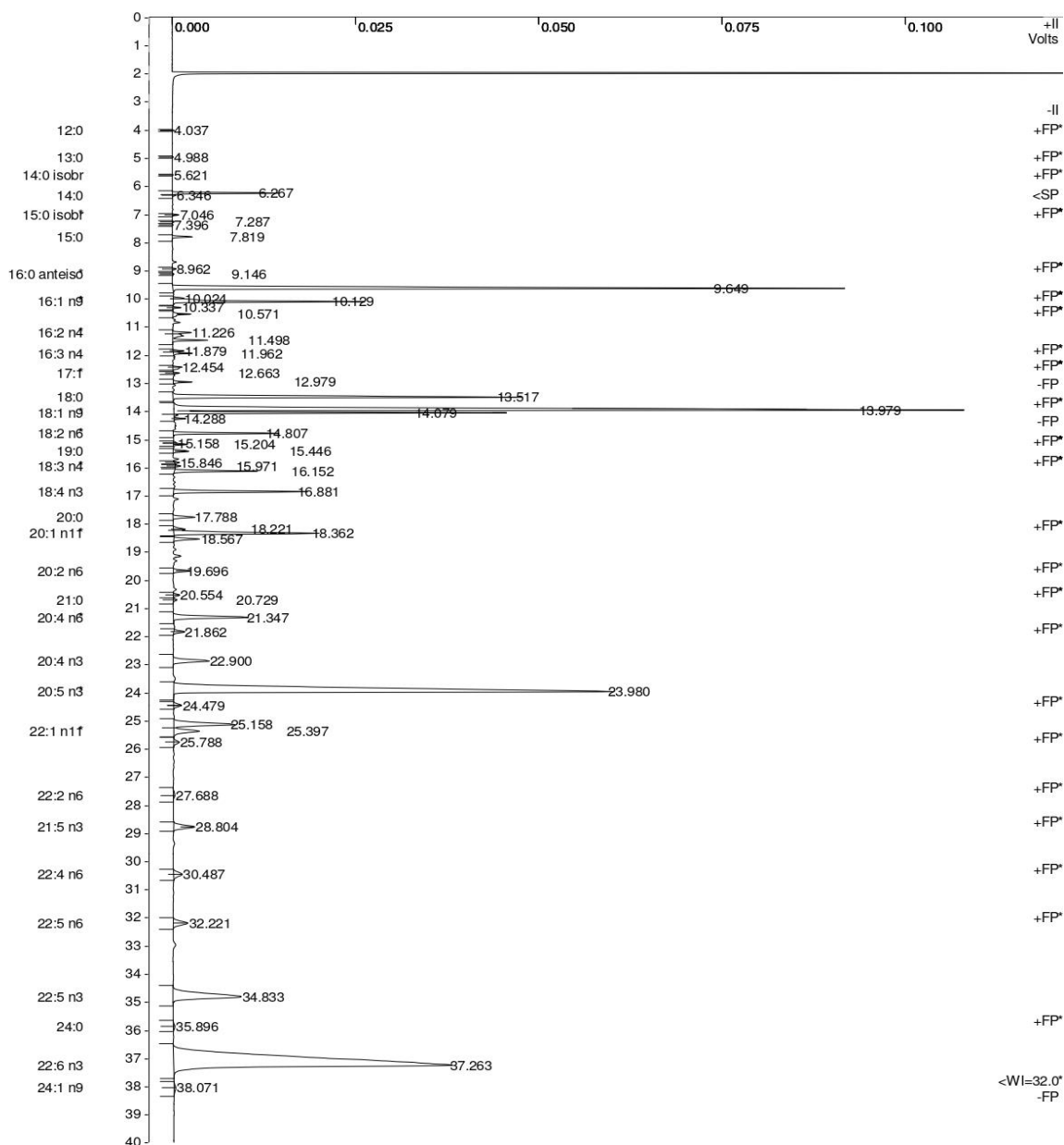
Title : LabLípidos - Área laboratorial de Nutrição - Div AV - IPMA
Run File : c:\brukerws\data\ferreira\cavala_mensal 2019\cavala out 01.run
Method File : cavala out 01-front.mth
Sample ID : Cavala Out 01

Injection Date: 28-02-2020 03:21 Calculation Date: 28-02-2020 16:08

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

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

Chart Speed = 0.56 cm/min Attenuation = 51 Zero Offset = 2%
Start Time = 0.000 min End Time = 40.000 min Min / Tick = 1.00



Anexo 2

Cromatograma da fração polar (fosfolípidos) da cavala de outubro

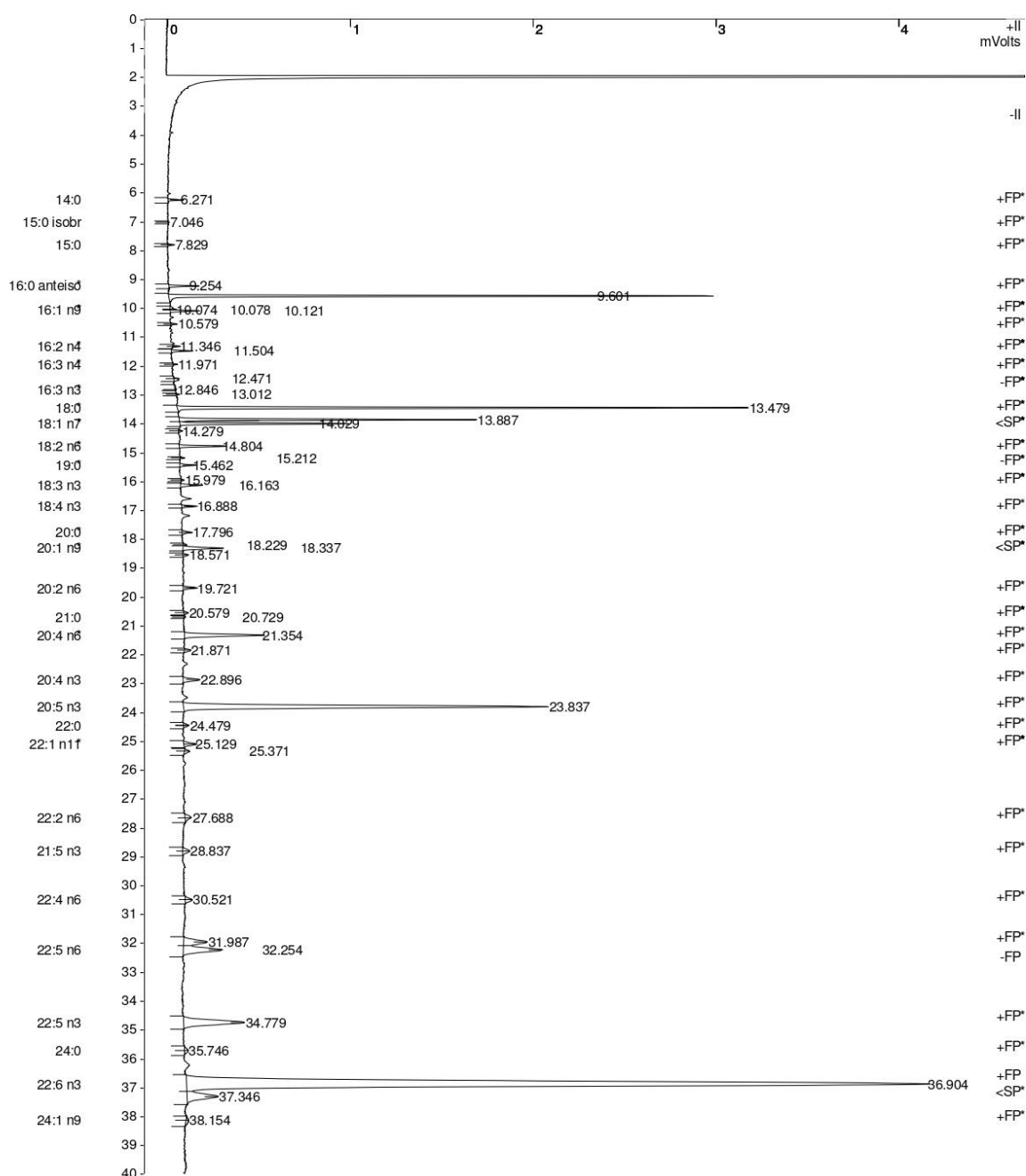
Title : LabLípidos - Área laboratorial de Nutrição - Div AV - IPMA
Run File : c:\brukerws\data\ferreira\cavala_mensal 2019\cavala outub lpc.run
Method File : cavala outub lpc-front.mth
Sample ID : cavala Outub lPC

Injection Date: 13-02-2020 18:46 Calculation Date: 09-03-2020 14:08

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

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

Chart Speed = 0.56 cm/min Attenuation = 1 Zero Offset = 5%
Start Time = 0.000 min End Time = 40.000 min Min / Tick = 1.00



Anexo 3

Cromatograma da fração não polar (triacilgliceróis) da cavala de outubro

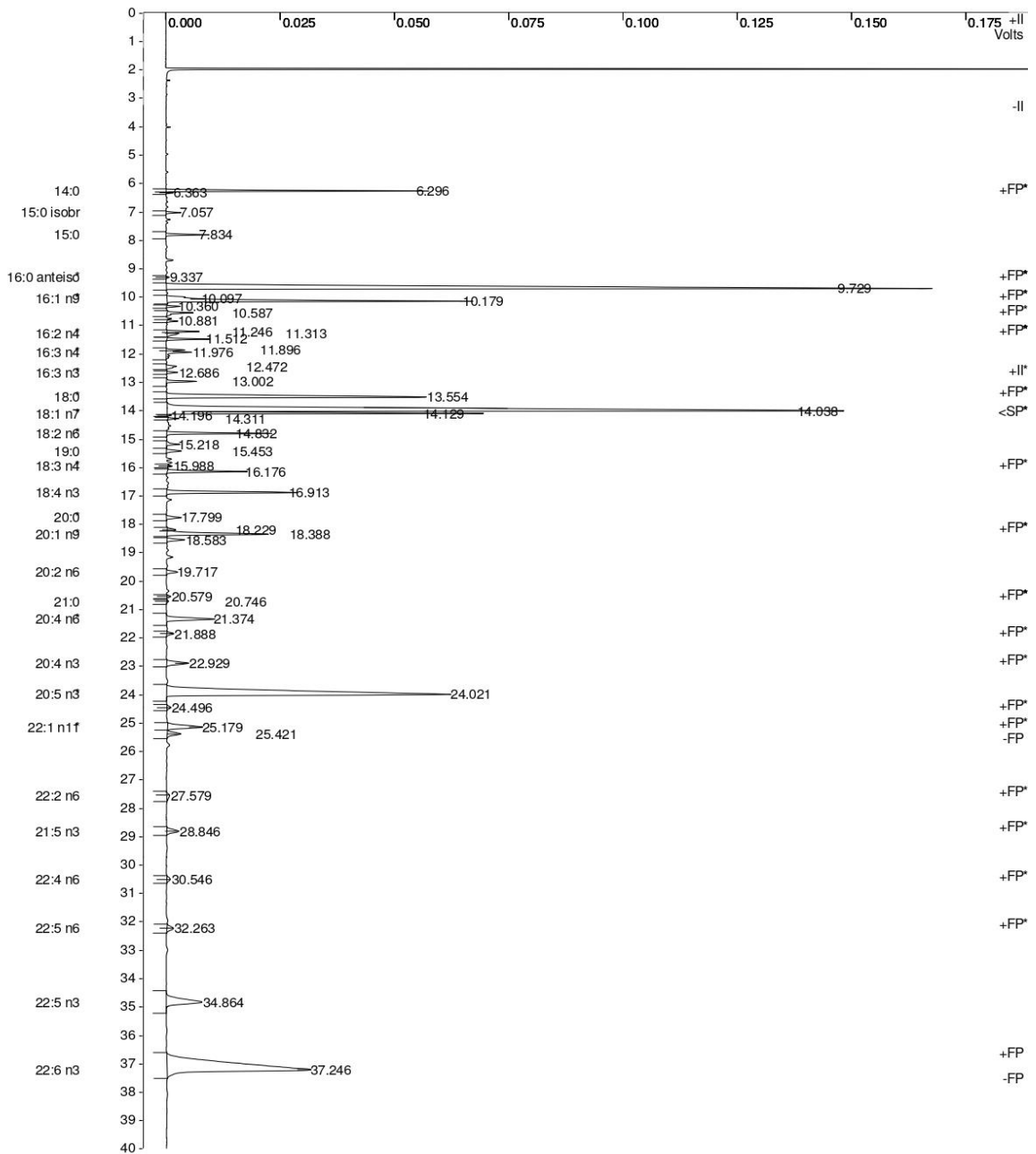
Title : LabLípidos - Área laboratorial de Nutrição - Div AV - IPMA
 Run File : c:\brukerws\data\ferreira\cavala_mensal 2019\cavala outub 1 tag.run
 Method File : cavala outub 1 tag-front.mth
 Sample ID : cavala Outub 1 TAG

Injection Date: 13-02-2020 19:30 Calculation Date: 09-03-2020 15:23

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

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

Chart Speed = 0.56 cm/min Attenuation = 79 Zero Offset = 2%
 Start Time = 0.000 min End Time = 40.000 min Min / Tick = 1.00



Anexo 4

Cromatograma da fração bioacessível da cavala de outubro

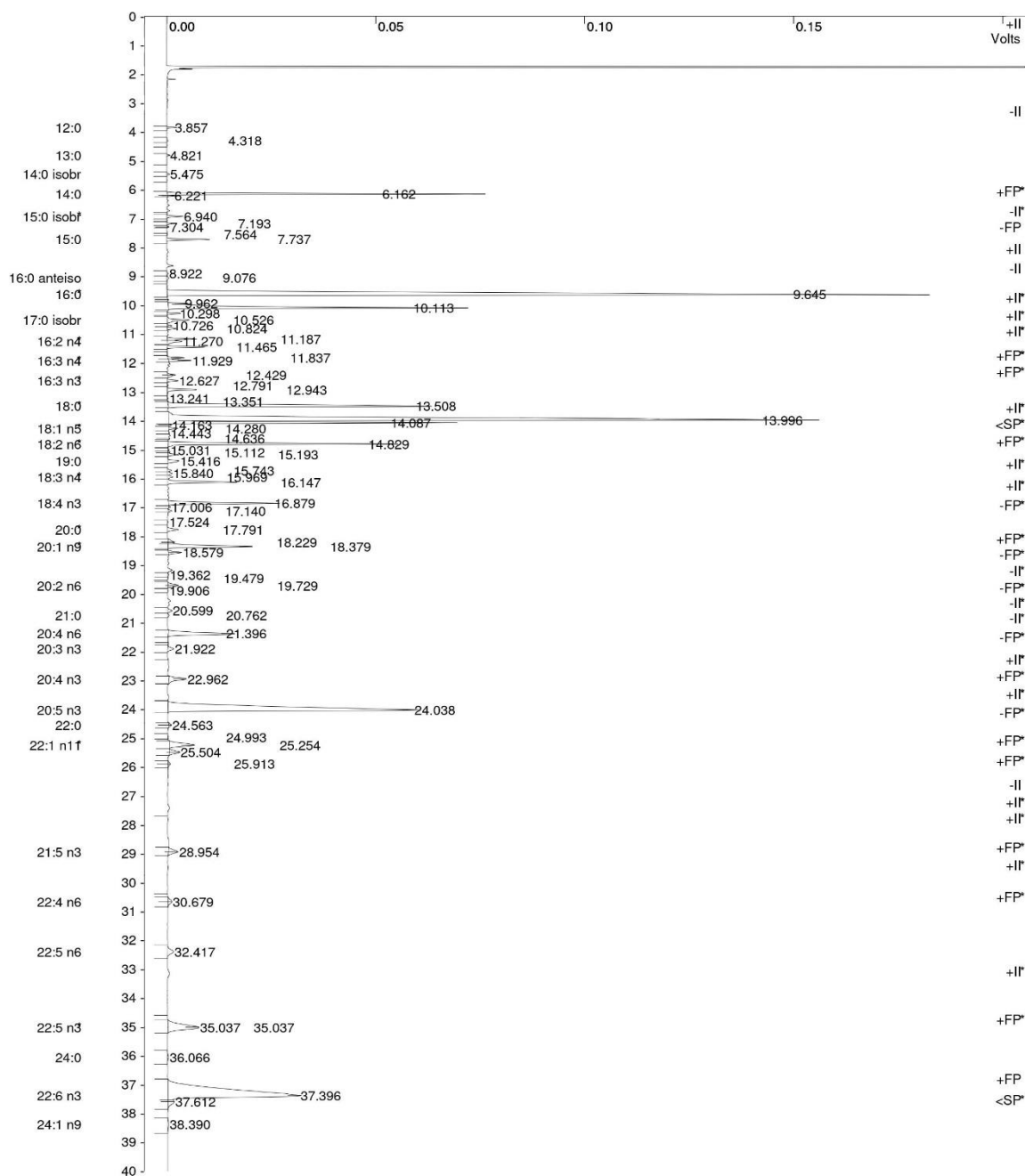
Title : LabLípidos - Área laboratorial de Nutrição - Div AV - IPMA
 Run File : c:\brukerws\data\ines ferreira_estagiaria_cavala\bio 10 cavala outub.run
 Method File : bio 5 cavala marco-front.mth
 Sample ID : Bio 10 Cavala outub

Injection Date: 28-07-2020 10:13 Calculation Date: 04-08-2020 12:10

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

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

Chart Speed = 0.56 cm/min Attenuation = 86 Zero Offset = 2%
 Start Time = 0.000 min End Time = 40.000 min Min / Tick = 1.00



Anexo 5

Poster para o XIX congresso de nutrição e alimentação e para o II congresso internacional de nutrição e alimentação.

Chub mackerel (*Scomber colias*): a sustainable seafood and a privileged source of DHA

Inês Ferreira^{1,2}, Ana Gomes-Bispo^{1,3*}, Joana Matos^{1,2}, Cláudia Afonso^{1,3},
Carlos Cardoso^{1,3}, Isabel Castanheira⁴, Carla Motta⁴, José Prates⁵,
Narcisa M. Bandarra^{1,3}

*ana.bispo@ipma.pt

**NUTRITION 20 > 30
ACT FOR TOMORROW**

XIX Congresso de Nutrição
e Alimentação
da Associação Portuguesa de Nutrição

9 | 10 SETEMBRO '20

EDIÇÃO ONLINE

ASSOCIAÇÃO
PORTUGUESA
DE NUTRIÇÃO



INTRODUCTION

The chub mackerel (*Scomber colias*) is a pelagic fish with an high nutritional value. This fish is rich in omega 3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA), such as docosahexaenoic acid (DHA, 22:6ω3) that has already been recognized to have benefits regarding with mental health, prevention of anti-inflammatory processes and cardiovascular disease.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 – Fat content (%) determined in chub mackerel.

Mar/19	Jun/19	Oct/19
2.8 ± 0.2 ^a	6.2 ± 0.5 ^b	9.6 ± 0.5 ^c

- ✓ Due to its biological cycles, chub mackerel lipid fraction undergoes important seasonal changes
- ✓ The highest fat content occurs in October

- ✓ n-3 PUFA as the globally most abundant fatty acids
- ✓ DHA accounted nearly half of the total n-3 PUFA
- ✓ The DHA content ranged from 700 and more 2000 mg/100 g found in March and October, respectively
- ✓ The consumption of 12 to 35 g of chub mackerel would be enough to deliver the DHA recommended dose associated with a normal brain function (250 mg/day)

CONCLUSION

The great nutritional value of chub mackerel lipid fraction, together with its high abundance within the Portuguese coast, makes this fish a sustainable seafood, with a great valorisation potential, as well as a good alternative to other species whose fishery is facing strong restrictions.

METHODS

FAT CONTENT	Bligh and Dyer method [1]
FATTY ACID PROFILE	Acid-catalysed transesterification and quantification by means of gas chromatography [2]

Table 2 – Fatty acid (FA) determined in chub mackerel. Results are expressed both in mg/100 g and in percentage of total FA (inside the brackets).

	Mar/19	Jun/19	Oct/19
16:0	333.9 ± 17.8 ^a (13.1 ± 0.7 ^b)	1075.1 ± 1.7 ^b (19.0 ± 0.1 ^c)	950.8 ± 39.6 ^c (10.6 ± 0.4 ^a)
Σ SFA	644.1 ± 27.0 ^a (25.3 ± 1.1 ^b)	1776.1 ± 6.8 ^b (31.5 ± 0.1 ^c)	1755.9 ± 42.6 ^b (19.5 ± 0.5 ^a)
18:1n-9	264.0 ± 3.3 ^a (10.4 ± 0.1 ^a)	739.6 ± 1.1 ^b (13.1 ± 0.0 ^b)	1355.6 ± 35.5 ^c (15.1 ± 0.4 ^c)
18:1n-7	86.0 ± 1.3 ^a (3.4 ± 0.1 ^a)	193.4 ± 0.4 ^b (3.4 ± 0.0 ^b)	339.3 ± 5.6 ^c (3.8 ± 0.1 ^c)
Σ MUFA	537.8 ± 5.9 ^a (21.1 ± 0.2 ^a)	1713.2 ± 1.4 ^b (30.4 ± 0.0 ^c)	2478.1 ± 40.6 ^c (27.5 ± 0.5 ^b)
18:2n-6	37.1 ± 0.9 ^a (1.5 ± 0.0 ^c)	68.4 ± 0.1 ^b (1.2 ± 0.0 ^a)	117.4 ± 1.8 ^c (1.3 ± 0.0 ^{ab})
18:3n-3	32.6 ± 0.8 ^{ab} (1.3 ± 0.0 ^c)	43.0 ± 1.2 ^b (0.8 ± 0.0 ^a)	101.1 ± 2.0 ^c (1.1 ± 0.0 ^b)
20:5n-3	255.4 ± 2.3 ^a (10.0 ± 0.1 ^a)	544.8 ± 0.7 ^b (9.7 ± 0.0 ^a)	1451.3 ± 17.6 ^c (16.1 ± 0.2 ^b)
22:6n-3	717.7 ± 26.2 ^{ab} (28.2 ± 1.0 ^c)	869.2 ± 3.4 ^b (15.4 ± 0.1 ^a)	2024.4 ± 70.7 ^c (22.5 ± 0.8 ^b)
Σ PUFA	1310.1 ± 31.0 ^a (51.5 ± 1.2 ^b)	1992.9 ± 2.0 ^b (35.3 ± 0.1 ^a)	4690.2 ± 90.3 ^c (52.1 ± 1.0 ^b)
Σ n-3	1171.8 ± 30.4 ^a (46.1 ± 1.2 ^b)	1733.3 ± 1.3 ^b (30.7 ± 0.0 ^a)	4245.4 ± 90.7 ^c (47.2 ± 1.0 ^b)
Σ n-6	128.9 ± 0.5 ^a (5.1 ± 0.0 ^c)	226.2 ± 1.0 ^b (4.0 ± 0.0 ^a)	396.8 ± 1.5 ^c (4.4 ± 0.0 ^b)
n-3/n-6	9.1	7.7	10.7

Values are presented as the average ± standard deviation. In the same line, different letters represent significantly different arithmetic means ($p < 0.05$).

REFERENCES

- [1] Bligh, E.G., et al. (1959) *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-918.
[2] Bandarra, N.M., et al. (1997) *Journal of Food Science*, 62, 40-42.

Acknowledgements:

The experimental work and the contract of Ana Gomes-Bispo was funded by the project NewFood4Thought (Ref. PTDC/SAUNUT/30455/2017). This work was supported by the following Post Doctoral Grants: SFRH/BPD/102689/2014 ("Fundação para a Ciência e a Tecnologia", FCT) for the author Carlos Cardoso and DIVERSIAQUA (MAR2020, Ref.: 16-02-01-FEAM-66) for the author Cláudia Afonso. Doctoral grant awarded by FCT supported the work performed by Joana Matos (SFRH/BD/129795/2017).



Anexo 6

Resumo/Abstract submetido para o XIX congresso de nutrição e alimentação e para o II congresso internacional de nutrição e alimentação.



The chub mackerel (*Scomber colias*) is a pelagic fish with an high nutritional value due to its composition with high protein contents and vitamins from complex B. Furthermore it is rich in omega 3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA), mainly docosahexaenoic acid (DHA, 22:6 ω 3) that has already been recognized to have benefits regarding with mental health, namely Alzheimer's disease, but also in the prevention of anti-inflammatory processes and cardiovascular disease. Moreover, due to its biological cycles, chub mackerel composition, namely its lipid fraction, can undergo important seasonal changes that have not been fully documented so far, namely in what concerns to its fatty acid profile. Our research aimed to study the chub mackerel fatty acids along the year. The chub mackerel fatty acid profile was determined by Gas Chromatography (GC-FID). Our results highlighted n-3 PUFA as the globally most abundant fatty acids, ranging from 37.3 up to 62.7% (Summer and Winter, respectively) of total fatty acids. For these, DHA accounted nearly half of the total n-3 PUFA with levels between 16.2 and 37.3% (Summer and Winter, respectively). The lowest DHA content was found in Spring samples, where the detected level corresponded to 498.4 mg/100 g, and the highest occurred during Autumn reaching more than 2200 mg/100 g. Such contents become even more important if we consider that the intake of > 250 mg/day of DHA was linked to a neuroprotective effect.

Our research, together with its high abundance within the Portuguese shore, indicates chub mackerel as a sustainable seafood with a great potential. In this context, its consumption is a good alternative to other species whose fishery is facing strong restrictions.