

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA LINHAÇA (*Linum
usitatissimum L.*) EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE
PREPARO E DE USO EM ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anne y Castro Marques

Santa Maria, RS, Brasil

2008

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA LINHAÇA (*Linum
usitatissimum L.*) EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE
PREPARO E DE USO EM ALIMENTOS**

por

Anne y Castro Marques

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dra. Luisa Helena R. Hecktheuer

Santa Maria, RS, Brasil

2008

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.)
EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE PREPARO E DE USO EM
ALIMENTOS**

elaborada por
Anne y Castro Marques

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

COMISSÃO ORGANIZADORA:

Prof^a Dra. Luisa Helena R. Hecktheuer
(Presidente/Orientador)

Prof^a Dra. Cláudia Severo da Rosa (UNIFRA)

Prof^o Dr. Ernesto Hashime Kubota (UFSM)

Santa Maria, 17 de dezembro de 2008.

Dedico esse trabalho aos meus pais, Vitor e Rejane, que muitas vezes deixaram de realizar seus sonhos em prol dos nossos; e ao meu amor, Diogo, que acompanhou todas as mudanças e decisões de minha vida, sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Tantos foram aqueles que ajudaram, de uma forma ou outra, na elaboração e realização desse trabalho. A todos estes, antecipo um “muito obrigada”. Mas, sem dúvida, há aqueles que precisam ser mencionados:

Deus, senhor de todas as coisas, obrigada, pela oportunidade de estudar, de evoluir intelectualmente, e permita que o desenvolvimento moral não fique obsoleto.

Pai e mãe, que simplesmente tornaram isto possível, que aceitaram uma nutricionista em vez de uma engenheira ou administradora, agradeço pelo incentivo e pelo amor. Espero um dia retribuir ao menos parte dessa alegria proporcionada por vocês. Celso, valeu!

Diogo, meu amor, meu companheiro, meu amigo, que sempre me incentivou a estudar, que costuma ficar tempos me questionando sobre este ou aquele alimento... E que ainda aceitou o desafio de casar duas semanas antes da defesa de projeto do mestrado!!

Prof^ª Luisa Hecktheuer, minha orientadora querida, que me deu a oportunidade de aprender tanto e de crescer. Obrigada pela paciência, tranquilidade, por me deixar trabalhar tão livremente. Com certeza, és muito mais do que uma professora para mim!

Prof^ª Cláudia Rosa, por ter despertado em mim o amor pela ciência e tecnologia de alimentos! E que serve, desde a época de graduação, como modelo de profissional a ser seguido. Sou duplamente grata.

Prof^º Ernesto Kubota, que sempre me socorreu nos momentos críticos de laboratório, e que aceitou o convite para participar da banca, agradeço de coração.

Prof^ª Maria da Graça Callegaro, simplesmente não haveria ensaio biológico se não fosse tua ajuda. Agradeço pela extremada atenção, pelo carinho e pela amizade.

Prof^ª Neura Bragagnolo, por ter aceitado o desafio de participar do projeto Casadinhos, por ter me acolhido em Campinas e pelo tempo e atenção dedicados a mim. E as doutorandas Gislaiane e Lílian, sempre tão atenciosas e sábias.

Prof^ª Neila Richards, pelo material conseguido para a realização do trabalho e pelos conselhos no início desta caminhada.

Demais professores do curso, especialmente a prof^ª Tatiana Emanuelli.

Marialene e Moisés “gremista”, amigos queridos, que me socorreram tantas e tantas vezes, que me ensinaram a sobreviver em um laboratório, e que partilharam comigo boas conversas e experiências... Adoro vocês!

Cisbra Alimentos, tão bem representada por Alyson Thomas, que além de ceder a linhaça para a realização desse trabalho, sempre se dispôs a esclarecer, prontamente, qualquer dúvida. E Doles®, por ter doado os kits para a análise dos parâmetros bioquímicos.

Ana Lúcia Saccol, que me deu a oportunidade de participar do projeto SOMAR, e de ter a certeza que era pelo mesmo caminho que eu deveria seguir.

Minhas “veteranas” Gitane Fuke e Luciana Patias, sempre prontas para nos ensinar onde comprar determinado ingrediente, com quem conseguir certo material... E tantas outras ajudas que foram fundamentais.

Meus colegas, que compartilharam comigo angústias, dúvidas, alegrias, tristezas, frustrações (repetições), risadas... Enfim, esses dois anos de caminhada! Em especial, Guilherme, Larissa Alves, Milena e Fabrício, que participaram em algum (ou vários) momento(s)... obrigada mesmo!!

Minhas amigas e meus amigos, que embora não estivessem dentro da universidade, sempre queriam saber como estava indo o trabalho, o que podia dar certo (e errado)... Mais uma etapa vencida! Tessa, amiga e colega querida, obrigada por t-u-d-o!

Meus pacientes e meus alunos de Docência Orientada, que me motivaram a buscar o conhecimento e me deram lições de vida diariamente.

Guris do Biotério (Silvandro, Maneco e Darci) e guria do Biotério (Maria Odete), que com sua alegria e carinho tornaram o período de ensaio biológico bem mais agradável.

Laboratoristas Marta e Maria, secretários Lia e Carlos e pessoal do Nidal, que eram requisitados nas mais diversas horas, e sempre estavam prontos para ajudar.

Os ratinhos, que deram suas vidas em prol da ciência.

O CNPq e a Capes, que apoiaram financeiramente o projeto.

A UFSM, por toda a estrutura, e por ser um berço de descobertas em nossa cidade.

E finalmente, quero agradecer a uma pessoa muito especial. Certamente a que mais vivenciou este trabalho comigo, que foi “meu braço direito (e esquerdo)”, que me aturou nos momentos de angústia e mau-humor, que fez repetições e repetições ao meu lado, que me ensinou muito (praticamente tudo) sobre ensaio biológico, que não se importava em ficar 14 horas seguidas na UFSM, que me fez dar boas gargalhadas... Enfim, Tiffany (ou seria Tiffanne?), agradeço por ter encarado o desafio de ser minha “dupla inseparável” nesse período! Obrigada parece tão pouco perto do quanto tu me ajudaste!

“Sê feliz e benfazejo.”

Luciano Leindecker

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.) EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE PREPARO E DE USO EM ALIMENTOS

AUTORA: ANNE Y CASTRO MARQUES
ORIENTADORA: LUISA HELENA R. HECKTHEUER
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 17 de dezembro de 2008.

A população mundial vem demonstrando crescente preocupação com a alimentação e seus constituintes, o que incentiva a indústria de alimentos a investir em produtos saudáveis e nos ditos alimentos funcionais. Entre os alimentos considerados funcionais encontra-se a linhaça (*Linum usitatissimum* L), um pequeno grão de formato oval com grande valor nutritivo por ser fonte de fibras, ácidos graxos essenciais e proteína. O presente trabalho teve como objetivo observar as propriedades funcionais da linhaça em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos, o que foi realizado por meio da determinação da composição química do grão, de ensaio biológico em ratos e da análise do perfil de ácidos graxos. Quanto aos resultados, com a determinação da composição química verificou-se que a linhaça utilizada neste estudo é rica em lipídio (37,04g%), em proteína (16,69g%) e em fibras alimentares (32,9g%). No ensaio biológico, momento em que 32 ratos *wistar* machos recém desmamados receberam quatro tipos de ração (P: ração padrão conforme AIN; LC: ração com 16% de linhaça crua; LA: ração com 16% de linhaça assada a 180°C por 40 minutos; e OL: ração com óleo de linhaça), constatou-se que a utilização do grão de linhaça cru, do grão assado e do óleo de linhaça resultou positivamente *in vivo*. Foi observada uma diminuição nos parâmetros bioquímicos glicemia, triglicerídio e colesterol total, aumento da excreção lipídica e da excreção fecal, sem alteração no desenvolvimento ponderal dos ratos nos tratamentos adicionados de linhaça, sendo que os dados mais positivos foram detectados nos animais que receberam o grão *in natura*. Por meio da cromatografia gasosa, realizou-se a análise do perfil lipídico do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes processos envolvendo altas temperaturas: grão *in natura* (LC); grão assado em forno elétrico a 150°C por 40 minutos (L150); grão assado em forno elétrico a 180°C por 40 minutos (L180); grão aquecido em forno de microondas (LM); óleo de linhaça *in natura* (OL); e óleo de linhaça aquecido a 180°C por 30 minutos (OF). Modificações no perfil de ácidos graxos saturados e insaturados foram detectadas, entretanto o grão e o óleo de linhaça mantiveram quantidades significativas de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente de ácido α -linolênico, em todos os tratamentos. Apesar dos menores benefícios causados pela linhaça processada (grão assado ou como óleo), observou-se que parte do ácido α -linolênico permanece no alimento e é absorvido pelo organismo. Com tudo isso, é possível afirmar que a linhaça se mantém bastante estável quando submetida a diferentes processamentos envolvendo altas temperaturas, sendo uma fonte alternativa de ácido α -linolênico. Entretanto mais estudos são necessários para estipular as doses adequadas para humanos, de acordo com as particularidades individuais.

Palavras-chave: *Linum usitatissimum* L., linhaça, atividade biológica, ratos, ácidos graxos.

ABSTRACT

Master Dissertation
Federal University of Santa Maria

FLAXSEED (*Linum usitatissimum L.*) FUNCTIONAL PROPERTIES IN DIFFERENT PROCESSING CONDITIONS AND USE IN FOOD

AUTHOR: ANNE Y CASTRO MARQUES

ADVISER: LUISA HELENA R. HECKTHEUER

Date and Place of the defense: Santa Maria, December 17th, 2008.

The world population has been showing more concern for the food and its constituents, encouraging the food industry to invest in healthy products and in functional foods. Among those considered functional foods is the flaxseed (*Linum usitatissimum L.*), a small grain of ovate shape with high nutritional value by being a good source of fiber, essential fatty acids and protein. The aim of this study was observe the flaxseed functional properties in different processing conditions and use in food, through the determination of the grain chemical composition, biological response in rats and the fatty acids profile. The chemical determination was found that flaxseed used in this study is rich in lipid (37,04 g%), in protein (16,69% g) and in fiber (32,9 g%). In the biological trial, 32 male *Wistar* rats received four diet types (P: diet standard as AIN; LC: diet with 16% of raw flaxseed; LA: diet with 16% of roast flaxseed; and OL: diet with flaxseed oil), it was found that the use of raw flaxseed, roast flaxseed and flaxseed oil resulted positively in vivo. There was a decrease in biochemical blood glucose, triglyceride and total cholesterol levels, and increase the fecal excretion and lipid excretion, no change in the growth of rats in treatments with flaxseed. The more positive data were detected in animals feed with the raw grain. By gas chromatography analysis was carried out of the grain and flaxseed oil lipid profile subjected to different processes involving high temperatures: raw grain (LC); grain baked in electric oven to 150°C for 40 minutes (L150); grain baked in electric oven to 180°C for 40 minutes (L180); grain heated in microwave oven (LM); flaxseed oil (OL) and flaxseed oil heated to 180°C for 30 minutes (OF). Changes in the saturated and unsaturated fatty acids were detected, but the flaxseed and the flaxseed oil remained significant amounts of polyunsaturated fatty acids, mainly of α -linolenic acid, in all treatments. Despite the minor benefits caused by flaxseed processing (baked grains or as oil), it was noted that part of α -linolenic acid remains in the food and is absorbed by the organism. In conclusion, it is possible to state that flaxseed is still quite stable when subjected to various processes involving high temperatures and it is an alternative source of α -linolenic acid. However more studies are needed to provide the appropriate doses for humans, according to the particular individual.

Keywords: *Linum usitatissimum L.*, flaxseed, biological response , rat, fatty acids.

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1 – Composição química (g%) do grão de linhaça.....	19
--	----

ARTIGO 1

TABELA 1 – Composição (g/kg) das rações oferecidas aos ratos.....	47
TABELA 2 – Composição química (g%) do grão e do óleo de linhaça e comparação com outros autores.....	48
TABELA 3 – Ganho de peso total, consumo diário, excreção diária durante o período experimental e peso dos órgãos (g de órgão/100g de peso corporal) dos animais recebendo diferentes rações com linhaça.....	49
TABELA 4 – Produção de fezes úmidas totais (PFU), produção de fezes secas totais (PFS), teor de umidade nas fezes (UF), teor de lipídio fecal (TLF) e teor de lipídio absorvido no processo experimental de nutrição de animais via diferentes rações com linhaça.....	50
TABELA 5 – Parâmetros bioquímicos dos animais recebendo diferentes rações com linhaça.....	51

ARTIGO 2

TABELA 1 – Teor lipídico, em 100g, de linhaça submetida a diferentes temperaturas.....	68
TABELA 2 – Composição de ácidos graxos saturados (AGS) do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes tratamentos, em g de ácido graxo/100g de alimento	69
TABELA 3 – Composição de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes tratamentos, em g de ácido graxo/100g de alimento	70

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Plantio de linhaça, no interior do Rio Grande do Sul, Brasil	17
FIGURA 2 – Grão de linhaça marrom e grão de linhaça dourada.....	20
QUADRO 1 – Efeitos biológicos do n-3 citados na literatura.....	22

ARTIGO 2

FIGURA 1 – Concentração, em 100g de alimento, de ácidos graxos saturados totais (AGS), ácidos graxos monoinsaturados totais (AGMI) e ácidos graxos poliinsaturados totais (AGPI) nos tratamentos submetidos a diferentes temperaturas.....	71
FIGURA 2 – Relação n-6:n-3, em 100g de alimento, nos tratamentos submetidos a diferentes temperaturas.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGMI: ácidos graxos monoinsaturados;
AGPI: ácidos graxos poliinsaturados;
AGS: ácidos graxos saturados;
AIN: *American Institute of Nutrition*;
AL: ácido linoléico;
ALA: ácido α -linolênico;
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*;
CEA: coeficiente de eficácia alimentar;
CLA: ácido linoléico conjugado;
CT: colesterol total;
DHA: ácido docosahexaenóico;
EJA: Ensino de Jovens e Adultos;
EPA: ácido eicosapentaenóico;
HDLc: *high-density low cholesterol*;
LA: ração com linhaça assada;
LC: ração com linhaça crua (Artigo 1) ou tratamento grão de linhaça *in natura* (Artigo 2);
LM: tratamento grão de linhaça aquecido em forno de microondas por 5 minutos;
L150: tratamento grão de linhaça assado em forno elétrico a 150°C por 40 minutos;
L180: tratamento grão de linhaça assado em forno elétrico a 180°C por 40 minutos;
NCI: *National Cancer Institute*;
n-3: ácidos graxos poliinsaturados da família n-3;
n-6: ácidos graxos poliinsaturados da família n-6;
OF: tratamento óleo de linhaça aquecido a 180°C por 30 minutos;
OL: ração com óleo de linhaça (Artigo 1) ou tratamento óleo de linhaça *in natura* (Artigo 2);
P: ração padrão conforme AIN isenta de linhaça;
PFS: produção de fezes secas totais;
PFU: produção de fezes úmidas totais;
PTN totais: proteínas totais;
SAS: *Statistical Analyses System*;
TACO: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos;

TG: triglicéridio;

TLF: teor de lipídio fecal;

UF: teor de umidade nas fezes;

USDA: *United States Department of Agriculture*.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Normas de publicação do periódico Revista de Nutrição.....	86
ANEXO B – Normas de publicação do periódico <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>	93

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Linhaça	17
2.1.1 Composição química.....	18
2.1.2 Linhaça como alimento funcional.....	21
2.1.3 Fatores antinutricionais.....	24
2.1.4 Derivados da linhaça.....	25
2.1.5 Estudos com linhaça e derivados em animais.....	25
2.1.6 Tratamento térmico.....	27
3 ARTIGOS CIENTÍFICOS	29
3.1 Artigo 1: Efeito da linhaça (<i>Linum usitatissimum L.</i>) sob diferentes formas de preparo na resposta biológica em ratos.....	30
3.2 Artigo 2: Análise do perfil lipídico da linhaça (<i>Linum usitatissimum L.</i>) submetida a diferentes temperaturas.....	52
4 DISCUSSÃO	73
5 CONCLUSÕES	76
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXOS	85
ANEXO A - Normas de publicação do periódico Revista de Nutrição.....	86
ANEXO B - Normas de publicação do periódico <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>	93

1 INTRODUÇÃO

A população mundial vem demonstrando, há algumas décadas, mais preocupação com a alimentação e seus constituintes. Várias doenças estão sendo vinculadas ao consumo de determinados alimentos, assim como rotineiramente surgem estudos e pesquisas mostrando que maior ou menor ingestão de outros podem prevenir ou tratar patologias. Segundo Moraes; Colla (2006): “a incidência de mortes devido a doenças cardiovasculares, câncer, acidente vascular cerebral, enfermidades hepáticas, desnutrição, entre outros, pode ser minimizada por meio de bons hábitos alimentares”.

Diante de tamanha exploração do assunto pela mídia e da incansável busca dos consumidores por dietas mais equilibradas, a indústria de alimentos está investindo na elaboração de produtos saudáveis e buscando os alimentos funcionais. Entre esses alimentos que podem ser considerados funcionais encontra-se a linhaça, uma pequena semente de formato oval, mas com grande valor nutritivo.

A linhaça é um grão oleaginoso, de cor marrom ou amarelo dourado, rico nos ácidos graxos poliinsaturados α -linolênico (ALA) e, em menor quantidade, linoléico (AL), além de conter teores significativos de proteína vegetal, lignanas, fibra alimentar solúvel e insolúvel, goma ou mucilagem, ácidos fenólicos, flavonóides, ácido fítico, vitaminas e minerais. Todas essas substâncias são consideradas importantes devido aos efeitos benéficos à saúde, reforçando as propriedades funcionais da linhaça (OOMAH; MAZZA, 2000; COLLINS et al., 2003; BOMBO, 2006; CHEN; XU; WANG, 2007).

Os ácidos α -linolênico e linoléico são considerados ácidos graxos essenciais e precursores dos demais ácidos das famílias n-3 e n-6, respectivamente. Ambos podem ser convertidos nos ácidos eicosapentaenóico e docosaheptaenóico, por sua vez transformados em eicosanóides com atividades imunomoduladoras. O consumo excessivo de n-6 e a alta relação n-6:n-3, comum atualmente na dieta ocidental, podem favorecer o desenvolvimento de quadros patológicos, tais como doenças cardiovasculares, cânceres, doenças auto-imunes e doenças inflamatórias, enquanto o aumento da ingestão de n-3 e conseqüente redução de n-6:n3 exerce o efeito oposto (WIESENFELD et al., 2003; SIMOPOULOS, 2008^a).

O grão de linhaça pode ser consumido *in natura*, inteiro ou moído, bem como pode ser acrescentado diretamente sobre alimentos ou ser utilizado como ingrediente na preparação de produtos de panificação, sobremesas e produtos cárneos. Ainda pode dar origem a outros

produtos, tais como farelo, goma e óleo, diversificando a forma de consumo (VILLARROEL; PINO; HAZBÚN, 2006; BOMBO, 2006).

Um ponto discutido por profissionais e pesquisadores da área de alimentos trata do aquecimento do grão e do óleo de linhaça e a conseqüente alteração das propriedades biológicas de ambos. Tamanha preocupação é referente, principalmente, às possíveis mudanças negativas do perfil lipídico, resultante da oxidação dos ácidos graxos com ligações duplas. A questão que se discute é se as temperaturas elevadas durante o forneamento ou fritura de produtos contendo linhaça diminuem, mantêm ou aumentam as propriedades funcionais do alimento, tendo em vista que o ALA e o AL são sensíveis à luz, ao aquecimento e à presença de oxigênio (WONG, 1995; ZHENG et al., 2005; VARLET et al., 2007).

Tendo em vista esta problematização, o presente trabalho tem como objetivo observar as propriedades funcionais da linhaça em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos, com ênfase na porção lipídica, uma vez que há divergências na literatura sobre a melhor forma de consumo. Nessa perspectiva, os objetivos específicos são:

- a) determinar a composição centesimal da linhaça;
- b) verificar possíveis diferenças na atividade biológica do grão (cru e assado) e do óleo de linhaça em ratos da linhagem *wistar*, por meio de ganho peso, coeficiente de eficácia alimentar, peso dos órgãos, produção de fezes e parâmetros bioquímicos; e
- c) analisar o perfil de ácidos graxos no grão e no óleo de linhaça submetidos a diferentes temperaturas e métodos de cocção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Linhaça

A linhaça (*Linum usitatissimum L.*) é uma planta pertencente à família das *Linaceas*, caracterizada por apresentar uma altura de 30 e 130 cm, talos eretos, folhas estreitas lineares ou lanceoladas, alternando entre verde e verde-claro. Entre seus nomes populares tem-se a linhaça e o linho. É uma planta originária da Ásia, possivelmente do Cáucaso, e cuja semente a humanidade tem consumido há milênios, incluindo, possivelmente, a Mesopotâmia e, posteriormente Europa, África, Ásia e América do Norte (PINTO, 2007).

A planta tem um talo principal do qual saem vários ramos onde nascem as folhas, as flores e as cápsulas. Da casca da planta é retirada a fibra do linho, matéria-prima para a fabricação de tecidos; e da cápsula se obtém a semente. Apesar de usada há milênios na alimentação humana, a maior parte do cultivo é destinada às indústrias de óleo para tintura e para ração animal. O plantio do linho (Figura 1) ocorre nos meses de maio e junho e a colheita se dá nos meses de novembro, dezembro e janeiro.



Figura 1 – Plantio de linhaça, no interior do Rio Grande do Sul, Brasil.
Fonte: Cisbra Alimentos, 2008.

Atualmente, o maior produtor mundial é o Canadá (BOMBO, 2006; CAMPOS, 2007). No estado do Rio Grande do Sul, no Brasil, o grão é cultivado em Ijuí, Tupanciretã, São Miguel das Missões, São Luiz Gonzaga, Giruá, Santa Rosa, Guarani das Missões, Três de Maio, Panambi, Santa Bárbara, Santo Augusto e proximidades.

2.1.1 Composição química

O grão de linhaça é composto, em 100g, por aproximadamente 35g de lipídio, 26g de proteína, 14g de fibra alimentar, 12g de mucilagem, 9g de água e 4g de cinzas, as quais são constituídas por 0,7g de potássio, 0,7g de fósforo, 0,3g de magnésio, 0,2g de cálcio, 0,2g de enxofre, entre outros (CORREIA, 2001). Outros valores da composição da linhaça são apresentados na Tabela 1.

Os principais constituintes do grão são:

a) Lipídios: a linhaça é rica nos ácidos graxos poliinsaturados das famílias n-3 (α -linolênico ou ALA e di-homo-alfa-linolênico), e em menor quantidade nos da família n-6 (linoléico ou AL, gama-linolênico e eicosadienoico). Também contém ácidos graxos monoinsaturados (palmitoléico, oléico, gadoléico, erúcico e nervônico) e saturados (cáprico, láurico, mirístico, pentadecílico, palmítico, margárico, esteárico, araquídico, behênico e lignocérico) (NEPA-UNICAMP, 2006; USDA, 2007).

b) Proteína: a linhaça é uma boa fonte de proteína vegetal, principalmente dos aminoácidos metionina e cisteína. Tem como aminoácidos limitantes lisina, treonina e tirosina. Seu valor nutritivo é comparável à soja e, além disso, uma característica das proteínas da linhaça é serem pouco solúveis em água (OOMAH; MAZZA, 2000).

c) Polissacarídeos: podem ser divididos em lignanas, fibra alimentar e goma ou mucilagem. Em se tratando das lignanas, a linhaça é considerada a sua maior fonte alimentar (CAMPOS, 2007). Lignanas são fitoestrógenos presentes nas paredes celulares dos vegetais e que apresentam, nos humanos, propriedades anticarcinogênicas e antioxidantes. As lignanas encontradas na linhaça - secoisolariciresinol e matairesinol - são convertidas por ação bacteriana no trato gastrointestinal à enterolactona e enterodiol (OOMAH; MAZZA, 2000; BOMBO, 2006). Por serem semelhantes ao estrogênio, as lignanas também têm sido relacionadas positivamente à menopausa e ao câncer de mama. Em um estudo realizado em Santa Maria – RS, com 30 mulheres, 36,4% tiveram os sintomas da menopausa aliviados, consumindo 10g/dia do grão de linhaça (COLPO et al., 2006).

Tabela 1 – Composição química (g%) do grão de linhaça.

	Grão*	Grão**	Grão***
Umidade (g%)	9,0	6,7	7,0
Cinzas (g%)	-	3,7	3,7
Proteína (g%)	26,0	14,1	18,3
Lipídio (g%)	35,0	32,3	42,2
Fibra alimentar (g%)	14,0	33,5	27,3
Carboidratos (g)	-	43,3	28,9
Cálcio (mg)	-	211,0	255,0
Fósforo (mg)	-	615,0	642,0
Ferro (mg)	-	4,7	5,7
Magnésio (mg)	-	347,0	392,0
Potássio (mg)	-	869,0	813,0
Sódio (mg)	-	9,0	30,0

*Oomah; Mazza, 2000; ** NEPA; UNICAMP, 2006.; ***USDA, 2007.

Já a fibra alimentar do grão de linhaça apresenta boa proporção entre fibra solúvel e insolúvel (BOMBO, 2006). A fibra insolúvel aumenta o volume das fezes pela sua própria massa e também pela água que mantém ligada ou adsorvida, sendo benéfica no tratamento da constipação, da síndrome do intestino irritável e da doença diverticular (TARPILA; WENBERG; TARPILA, 2005). Por outro lado, sabe-se que as fibras solúveis são em parte fermentadas pelas bactérias do cólon e que desempenham, no organismo, atividades hipoglicemiantes, hipocolesterolêmicas e hipotriglicéidêmicas, além de atuarem na prevenção da obesidade, aumentando o poder de saciedade da refeição e ativando o metabolismo (RUIZ-ROSO, 2000; FILISETTI, 2007; CAMPOS, 2007). Pesquisas demonstram, por exemplo, que mulheres na menopausa que consumiram 40g/dia de linhaça triturada tiveram um decréscimo médio de 5,3% na glicose sanguínea (LEMAY et al., 2002).

A goma ou mucilagem, por sua vez, é um polissacarídeo heterogêneo, formado por xilose, arabinose, glicose, galactose, ácido galacturônico, ramnose e fucose, que compõe aproximadamente 8% do peso do grão e geralmente é extraída da torta de linhaça (CHEN; XU; WANG, 2006). Suas propriedades reológicas e de interação com a proteína têm sido

investigadas com o intuito de usá-la como geleificante e espessante na indústria de alimentos (CHEN; XU; WANG, 2007).

Fazem parte ainda da composição do grão os ácidos fenólicos (antioxidantes, antimicrobianos e anticancerígenos), os flavonóides (inibem a peroxidação lipídica, a agregação plaquetária, a permeabilidade e a fragilidade capilar e a atividade de determinados sistemas enzimáticos, como a lipoxigenase) e o ácido fítico (principal forma de armazenamento de fosfato das plantas). Embora em pequenas quantidades, essas substâncias também são consideradas importantes devido aos efeitos benéficos à saúde, reforçando as propriedades funcionais da linhaça (OOMAH; MAZZA, 2000).

Também é importante mencionar que muito tem se falado na semente de linhaça dourada e que a linhaça marrom não teria as mesmas propriedades (Figura 2). Na verdade, uma não é melhor do que a outra: ambas são ricas em lignanas e fibras dietéticas. A marrom é cultivada em regiões de clima quente e úmido, como o Brasil, e a dourada é plantada em regiões frias como o Canadá e o norte dos Estados Unidos. No cultivo da linhaça marrom são utilizados agrotóxicos, enquanto a dourada é cultivada de forma orgânica (CAMPOS, 2007).



Figura 2 – Grão de linhaça marrom e grão de linhaça dourada.

Fonte: www.images.google.com.br.

2.1.2 Linhaça como alimento funcional

Inúmeras são as definições de alimento funcional. Segundo Moraes; Colla (2006), “os alimentos funcionais devem estar na forma de alimento comum, serem consumidos como parte da dieta e produzir benefícios específicos à saúde, tais como a redução do risco de diversas doenças e a manutenção do bem-estar físico e mental”. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou os alimentos funcionais por meio das Resoluções 18/99 e 19/99. Entre os pontos abordados, destaca-se que nenhum alimento comercializado possa fazer referência à cura ou à prevenção de doenças, sendo aceitos somente os termos “redução de risco” e “benefícios à saúde” (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b).

A ação da linhaça como alimento funcional há tempos vem sendo investigada. Contudo, é importante salientar que a alegação de propriedade funcional deve ser embasada cientificamente. E, nesses termos, a linhaça pode ser classificada, sim, como alimento funcional, uma vez que há comprovações científicas de seus benefícios à saúde (ROBERFROID, 2002). Além disso, o grão foi eleito pelo *National Cancer Institute* (NCI) como uma das seis principais plantas e/ou sementes a serem estudadas, tendo em vista o interesse na proteção ao câncer (OOMAH; MAZZA, 2000). Já no Brasil, os cadernos didáticos do Ensino de Jovens e Adultos (EJA), por exemplo, trazem, entre seus textos, um intitulado “Semente de linhaça na alimentação natural”, com o objetivo de introduzir o conceito de alimento funcional e de fazer com que os alunos conheçam os benefícios potenciais da linhaça à saúde (MAZZEU; DEMARCO; KALIL, 2007).

Entre os vários constituintes da linhaça, destacam-se os ácidos graxos poliinsaturados α -linolênico (ALA), que compõem cerca de 20% do peso do grão, e em menor quantidade o ácido linoléico (AL), com aproximadamente 6g% (USDA, 2007). O ALA e o AL são considerados ácidos graxos essenciais e precursores dos demais ácidos das famílias n-3 e n-6, respectivamente. O ALA, entre suas diversas funções biológicas, é usado como fonte energética e matéria-prima do tecido nervoso e de substâncias que regulam a pressão arterial/frequência cardíaca, a coagulação, a dilatação vascular e a lipólise (YOUDIM; MARTIN; JOSEPH, 2000; MARTIN et al., 2006). As funções biológicas dos ácidos graxos da família n-3 são mostradas no Quadro 1.

Tanto o ALA como o AL podem ser convertidos nos ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), que por sua vez são transformados em prostaglandinas e leucotrienos, com atividades imunomoduladoras. Esses processos são

mediados pelas enzimas elongases e dessaturases. Como as mesmas enzimas fazem as conversões tanto de ALA como de AL, tem-se como resultado uma competição metabólica entre os dois grupos (WIESENFELD et al., 2003). O ácido linoléico pode ainda ser metabolizado em ácidos gama-linolênico e araquidônico (YOSHIARA, 2007).

Efeitos biológicos atribuídos aos ácidos graxos n-3
Modulação da síntese e metabolismo dos eicosanóides derivados do ác. araquidônico
Redução na produção de leucotrienos
Reserva como precursor para a síntese de lipídios cerebrais
Alívio de sintomas clínicos neurológicos
Proteção contra doenças cardiovasculares e infarto do miocárdio
Controle da pressão arterial
Diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídios séricos
Redução da mortalidade por câncer
Possíveis efeitos antitrombogênicos e antiarrítmicos
Inibição da proliferação de linfócitos
Diminuição no crescimento de tumores
Atividades antiparasíticas e antimaláricas
Essencial para o desenvolvimento neurológico ótimo em seres humanos

Quadro 1 – Efeitos biológicos do n-3 citados na literatura.

Fonte: Adaptado de Oomah; Mazza, 2000.

O consumo excessivo de n-6 e a alta relação n-6:n-3 podem favorecer o desenvolvimento de quadros patológicos, tais como doenças cardiovasculares, cânceres, doenças auto-imunes e doenças inflamatórias, enquanto o aumento da ingestão de n-3 e conseqüente redução de n-6:n3 exercem o efeito oposto (SIMOPOULOS, 2008a). As conseqüências negativas relacionadas ao alto consumo de n-6 são devidas à produção excessiva de ácido araquidônico e seus produtos eicosanóides, assim como pela diminuição na produção de EPA e de DHA provenientes do ácido α -linolênico (TARPILA; WENNERBERG; TARPILA, 2005). Em comparação a essas condições, a dieta ocidental possui, atualmente, relação elevada de n-6:n-3, com 15:1, 16,7:1. Razões menores têm sido relacionadas a melhorias da qualidade de vida: 4:1 foi associada com redução de 70% nas mortes por

doenças cardiovasculares, 2,5:1 reduziu a proliferação de células cancerosas em pacientes com neoplasia colorretal, 2-3:1 diminuiu a inflamação em pacientes com artrite reumatóide, e uma relação 5:1 foi benéfica para asmáticos. Uma razão n-6:n-3 ótima varia de indivíduo para indivíduo e de acordo com o seu quadro de saúde (YOSHIARA, 2007; SIMOUPOLOS 2008b).

Com base na forte relação entre alimentação e doenças crônico-degenerativas não transmissíveis, o conteúdo dos alimentos vem sendo intensamente investigado por cientistas em todo o mundo. Não é de hoje, porém, que o tema tem sido alvo de pesquisa. Estudos para determinar os efeitos do colesterol no sangue datam de 1950 e já mostravam que dietas com diferentes teores e fontes lipídicas podem modular os níveis plasmáticos de colesterol, dependendo da composição dos ácidos graxos ingeridos (CHANG et al., 2004).

Cintra et al. (2006) avaliaram os efeitos de dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados (provenientes do amendoim), em ácidos graxos poliinsaturados (compostas por linhaça ou truta) e em ácidos graxos saturados (com pele de galinha) no perfil lipídico de ratos. A dieta contendo linhaça foi considerada a mais eficiente para diminuir o colesterol total e os níveis de triglicerídios séricos bem como para manter íntegro o parênquima hepático. Além disso, houve maior liberação de lipídios pelas fezes nos animais que receberam a ração rica no grão, assim como menor deposição hepática de gordura se comparado aos outros tratamentos. Os autores atribuíram os resultados ao grande conteúdo de n-3, à presença de lignanas e de fibra solúvel na linhaça.

Vijaimohan et al. (2006), por sua vez, observaram que ratos recebendo óleo de linhaça via oral (1g/kg peso) por 60 dias não apresentaram alterações histológicas no tecido hepático, com reduzida deposição de gordura nos hepatócitos. Já Collins et al. (2003) verificaram a diminuição na relação fígado/peso corporal em ratas recém desmamadas alimentadas com linhaça. O ALA aumenta a secreção de colesterol na bile, conduzindo à depleção do *pool* intra-hepático de colesterol, conseqüentemente aumentando a síntese e o *turnover* de colesterol (MORISE et al., 2004). Além disso, o ALA reduz o acúmulo hepático de lipídios por estimular a β -oxidação, inibindo a síntese de ácidos graxos e de triglicerídios (MURASE et al., 2005; CINTRA et al., 2006). Bhatena et al. (2003) avaliaram o consumo de farinha de linhaça e proteína de soja em ratos obesos, constatando maior diminuição do triglicerídio sérico nos animais alimentados com a farinha.

O decréscimo do colesterol plasmático pela administração do óleo de linhaça é relacionado com a diminuição do colesterol livre, do colesterol esterificado, assim como com a menor relação n-6:n-3 (WIESENFELD et al., 2003; CINTRA et al., 2006). Em adição ao

efeito hipocolesterolêmico, a linhaça pode atuar diretamente sobre as paredes de vasos e artérias, prevenindo a aterosclerose. Afinal, o efeito hipocolesterolêmico da linhaça tem importantes implicações terapêuticas em pacientes dislipidêmicos, sendo que estudos em humanos têm mostrado que o consumo de 40 a 50g/dia reduz o colesterol sérico entre 5 e 9% (BHATHENA et al., 2003; LUCAS et al., 2004).

Neto et al. (2007) analisaram as possíveis modificações na população de mastócitos (célula do tecido conjuntivo responsável pelo início da reação inflamatória e cronificação do processo) de ratos com colite experimental alimentados com diferentes emulsões lipídicas, com óleo de linhaça, óleo de soja e óleo de canola. Apesar do número médio de mastócitos não apresentar diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), a redução no número médio dessas células nos grupos alimentados com óleo de linhaça e óleo de canola foi clinicamente relevante, havendo a possibilidade de obter-se modulação mais efetiva da inflamação com emulsões lipídicas desses óleos.

As evidências mostradas apontam a necessidade urgente de equilibrar o consumo de ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, buscando alternativas para a modificação do perfil lipídico dos alimentos industrializados, reduzindo os riscos à saúde da população. Não basta, no entanto, aumentar o conteúdo de ALA ou outros ácidos graxos n-3 nos alimentos: é necessário garantir que eles se mantenham disponíveis até o momento do consumo.

2.1.3 Fatores antinutricionais

As controvérsias a respeito dos benefícios da linhaça se dão, em parte, por sua complexa natureza. O grão de linhaça contém nutrientes, não-nutrientes e antinutrientes. Os nutrientes e não-nutrientes podem ter efeitos benéficos e/ou adversos, dependendo da dose e do tempo de exposição. Na linhaça está presente a linatina, uma substância que se liga à vitamina B₆, impedindo sua absorção e levando à deficiência da vitamina. Outros antinutrientes são a linustatina, uma substância cianogênica, e o ácido fítico, considerado antagonista à absorção de minerais como zinco e cálcio (WIESENFIELD et al., 2003). Essas substâncias, no entanto, não são consideradas prejudiciais à saúde por estarem presentes em pequenas dosagens. Além disso, o tratamento térmico elimina os compostos cianogênicos (Oomah, 1992 apud BOMBO, 2006).

Segundo a USDA (2007), de 1 a 12% de linhaça podem ser consumidos diariamente sem riscos à saúde.

2.1.4 Derivados da linhaça

O grão de linhaça pode ser consumido *in natura*, inteiro ou moído, e acrescentado diretamente sobre alimentos tais como as frutas, o leite ou o iogurte. Também pode ser utilizado como ingrediente na preparação de bolos, pães, biscoitos, feijão, barras de cereal e produtos cárneos (VILLARROEL; PINO; HAZBÚN, 2006; BOMBO, 2006). Além dessas alternativas, há ainda produtos derivados da linhaça, como por exemplo, óleo, farelo e goma.

Em um estudo realizado por Faintuch et al. (2006), 30 g/dia de farelo de linhaça dourada foram administradas, com igual oferta placebo de farinha de mandioca, durante duas semanas, em um grupo de pacientes obesos candidatos à cirurgia bariátrica (n = 40) no Hospital de Clínicas de São Paulo. O peso corporal e os índices bioquímicos dos indivíduos que receberam o farelo de linhaça permaneceram estáveis, entretanto houve redução significativa das proteínas de fase aguda (proteína C reativa e seroamilóide). É comum em pacientes obesos os valores das proteínas de fase aguda estarem acima dos valores considerados padrão, com conseqüências metabólicas e cardiovasculares não desejáveis, tais como inflamação endotelial e posterior arteriosclerose.

Já a goma, substância viscosa facilmente extraída do grão, possui boa capacidade de retenção hídrica, podendo ser usada como substituta da goma arábica em diversas preparações (CHEN; XU; WANG, 2006) e como substituta do ovo na alimentação de indivíduos vegetarianos (BOMBO, 2006).

O grão de linhaça tem aproximadamente 40% do seu peso composto por óleo e sua extração é feita geralmente a frio. Ao contrário da maioria dos óleos vegetais que são boas fontes de n-6 (ácido linoléico), o óleo de linhaça é rico em n-3, entre os quais se destaca o ALA (CHOO; BIRCH; DUFOUR, 2007). O óleo de linhaça via oral também tem sido estudado como forma alternativa do tratamento do olho seco em pacientes portadores da Síndrome de *Sjögren*, por diminuir a inflamação da superfície ocular (PINHEIRO JR. et al., 2007).

2.1.5 Estudos com linhaça e derivados em animais

Vários estudos têm sido realizados com animais alimentados com linhaça, geralmente com o intuito de modificar a composição de ácidos graxos da carcaça ou de produtos deles oriundos, tais como leite e ovos, assim como para analisar as propriedades funcionais do

linho. Experimentos com rações suplementadas com linhaça têm sido realizados nas mais diversas espécies, entre as quais coelhos, peixes, galinhas e ruminantes.

Weber et al. ([200-]) alimentaram coelhos com dieta hipercolesterolêmica suplementada com linhaça (controle, 10% linhaça, 0,5% colesterol e 0,5% colesterol + 10% linhaça) e após 8 semanas procederam ao sacrifício e à dissecação da artéria aorta dos animais. Tendo em vista que o relaxamento vascular é prejudicado pelo excesso de colesterol ingerido, que causa lesão endotelial e conseqüente defeito da capacidade de vasodilatação, os autores observaram, no experimento, que esse mecanismo foi amenizado com a suplementação de linhaça na ração dos coelhos hipercolesterolêmicos.

Pita et al. (2004) mostraram que galinhas alimentadas com 20% de semente de linhaça tiveram uma piora na conversão alimentar, apresentando redução no peso, na produção, na espessura da casca e no peso da casca do ovo. Em um estudo posterior, no entanto, Pita et al. (2006) analisaram a influência de diferentes fontes de ácidos graxos insaturados e da suplementação de vitamina E (6% óleo de canola, 20% de linhaça moída ou 3% de óleo de canola + 10% de linhaça moída, com diferentes quantidades de vitamina E) sobre os ácidos graxos da gema de ovos de 288 poedeiras *Babcock*. A dieta com 20% de linhaça resultou em teores mais elevados de ácidos graxos poliinsaturados (principalmente ALA e EPA), além de diminuir o ácido araquidônico. A vitamina E, por sua vez, diminuiu a incorporação de ácidos graxos saturados na gema.

Em um outro experimento, cordeiros Santa Inês puros e ½ Dorset ½ Santa Inês (n = 24) foram divididos em quatro grupos e alimentados com dietas isoprotéicas e isoenergéticas, contendo diferentes fontes de óleo vegetal (óleo de soja, óleo de canola e óleo de linhaça) e uma dieta controle (sem adição de óleo vegetal). Os animais foram abatidos ao atingirem 30 kg, sendo avaliado o rendimento dos cortes e dos não-componentes das carcaças (sistema digestivo, pele, sangue, cabeça, patas, cauda, pulmões, traquéia, fígado, coração, rins, gorduras omental, mesentérica, renal e pélvica, baço, aparelho reprodutor, bexiga). As porcentagens dos cortes não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) em relação às dietas e aos grupos genéticos estudados (YAMAMOTO et al., 2004). Em contrapartida, Zhang; Mustafá; Zhao (2006) analisaram o leite e o queijo produzidos a partir de 120 ovelhas (*Suffolk* × *East Friesian*) alimentadas com rações suplementadas com 0, 9, 18 e 26% de linhaça, concluindo que as concentrações de ácido linoléico conjugado (CLA) e de ALA aumentaram linearmente com a suplementação de linhaça. Os efeitos encontrados no leite se mantiveram nos queijos.

Já para a nutrição de peixes cultivados utiliza-se na ração o óleo de peixe marinho como fonte de ácidos graxos essenciais, porém com a estagnação dos recursos pesqueiros, seu

custo elevado tem incentivado a procura por fontes alternativas para este ingrediente, como os óleos vegetais de linhaça e canola (SOUZA; ANIDO; TOGNON, 2007). Tilápias receberam cinco tratamentos com óleo de linhaça, em diferentes quantidades, com o objetivo de investigar o efeito dessas rações no teor de colesterol e na composição centesimal dos filés dos peixes. Os níveis de colesterol ficaram próximos a outras espécies de peixes, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (VISENTAINER et al., 2005).

2.1.6 Tratamento térmico

Um ponto discutido por profissionais e pesquisadores da área de alimentos trata do aquecimento do grão e do óleo de linhaça e de sua relação com a alteração do perfil lipídico, resultante principalmente da oxidação dos ácidos graxos com várias insaturações. A questão em pauta é se as temperaturas elevadas durante o forneamento ou fritura de produtos contendo linhaça diminuem, mantêm ou aumentam as propriedades funcionais do alimento. Isso porque o ALA e o AL são sensíveis à luz, ao aquecimento e à presença de oxigênio. Os ácidos graxos sofrem termooxidação quando expostos a temperaturas entre 120°C e 270°C, razão pela qual a extração do óleo geralmente ocorre a frio. A velocidade de oxidação depende do grau de insaturação do ácido graxo: quanto maior o número de duplas ligações, maior a suscetibilidade à reação. Podem ocorrer mudanças químicas na fração lipídica oriundas do processo oxidativo, com a produção de substâncias indesejáveis (tais como peróxidos, radicais livres e mudanças na configuração *cis-trans*), assim como reações com outros constituintes dos alimentos. Na tentativa de se manter estável o teor de ácidos graxos poliinsaturados, os processos envolvendo temperatura, luz e oxigênio devem ser minimizados o quanto for possível (WONG, 1995; ZHENG et al., 2005; VARLET et al., 2007).

Para verificar qual o melhor método de cocção no preparo de alimentos e assegurar o consumo de n-3, Yoshiara (2007) analisou filés de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas por 45 dias com ração peletizada suplementada com óleo de linhaça. Entre as amostras, preparadas no cozimento em água, fritura por imersão, assado em forno convencional e em forno de microondas, observou-se um aumento no teor de lipídios quando comparados os crus com os tratados em base seca, provavelmente pela maior extração de lipídios das amostras tratadas. O método de cocção considerado mais indicado para o consumo de alimentos com n-3 foi o assado em forno de microondas, pois apresentou maior destruição de n-6 e aumentou os teores de n-3.

Yoshida et al. (2006) estudaram o efeito da tostagem em microondas sobre a estabilidade oxidativa em sementes de abóbora (*Curcubita sp.*). As sementes foram submetidas a uma frequência de 2450MHz (potência máxima) por 6, 12, 20 e 30 minutos e as diferenças significativas nos teores de ácidos graxos foram observadas apenas após 20 minutos de tostagem. Em poucos casos, a irradiação por 12 minutos causou alteração nos teores de ácidos graxos poliinsaturados.

Uma característica importante e ainda controversa do grão de linhaça é a estabilidade ao longo do tempo. Aguiar et al. (2007) avaliaram o comportamento da porção lipídica na linhaça moída estocada à temperatura ambiente e sob refrigeração, nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias, não havendo formação de peróxidos ou alteração significativa nas concentrações de ALA e AL. Já Cämmerer; Kroh (2009), avaliando a influência da torrefação em grãos de linhaça e em amendoim, concluíram que as altas temperaturas favorecem o início dos processos de rancificação na linhaça.

3 ARTIGOS CIENTÍFICOS

3.1 Artigo 1

Artigo em fase final de revisão para ser submetido à Revista de Nutrição

(Configuração conforme normas da revista – ANEXO A)

EFEITO DA LINHAÇA (*Linum usitatissimum L.*) SOB DIFERENTES FORMAS DE PREPARO NA RESPOSTA BIOLÓGICA EM RATOS

SHORT TITLE: LINHAÇA NA RESPOSTA BIOLÓGICA EM RATOS.

FLAXSEED IN BIOLOGICAL RESPONSE IN RATS.

MARQUES, Anne y Castro*.

* Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria – RS.

Endereço para correspondência:

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, Sala 3135A,
Santa Maria, RS, Brasil. CEP 97105-900.

Email: annezita@gmail.com. Telefone: (55) 3220-8306.

RESUMO

Objetivo: Verificar as possíveis atividades biológicas, em ratos recém desmamados, causadas pelo consumo diário de linhaça em diferentes condições de preparo.

Métodos: Ratos *wistar* machos (n=32) com 21 dias, divididos em 4 tratamentos: ração padrão (P); ração com grão de linhaça cru (16%) e óleo de linhaça (LC); ração com grão de linhaça assado (16%) e óleo de linhaça (LA); e ração com óleo de linhaça (OL). As cobaias foram pesadas a cada três dias e, após 23 dias de período experimental, foram sacrificadas por punção cardíaca. O soro foi utilizado para realização dos exames bioquímicos, e os órgãos foram pesados. As fezes foram coletadas para análise dos teores de umidade, lipídio excretado e lipídio absorvido.

Resultados: Ganho de peso total, consumo e coeficiente de eficácia alimentar não apresentaram diferença estatística entre os grupos. A excreção diária, o teor de umidade das fezes, a quantidade de lipídio fecal e de lipídio absorvido foram maiores nos grupos LC e LA, sendo as fezes compostas por mais quantidades de água e de lipídio. Todos os grupos tiveram o peso do fígado menor do que o controle (P). Com exceção do HDL colesterol, todos os parâmetros bioquímicos avaliados apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Conclusão: O consumo de linhaça, seja como grão cru, assado ou óleo, possui atividade biológica positiva em ratos, destacando-se como hipotrigliceridêmica, hipocolesterolêmica, hipoglicêmica e por aumentar o bolo fecal. Pode-se inferir que parte do ácido alfa-linolênico permanece no alimento e é absorvido pelo organismo.

Palavras-chave: linhaça, ratos, ácido alfa-linolênico.

ABSTRACT

Objective: Verify the possible biological activities in newly weaned rats, caused by the intake of flaxseed in different conditions of preparation.

Methods: Wistar male rats (n=32) with 21 days, divided into 4 treatments: standard diet (P); diet with raw flaxseed (16%) and flaxseed oil (LC); diet with roasted flaxseed (16%) and flaxseed oil (LA), and diet with flaxseed oil (OL). The animals were weighed every three days and, after 23 days of the trial period, were killed by heart puncture. The serum was used for carrying out the biochemical tests, and the organs were weighed. The faeces were collected for moisture, absorption lipid and excretion lipid analyses.

Results: Total body weight gain, consumption and food efficiency coefficient didn't show statistical difference between the groups. The daily excretion, the faeces moisture, the amount of fecal lipid and lipid absorbed were higher in groups LC and LA, and the faeces are more quantities of water and lipid. All groups had the liver weight less than the control (P). With the exception of HDL cholesterol, all biochemical parameters evaluated showed differences between treatments.

Conclusion: The flaxseed intake, either as raw grain, roasted grain or oil, have positive biological activity in rats, such as decreasing triglyceride, cholesterol and blood glucose levels and increasing the fecal bulk. One can infer that the alpha-linolenic acid remains in the food and it is absorbed by the organism.

Keywords: flaxseed, rats, alpha-linolenic acid.

INTRODUÇÃO

Linum usitatissimum L., popularmente conhecida como linhaça ou linho, é uma planta cuja altura varia entre 30 e 130 cm e cujos talos são eretos e as folhas, estreitas. Pertencente à família das *Lináceas*, a linhaça é originária da Ásia, possivelmente do Cáucaso¹. Da casca da planta é retirada a fibra do linho, matéria-prima para a fabricação de tecidos, e da cápsula se obtém a semente. Apesar de usada há milênios na alimentação humana, a maior parte do seu cultivo é destinada às indústrias de óleo para tintura e para ração animal²⁻³.

O grão de linhaça é rico nos ácidos graxos poliinsaturados α -linolênico (ALA, 18:3n-3) e, em menor quantidade, linoléico (AL, 18:2n-6). O ALA e o AL podem ser convertidos em ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) os quais, por sua vez, são transformados em prostaglandinas e leucotrienos, com atividades imunomoduladoras. Além disso, o ALA constitui-se como fonte energética e matéria-prima do tecido nervoso bem como de substâncias que regulam a pressão arterial/frequência cardíaca, a coagulação, a dilatação vascular e a lipólise⁴⁻⁵. Do mesmo modo, estudos correlacionam o conteúdo cerebral de DHA com a capacidade de aprendizagem, com o nível de inteligência e com o desenvolvimento neurológico de recém-nascidos e crianças⁶.

Segundo Oomah & Mazza⁷, outros ácidos graxos que constituem a porção lipídica da linhaça são os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0) e oléico (18:1n-9). A linhaça também contém proteína vegetal (com alta concentração dos aminoácidos metionina e cisteína), lignanas (fitoestrógenos com propriedades anticarcinogênicas, antioxidantes e relacionados positivamente aos sintomas da menopausa e ao câncer de mama), fibras alimentares (com boa proporção entre fibra solúvel e insolúvel), goma ou mucilagem (de grande interesse na tecnologia de alimentos), ácidos fenólicos (antioxidantes, antimicrobianos e anticancerígenos), flavonóides (inibidores da peroxidação lipídica, da agregação plaquetária, da permeabilidade capilar e da atividade de determinados sistemas enzimáticos, como a lipoxigenase), ácido fítico (principal forma de armazenamento de fosfato das plantas), vitaminas (B₁, B₂, C, E, caroteno) e minerais (ferro, zinco, potássio, magnésio, fósforo, cálcio). Embora em quantidades menores do que os ácidos graxos, essas substâncias também são consideradas importantes devido aos efeitos benéficos à saúde, reforçando as propriedades funcionais da linhaça^{2,7-9}. Segundo a USDA¹⁰, 1 a 12% de linhaça pode ser usada como ingrediente na alimentação, sem riscos à saúde.

O grão de linhaça pode ser consumido *in natura*, inteiro ou moído, e acrescentado diretamente sobre alimentos tais como as frutas, o leite ou o iogurte. Também pode ser utilizado como ingrediente na preparação de bolos, pães, biscoitos, sobremesas, feijão e produtos cárneos^{2,11} e, além dessas alternativas, há ainda produtos derivados da linhaça, como por exemplo, farelo, goma e óleo. O grão de linhaça tem aproximadamente 40% do seu peso composto por óleo e sua extração é feita a quente ou a frio. Ao contrário da maioria dos óleos vegetais que são boas fontes de AL, o óleo de linhaça é rico em ácido α -linolênico¹², no entanto, apesar de presente em grande quantidade, o ALA é facilmente oxidável, o que causa deterioração e perda de qualidade.

Um ponto discutido por profissionais e pesquisadores da área de alimentos trata do aquecimento e da moagem do grão de linhaça e sua relação com a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados. A questão que se coloca é se as temperaturas elevadas durante o forneamento ou fritura de produtos contendo linhaça diminuem, mantêm ou aumentam as propriedades funcionais do alimento. O ALA é sensível à luz, ao aquecimento e à presença de oxigênio, por isso a extração do óleo geralmente ocorre a frio. Na tentativa de se manter estável o teor de ácidos graxos poliinsaturados, os processos envolvendo temperatura devem ser minimizados o quanto for possível¹³⁻¹⁴. Tendo em vista as propriedades funcionais da linhaça e as modificações que podem ocorrer em seus constituintes durante o processamento, este trabalho teve como objetivo verificar as possíveis atividades biológicas, em ratos recém desmamados, causadas pelo consumo diário de linhaça em diferentes condições de preparo.

MATERIAL E MÉTODOS

Grãos e óleo de linhaça

O grão e o óleo de linhaça foram fornecidos pela empresa Cisbra, de Panambi – RS, e ambos pertenciam a lotes únicos. O óleo extraído a frio foi embalado e armazenado em frascos plásticos próprios para óleos vegetais. A linhaça em grãos foi utilizada triturada crua e assada, a qual sofreu tratamento térmico em forno elétrico a 180°C, por 40 minutos (em forno pré-aquecido por 5 minutos a 180°C), antes da moagem.

Análises químicas

As análises de umidade, cinzas, proteína bruta e fibra alimentar do grão cru foram realizadas de acordo com as técnicas descritas pela AOAC¹⁵. O teor lipídico foi obtido a partir do método de *Soxhlet*, usando-se éter de petróleo¹⁶. O teor de carboidratos, por sua vez, foi determinado por diferença. Já o teor de lipídios do óleo foi obtido por diferença do conteúdo de umidade após 12 horas em estufa a 105°C. As análises foram realizadas em triplicata, nos laboratórios do Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos - DTCA e no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais - NIDAL, ambos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Tratamentos

Além da ração padrão elaborada conforme as recomendações do *American Institute of Nutrition* – AIN¹⁷, foram produzidas outras três dietas com substituição parcial dos ingredientes óleo de soja, celulose microcristalina e caseína por grão e/ou óleo de linhaça, equilibrando os macronutrientes e o valor energético em todos os tratamentos (Tabela 1). Ajustou-se o conteúdo calórico das dietas pela variação na quantidade de amido de milho¹⁸.

Os tratamentos foram divididos em: ração padrão (P); ração com linhaça crua (16%) e óleo de linhaça (LC); ração com linhaça assada (16%) e óleo de linhaça (LA); e ração com óleo de linhaça (OL). A quantidade de linhaça utilizada foi de 16% para não extrapolar as quantidades de fibras e proteínas das dietas suplementadas com o grão, e o óleo de linhaça foi adicionado para se alcançar o equilíbrio lipídico entre os tratamentos.

Os ingredientes da ração foram peneirados três vezes para que as dietas ficassem homogêneas e com a mesma granulometria. Apesar de conterem antioxidante (TBHQ), as rações foram preparadas semanalmente, divididas em pacotes de 1kg e conservadas sob refrigeração, com o intuito de minimizar a oxidação lipídica dos ácidos graxos poliinsaturados.

Animais e protocolo experimental

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFSM, sob o Processo nº23081.000890/2008-68. Os grupos foram compostos por 8 ratos machos da linhagem *Wistar*, totalizando 32 animais, recém desmamados, com 21 dias de idade, peso médio de $67,75 \pm 4,93$ g, procedentes do Biotério da UFSM, distribuídos aleatoriamente. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais equipadas com bebedouro, comedouro e bandeja para coleta de fezes, em sala climatizada ($20 \pm 2^{\circ}$ C) e ciclos de 12h luz/12h escuro.

O experimento teve duração total de 28 dias, cujos cinco primeiros foram de adaptação às dietas. No período experimental (23 dias), os ratos receberam ração e água *ab libitum*. Do 6º ao 28º dias, foram determinadas a quantidade de ração consumida (diferença entre o ofertado e as sobras) e a quantidade de fezes excretadas. As amostras foram coletadas a fim de determinar fezes úmidas totais (PFU), fezes secas totais (PFS), umidade (UF), teor de lipídio

fecal e teor de lipídio absorvido. O peso corporal dos animais foi registrado no início do experimento e a cada 3 dias, até o sacrifício.

Ao final do experimento, os animais ficaram 12 horas em jejum, sendo pesados, anestesiados com éter etílico e sacrificados por punção cardíaca. O sangue foi coletado em tubos de ensaio e centrifugado, de modo que o soro foi separado e armazenado sob refrigeração para realização posterior das análises. O sangue para a análise da glicemia foi colocado em tubo de ensaio contendo anticoagulante glicose, e, depois de centrifugado, teve o plasma coletado em *eppendorf* e refrigerado. Os rins, o fígado e a gordura epididimal foram retirados e pesados.

A determinação da excreção lipídica foi realizada pelo método de *Soxhlet*, nas fezes secas¹⁹. As fezes foram secas em estufa com circulação de ar a 65°C, por 48h e posteriormente resfriadas, pesadas e trituradas. Já o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) foi obtido a partir da relação entre ganho de peso total do animal (g) e consumo total de ração (g)²⁰.

Os níveis de colesterol total (CT), HDL colesterol (HDLc), triglicerídios (TG) e proteínas totais (PTN totais) foram determinados no soro, e a glicemia em jejum foi quantificada no plasma. Foram usados métodos enzimático-colorimétricos, via o emprego de kits Doles® e de posterior leitura em espectrofotômetro.

Análise estatística

Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico *Statistical Analyses System* (SAS) 9.1.3.²¹. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan, com alfa de 0,05²². Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão.

RESULTADOS

A partir da análise química, determinou-se os teores de umidade, cinzas, proteína bruta, lipídio, fibra alimentar total e carboidrato presentes no grão de linhaça *in natura*, assim como o teor de umidade e quantidade de lipídio no óleo (Tabela 2). Os valores encontrados serviram de base para o cálculo e formulação das rações. É possível observar que a composição centesimal da linhaça usada neste estudo é semelhante aos valores encontrados por outros autores, principalmente quando equiparada à composição da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO²³. O valor de carboidrato, que inclui a fibra alimentar total, foi o que apresentou maior discrepância.

O ganho de peso total, o consumo diário e o CEA não mostraram diferença estatística entre os 4 grupos. A excreção diária, no entanto, foi significativamente ($p=0,001$) maior nos ratos consumindo as rações com o grão de linhaça (LC e LA) em comparação aos grupos P e OL (Tabela 3). É importante ressaltar que todos receberam a mesma quantidade de fibras alimentares e água *ab libitum*. Em relação ao peso dos órgãos (g de órgão/100g de peso corporal), os quatro tratamentos apresentaram semelhanças entre os rins e a gordura epididimal. Quando comparado o peso do fígado, porém, houve diferença significativa ($p=0,1204$) entre os tratamentos: todos os grupos (LC, LA e OL) tiveram o peso do fígado menor do que o controle sem linhaça (P); os ratos recebendo óleo de linhaça tiveram os fígados de menor peso (Tabela 3).

Os dados referentes à produção fecal podem ser observados na Tabela 4. A produção de fezes úmidas totais, o teor de umidade das fezes, a quantidade de lipídio fecal e de lipídio absorvido apresentaram as mesmas características; em todos os parâmetros citados, os grupos LC e LA foram semelhantes estatisticamente, diferindo dos grupos P e OL, que também foram semelhantes entre si. A excreção nos grupos LC e LA foi visivelmente maior que os demais, sendo as fezes compostas por maiores quantidades de água e de lipídio. A absorção

de lipídios, conseqüentemente, foi maior nos tratamentos sem o grão de linhaça (P e OL). A produção de fezes secas totais no grupo OL mostrou-se semelhante ao controle (P) e ao LC, enquanto os tratamentos P, LA e LC tiveram diferenças significativas entre si ($p=0,0001$).

Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, glicemia, triglicerídios (TG), colesterol total (CT), HDL colesterol (HDLc) e proteínas totais, observa-se na Tabela 5 que os mesmos apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos, com exceção do HDLc. A glicemia em jejum dos animais foi maior no grupo P e menor no grupo LC. Os valores de TG dos grupos LC e OL foram menores quando comparados aos grupos LA e P. O CT e as proteínas totais foram menores em todos os tratamentos em relação ao controle ($p=0,041$ e $p=0,0183$, respectivamente).

DISCUSSÃO

O ganho de peso, o consumo diário e o CEA dos ratos recebendo linhaça em grão ou em óleo foram semelhantes ao grupo padrão. Alguns trabalhos divergem desse resultado, com valores de peso corporal menor nos animais suplementados com linhaça, como Pita et al.²⁴, que mostrou que galinhas alimentadas com 20% de semente de linhaça tiveram uma piora na conversão alimentar, apresentando redução no peso dos ovos. Contudo, é importante salientar que a idade, a espécie e as condições gerais de saúde das cobaias, bem como as condições na qual o estudo foi desenvolvido (temperatura e umidade relativa do ar, por exemplo) podem ocasionar resultados diferenciados.

A excreção diária foi superior nos ratos que consumiram o grão de linhaça (LC e LA). A diferença nas fezes foi perceptível visualmente, tanto em relação ao volume excretado quanto pela coloração: os animais que receberam ração com a linhaça em grão apresentavam fezes verde-escuras, já os ratos dos tratamentos P e OL tinham fezes marrom-claras. A quantidade de lipídio excretado, também significativamente maior nos grupos LC e LA, pode

ser a causa para as diferentes colorações, já que o lipídio presente na linhaça é pigmentado¹². Cintra et al.¹⁹, comparando uma dieta que contém linhaça com dietas compostas de outras fontes lipídicas, observaram alta excreção fecal de lipídio nos ratos alimentados com o grão, em relação aos demais tratamentos. A maior excreção lipídica nos grupos que consumiram o grão pode ser justificada pela menor disponibilidade dos lipídios, já que na linhaça, mesmo moída, parte do óleo provavelmente está preso em estruturas teciduais⁷, não sendo liberado para digestão e absorção.

A linhaça em grão mostrou-se mais eficaz na retenção hídrica, com maior peso úmido e teor de umidade nas fezes. Tanto a linhaça como a celulose microcristalina possuem capacidade de reter água e, com isso, de aumentar o volume fecal²⁵. O grão de linhaça contém fibra insolúvel e solúvel. A fibra insolúvel aumenta o volume das fezes pela sua própria massa e também pela água que mantém ligada ou adsorvida, sendo benéfica no tratamento da constipação, da síndrome do intestino irritável e da doença diverticular²⁶. Por outro lado, sabe-se que as fibras solúveis são em parte fermentadas pelas bactérias do cólon. Quando a fibra é degradada por fermentação, diminui sua quantidade e, conseqüentemente, o volume das fezes²⁷⁻²⁸. Não foram encontrados dados na literatura sobre a intensidade de fermentação da fibra da linhaça, no entanto os resultados deste trabalho indicam que, mesmo que uma parte da fibra da linhaça tenha sido fermentada, uma parte significativa não foi degradada, aumentando o peso e a umidade em relação às fezes dos grupos P e OL, nos quais a única fibra foi a celulose. A quantidade de lipídio excretado, significativamente maior nos grupos LC e LA, também contribuiu para o maior peso das fezes destes grupos.

Quanto à produção de fezes secas totais, os grupos P e OL, que receberam o mesmo tipo de fibra na dieta, apresentaram pesos semelhantes. Os grupos que receberam linhaça apresentaram maior peso seco em relação ao controle, mas, descontando-se os lipídios, o peso seco das fezes do grupo LC é menor do que nos grupos P e OL. Esses dados indicam que

houve degradação de parte da fibra solúvel, diminuindo o peso seco das fezes, sendo o lipídio não digerido a causa do maior peso das fezes dos grupos LC e LA. Em contrapartida, o grupo LA apresentou um maior peso seco das fezes do que LC, mesmo descontando os lipídios. Isto provavelmente ocorreu porque o forneamento produz reações que diminuíram a digestibilidade da linhaça, tais como a reação de *Maillard*, formando compostos indigeríveis de proteína e carboidratos¹⁴.

O peso dos rins e da gordura epididimal (g de órgão/100g de peso corporal), assim como o peso corpóreo, não produziram diferença estatística entre os tratamentos. O fígado do grupo padrão (g de órgão/100g de peso corporal), no entanto, foi significativamente maior quando comparado aos grupos LC, LA e OL. Vijaimohan et al.²⁹ observaram que ratos recebendo óleo de linhaça via oral (1g/kg peso) por 60 dias não apresentaram alterações histológicas no tecido hepático, com reduzida deposição de gordura nos hepatócitos. Collins et al.⁹ verificaram diminuição na relação fígado/peso corporal em ratas recém desmamadas e alimentadas com linhaça. O ALA aumenta a secreção de colesterol na bile, conduzindo à depleção do *pool* intra-hepático de colesterol, conseqüentemente aumentando a síntese e o *turnover* de colesterol³⁰. Além disso, o ALA reduz o acúmulo hepático de lipídios por estimular a β -oxidação, inibindo a síntese de ácidos graxos e de triglicerídios^{19,31}.

A glicemia em jejum foi significativamente menor em todos os grupos que receberam linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo. É importante salientar que os menores valores foram mensurados nos animais do grupo LC. Infere-se que o aquecimento sob temperatura elevada, mesmo no grão intacto, trouxe perdas de fibra alimentar solúvel, ocasionando um maior controle glicêmico no grupo que recebeu a linhaça *in natura*. Sabe-se que a fibra solúvel da linhaça (mucilagem) retarda o esvaziamento gástrico, promove o controle glicêmico e reduz o colesterol²⁶. Por isso, apesar de os melhores resultados terem sido ocasionados pelo grão cru, todas as formas de consumo da linhaça foram benéficas para a

diminuição da glicemia. Mulheres na menopausa que consumiram 40g/dia de linhaça triturada, por exemplo, tiveram um decréscimo médio de 5,3% na glicose sanguínea³².

Bhathena et al.³³ avaliaram o consumo de farinha de linhaça e proteína de soja em ratos obesos, constatando maior redução do triglicerídio sérico nos animais alimentados com a farinha. Os valores de triglicerídios dos grupos recebendo linhaça crua e óleo de linhaça foram menores quando comparados aos grupos LA e P. Pode-se inferir, a partir desses dados, que a temperatura de 180° por 40 minutos alterou o perfil de ácidos graxos na linhaça assada, tendo como consequência uma diminuição de ALA e maior produção hepática de triglicerídios³¹. Esse argumento é reforçado pelo fato da linhaça crua e do óleo de linhaça terem apresentado resultados semelhantes. Como o óleo contém basicamente lipídios, é possível afirmar que o caráter hipotrigliciridêmico desta oleaginosa está no conteúdo de ALA e, neste caso, não parece ser influenciada pelo teor de fibra alimentar, lignana ou outro composto.

Estudos para determinar os efeitos do colesterol no sangue datam de 1950 e já mostravam que dietas com diferentes teores e fontes lipídicas podem modular os níveis plasmáticos de colesterol, dependendo da composição dos ácidos graxos ingeridos³⁴. O colesterol total foi menor em todos os tratamentos em relação ao controle. O decréscimo do colesterol plasmático pela administração do óleo de linhaça é relacionado com a diminuição do colesterol livre, do colesterol esterificado, assim como da relação n-6:n-3. É claro que lignanas, fibra e proteínas vegetais presentes na linhaça podem desempenhar um papel importante na redução do colesterol sérico em animais e/ou humanos uma vez que, por exemplo, em adição ao efeito hipocolesterolêmico, a linhaça pode atuar diretamente sobre as paredes de vasos e artérias, prevenindo a aterosclerose¹⁸⁻¹⁹. O efeito hipocolesterolêmico da linhaça tem importantes implicações terapêuticas em pacientes dislipidêmicos, sendo que

estudos em humanos têm mostrado que o consumo de 40 a 50g/dia reduz o colesterol sérico entre 5 e 9%^{33,35}.

Os valores de HDLc, por sua vez, não tiveram diferença significativa entre os tratamentos, dado este encontrado também por outros pesquisadores^{7,26,36}.

As proteínas totais foram menores em todos os tratamentos em relação ao grupo padrão. Wiesenfeld et al.¹⁸ encontraram resultado semelhante em ratas grávidas suplementadas com diferentes quantidades de linhaça e de farinha de linhaça desengordurada. Bhatena et al.³³ também verificaram valores de proteínas totais menores nos animais alimentados com linhaça. A diminuição da proteína sérica pode ser indicativo de desnutrição protéico-energética, hiperhidratação, catabolismo, entre outros³⁷, entretanto os demais parâmetros avaliados, assim como o peso corporal e a gordura epididimal dos animais não ratificam quaisquer um dos quadros citados anteriormente. Essa diminuição na proteína sérica não foi esclarecida e nenhum dos outros autores detectou prejuízos à saúde das cobaias relacionadas a menor proteína total.

CONCLUSÃO

O consumo de linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo, possui uma atividade biológica positiva em ratos, destacando-se como hipotrigliceridêmica, hipocolesterolêmica, hipoglicêmica e por aumentar o volume do bolo fecal. A linhaça processada (aquecida ou como óleo) apresentou menores benefícios à saúde dos animais, entretanto infere-se que parte do ácido alfa-linolênico permanece no alimento e é absorvido pelo organismo. A linhaça pode ser adotada como terapia complementar no tratamento de dislipidemias e de enfermidades relacionadas à constipação. Mais estudos são necessários para estipular, com segurança, as doses adequadas para humanos, de acordo com as particularidades individuais.

AGRADECIMENTOS

Às empresas Cisbra Alimentos e Doles®, pela doação do grão e do óleo de linhaça e dos kits enzimáticos para parâmetros sanguíneos, respectivamente. Ao CNPq e à Capes, pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Pinto FST; Senai/RS. SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas: Produção de farinha [citado em 2008 Out 30]. Disponível em: <http://www.sbrt.ibict.br>
2. Bombo AJ. Obtenção e caracterização nutricional de *snacks* de milho (*Zea mays L.*) e linhaça (*Linum usitatissimum L.*) [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
3. Campos VMC, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais CETEC. Produção e beneficiamento de sementes de linhaça [citado em 2008 Set 17]. Disponível em: <http://www.sbrt.ibict.br>
4. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE et al. Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição*. 2006; 19(6): 761-70.
5. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci*. 2006; 1(4-5): 386-99.
6. Sanhueza J, Nieto S, Valenzuela A. Acido docosahexaenoico (DHA), desarrollo cerebral, memoria y aprendizaje: la importancia de la suplementación perinatal. *Revista Chilena de Nutrición*. 2004; 31(2): 84-92.
7. Oomah BD, Mazza G. Productos de linaza para la prevención de enfermedades. In: Mazza G (Coord). *Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado*, Zaragoza: Acribia; 2000.
8. Chen H-H, Xu S-Y, Wang, Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein. *Journal of Food Engineering*. 2007; 80(4): 1051-59.
9. Collins TFX, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Wiesenfeld PW, Babu US et al. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food Chem Toxicol*. 2003; 41(6): 819–34.
10. United States Department of Agriculture USDA. National nutrient database for standard reference, Release 20 [citado em 2008 Jun 20]. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>

11. Villarroel M, Pino L, Hazbún J. Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (*Linum usitatissimum*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición [periódico eletrônico] 2006 [citado em 2008 Out 15]. Disponível em: <http://www.scielo.org>
12. Choo WS, Birch J, Dufour JP. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. Journal of Food Composition and Analysis. 2007; 20(3-4): 202-11.
13. Zheng YL, Wiesenborn DP, Tostenson K, Kangas N. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. Journal of Food Engineering. 2005; 66(2): 193-02.
14. Fennema OR. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia SA; 1993.
15. Association of Official Analytical Chemists AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 16th ed., Supplement 1998. Washington: AOAC; 1995.
16. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo: o Instituto; 1985.
17. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993; 23(11): 1939-51.
18. Wiesenfeld PW, Babu US, Collins TFX, Sprando R, O'Donnell MW, Flynn TJ et al. Flaxseed increased α -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. Food Chem Toxicol. 2003; 41(6): 841-55.
19. Cintra DEC, Costa AGV, Penuzio MCG, Matta SLP, Silva MT, Costa NMB. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. Nutrition. 2006; 22(2): 197-05.
20. Moreira AVB, Mancini-Filho J, Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. Revista de Nutrição. 2004; 17(4): 411-24.
21. SAS Institute. SAS 9.1.3 service pack3. Cary: SAS Institute, 2003.
22. Banzatto DA. Experimentação agrícola, 3.ed. Jaboticabal: FUNEP; 1995.
23. Nepa, Unicamp. Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO. 2.ed. Campinas: Nepa-Unicamp; 2006. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.
24. Pita MCG, Piber Neto E, Nakaoka LM, Mendonça Jr CX. Effect of dietary supplementation of unsaturated fatty acids and vitamin E upon yolk lipid composition and α -tocopherol incorporation into the egg yolk. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 2004; 41(1): 25-31.
25. Behrens MDD, Netto-Ferreira JC. Fotoquímica de alfa, alfa-dimetilvalerofenona adsorvida em celulose microcristalina. Química Nova [periódico eletrônico] 2006 [citado em 2008 Out 31]; 29(1). Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000100002&lng=&nrm=iso

26. Tarpila A, Wennberg T, Tarpila S. Flaxseed as a functional food. *Current Topics in Nutraceutical Research*. 2005; 3(3): 167-88.
27. Filisetti TMCC, Lobo AR. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. In: Cozzolino, SMF. *Biodisponibilidade de nutrientes*. 2ª ed. Barueri: Manole Ltda; 2007.
28. Ruiz-Roso B, Péres-Olleros L, García-Cuevas M. Influencia de la fibra dietária (FD) en la biodisponibilidad de los nutrientes. In: Lajolo FM, Calixto FS, Penna EW, Menezes EW. *Fibra dietética en iberoamérica: tecnología y salud*. São Paulo: Varela Ltda; 2001.
29. Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniam S, Anandhan C, Shyamala DCS. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sci*. 2006; 79(5): 448-54.
30. Morise A, Serougne C, Gripois D, Blouquit MF, Lutton C, Hermier D. Effects of dietary alpha-linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2004; 15(1): 51-61.
31. Murase T, Aoki M, Tokimitsu I. Supplementation with α -linolenic acid-rich diacylglycerol suppresses fatty liver formation accompanied by an up-regulation of β -oxidation in Zucker fatty rats. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005; 1733(2-3): 224-31.
32. Lemay A, Dodin S, Kadri N, Jacques H, Forest JC. Flaxseed dietary supplement versus hormone replacement therapy in hypercholesterolemic menopausal women. *Obstetrics & Gynecology*. 2002; 100(3): 495-04.
33. Bhathena SJ, Ali AA, Haudenschild C, Latham P, Ranich T, Mohamed AI et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *J A Coll Nutr*. 2003; 22(2): 157-64.
34. Chang NW, Wu CT, Chen FN, Huang PC. High polyunsaturated and monounsaturated fatty acid to saturated fatty acid ratio increases plasma very low density lipoprotein lipids and reduces the hepatic hypertriglyceridemic effect of dietary cholesterol in rats. *Nutrition Research*. 2004; 24(1): 73-83.
35. Lucas EA, Lightfoot SA, Hammond LJ, Devareddy L, Khalil DA, Daggy BP et al. Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis*. 2004; 173(2): 223-29.
36. Abdel-Rahman MK, Mahmoud EM, Abdel-Moemin AR, Rafaat OGA. Re-evaluation of individual and combined garlic and flaxseed diets on hyperlipidemic rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009; 8(1): 1-8.
37. Kamimura MA, Baxmann A, Sampaio LR, Cuppari L. Avaliação nutricional. In: Cuppari, L. *Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto*. Barueri: Manole; 2002.

Tabela 1 – Composição (g/kg) das rações oferecidas aos ratos.

Ingrediente (g)	P	LC	LA	OL
Caseína	199,9	171,0	171,0	199,9
Linhaça (grão)	-	151,98	151,98	-
Óleo de linhaça	-	1,45	1,45	66,2
Óleo de soja	66,2	-	-	-
Celulose microcristalina	50,0	-	-	50,0
Amido de milho	533,4	516,07	516,07	533,4
Sacarose	100,0	100,0	100,0	100,0
Mix de vitaminas*	10,0	10,0	10,0	10,0
Mix de minerais modificado**	35,0	35,0	35,0	35,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
L-cisteína	3,0	3,0	3,0	3,0
Tercbutilhidroquinona (TBHQ)	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
Carboidrato (%)	63,5	63,3	63,3	63,5
Proteína (%)	19,3	19,3	19,3	19,3
Lipídio (%)	17,2	17,4	17,4	17,2
Valor energético (kcal)	3.647,0	3.603,8	3.603,8	3.647,0

P: ração padrão; LC: ração com linhaça crua; LA: ração com linhaça assada a 180°C por 40 minutos; OL: ração com óleo de linhaça.

* Mix de vitaminas (g/kg de mix): ácido nicotínico 3,0; pantotenato de cálcio 1,6; piridoxina-HCl 0,7; tiamina-HCl 0,6; riboflavina 0,6; ácido fólico 0,2; biotina 0,0002; vitamina B₁₂ 2,5; vitamina E 15,0; vitamina A 0,8; vitamina D₃ 0,0025; vitamina K₁ 0,075; sacarose pulverizada 974,655.

** Mix de minerais (g/kg de mix): carbonato de cálcio anidro 357,0; fosfato de potássio monobásico 196,0; citrato de potássio 66,825; cloreto de sódio 74,0; sulfato de potássio 46,6; óxido de magnésio 24,0; sulfato ferroso 4,975; sulfato de zinco 3,6088; sódio meta-silicato 1,075; sulfato de manganês 0,925; sulfato de cobre 0,4328; dicromato de potássio 0,08; ácido bórico 0,0808; fluoreto de sódio 0,0635; quelato de níquel 1,3008; cloreto de lítio 0,0174; selenito de sódio 0,0102; iodeto de potássio 0,01; paramolibdato de amônio 0,008; vanadato de amônio 0,0066; sacarose pulverizada 222,9811.

Tabela 2 – Composição química (g%) do grão e do óleo de linhaça e comparação com outros autores.

	Grão	Grão ⁷	Grão ²³	Grão ¹⁰	Óleo	Óleo ¹⁰
Umidade	6,67	9,00	6,7	6,96	0,09	0,00
Cinzas	3,68	-	3,7	3,72	0,00	0,00
Proteína	16,69*	26,00	14,1	18,29	0,00	0,00
Lipídio	37,04	35,00	32,3	42,16	99,01	100,00
Fibra alimentar	32,90	14,00	33,5	27,3	0,00	0,00
Carboidratos**	35,92	-	43,3	28,88	0,00	0,00

* Valor de conversão utilizado para cálculo: N=5,41⁷.

** No valor de carboidratos estão inclusos a fibra alimentar total e o carboidrato digerível.

Tabela 3 – Ganho de peso total, consumo diário, excreção diária durante o período experimental e peso dos órgãos (g de órgão/100g de peso corporal) dos animais recebendo diferentes rações com linhaça.

Parâmetros	Padrão (P)	LC	LA	OL
Ganho de peso total (g)	118,12±14,99 ^a	129,01±16,96 ^a	128,61±10,73 ^a	122,45±13,31 ^a
Consumo diário (g)	17,52±1,39 ^a	18,54±1,88 ^a	18,40±1,14 ^a	18,29±1,18 ^a
Excreção diária (g)	1,61±0,17 ^b	2,24±0,30 ^a	2,50±0,35 ^a	1,67±0,20 ^b
CEA*	0,29±0,023 ^a	0,30±0,019 ^a	0,30±0,014 ^a	0,29±0,018 ^a
Fígado	3,69±0,35 ^a	3,62±0,19 ^{ab}	3,53±0,30 ^{ab}	3,36±0,22 ^b
Rins	0,80±0,07 ^a	0,73±0,08 ^a	0,76±0,08 ^a	0,75±0,08 ^a
Gordura epididimal	1,12±0,26 ^a	1,10±0,19 ^a	0,91±0,22 ^a	1,12±0,18 ^a

* CEA: Coeficiente de eficácia alimentar (ganho peso total/consumo total).

Resultados expressos em média±DP. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05.

Tabela 4 – Produção de fezes úmidas totais (PFU), produção de fezes secas totais (PFS), teor de umidade nas fezes (UF), teor de lipídio fecal (TLF) e teor de lipídio absorvido no processo experimental de nutrição de animais via diferentes rações com linhaça.

Parâmetros	Padrão (P)	LC	LA	OL
PFU (g)	37,02±3,82 ^b	51,45±6,81 ^a	57,59±8,02 ^a	38,45±4,65 ^b
PFS (g)	26,90±2,04 ^c	30,96±3,26 ^b	34,68±3,11 ^a	28,87±2,23 ^{bc}
UF (g%)	27,02±2,91 ^a	39,22±4,11 ^b	40,63±4,82 ^b	23,65±3,16 ^a
Lipídio absorvido (%)	98,32±0,23 ^a	88,21±4,14 ^b	88,47±2,99 ^b	98,13±0,19 ^a
TLF (%)	1,68±0,23 ^b	11,79±4,14 ^a	11,53±2,99 ^a	1,87±0,19 ^b

Resultados expressos em média±DP. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05.

Tabela 5 – Parâmetros bioquímicos dos animais recebendo diferentes rações com linhaça.

Parâmetros	Padrão (P)	LC	LA	OL
Glicemia	224,42±62,79 ^a	160,75±33,63 ^b	180,42±35,41 ^{ab}	185,25±65,66 ^{ab}
TG	136,99±60,33 ^a	76,75±26,84 ^b	104,82±15,81 ^{ab}	81,02±14,51 ^b
CT	91,63±16,07 ^a	61,16±16,13 ^b	70,60±15,99 ^b	71,03±13,41 ^b
HDLc	78,46±37,91 ^a	54,26±21,08 ^a	51,93±19,24 ^a	53,97±18,07 ^a
PTN totais	5,48±0,98 ^a	4,67±0,25 ^b	4,66±0,17 ^b	4,85±0,21 ^b

Resultados expressos em média±DP. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05.

3.2 Artigo 2

Artigo em fase final de revisão para ser submetido ao *Journal of Agricultural and Food Chemistry*

(Configuração conforme normas da revista – Anexo 2)

ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO DA LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L) SUBMETIDA A DIFERENTES TEMPERATURAS

MARQUES, Anne y Castro^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

* Endereço para correspondência: Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, Sala 3135A, Santa Maria, RS, Brasil. CEP 97105-900. E-mail: annezita@gmail.com.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a alteração do perfil de ácidos graxos no grão e no óleo de linhaça submetidos a diferentes temperaturas de aquecimento, por meio da cromatografia gasosa. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, com alfa de 0,05. Os ácidos graxos saturados tiveram diferenças significativas entre os tratamentos ($p=0,0001$), sendo o óleo aquecido com maior quantidade e o grão aquecido em forno de microondas com menor concentração. As diferenças de ácidos graxos mono e poliinsaturados totais foram significativas ($p=0,0001$) entre os tratamentos. A linhaça crua apresentou a menor quantidade de ácidos graxos da família n-6 e maior quantidade de n-3. A linhaça, tanto em grão como em óleo, mostrou-se bastante estável quando submetida a diferentes processamentos envolvendo altas temperaturas.

Palavras-chave: *Linum usitatissimum L.*, linhaça, ácidos graxos, oxidação lipídica, n-6:n-3.

INTRODUÇÃO

Linum usitatissimum L., popularmente conhecida como linhaça ou linho, é uma planta pertencente à família das *Linaceas*, originária da Ásia (1). Da casca do vegetal é retirada a fibra, matéria-prima para a fabricação de tecidos, e da cápsula se obtém a semente ou grão (2-3). O grão de linhaça é rico nos ácidos graxos poliinsaturados α -linolênico (ALA, 18:3n-3) e, em menor quantidade, linoléico (AL, 18:2n-6). Segundo a tabela de composição de alimentos da USDA, o grão contém (em 100g) cerca de 23g de ALA e 6,0g de AL (4). Outros ácidos graxos que constituem a porção lipídica da linhaça em maiores quantidades são os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0) e oléico (18:1n-9) (5). Como aproximadamente 40% do seu peso é composto por lipídios, uma alternativa para o consumo de linhaça é a extração do óleo. Além disso, uma vantagem desse produto é que, ao contrário da maioria dos óleos vegetais que são boas fontes de AL, o óleo de linhaça é rico em ALA, com aproximadamente 53,0g em 100g de óleo (5-6).

Os ácidos α -linolênico e linoléico são considerados ácidos graxos essenciais e precursores dos demais ácidos das famílias n-3 e n-6, respectivamente. Ambos podem ser convertidos nos ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), por sua vez transformados em prostaglandinas e leucotrienos, com atividades imunomoduladoras. Esses processos são mediados pelas enzimas elongases e dessaturases. Como as mesmas enzimas fazem as conversões tanto de ALA como de AL, tem-se como resultado uma competição metabólica entre os dois grupos (7). O ácido linoléico pode ainda ser metabolizado em ácidos gama-linolênico e araquidônico (8). O consumo excessivo de n-6 e a alta relação n-6:n-3, comum atualmente na dieta ocidental, podem favorecer o desenvolvimento de quadros patológicos, tais como doenças cardiovasculares, cânceres, doenças auto-imunes e doenças inflamatórias, enquanto o aumento da ingestão de n-3, com conseqüente redução de n-6:n-3, exerce o efeito oposto (9). As conseqüências negativas

relacionadas ao alto consumo de n-6 são devidas à produção excessiva de ácido araquidônico e seus produtos eicosanóides, assim como pela diminuição na produção de EPA e de DHA provenientes do ácido α -linolênico (10).

O ALA, entre suas diversas funções biológicas, é usado como fonte energética e matéria-prima do tecido nervoso e de substâncias que regulam a pressão arterial/frequência cardíaca, a coagulação, a dilatação vascular e a lipólise (11-12). Além disso, estudos correlacionam o conteúdo cerebral de DHA com a capacidade de aprendizagem, com o nível de inteligência e com o desenvolvimento neurológico de recém-nascidos e crianças (13).

O grão de linhaça pode ser consumido *in natura*, inteiro ou moído, bem como acrescentado diretamente sobre alimentos tais como as frutas, o leite ou o iogurte. Também pode ser utilizado como ingrediente na preparação de bolos, pães, biscoitos, sobremesas, feijão e produtos cárneos, tanto na forma de grão como de óleo (3,14). Segundo a USDA, 1 a 12% de linhaça pode ser usado como ingrediente na alimentação, sem riscos à saúde (4).

Um ponto discutido por profissionais e pesquisadores da área de alimentos trata do aquecimento do grão e do óleo de linhaça e de sua relação com a alteração do perfil lipídico, resultante principalmente da oxidação dos ácidos graxos com várias insaturações. A questão que se coloca é se as temperaturas elevadas durante o forneamento ou fritura de produtos contendo linhaça diminuem, mantêm ou aumentam as propriedades funcionais do alimento. O ALA e o AL são sensíveis à luz, aquecimento e à presença de oxigênio. Por isso, os ácidos graxos sofrem termooxidação quando expostos a temperaturas entre 120°C e 270°C, de modo que a extração do óleo geralmente ocorre a frio. A velocidade de oxidação depende do grau de insaturação do ácido graxo: quanto maior o número de duplas ligações, maior a suscetibilidade à reação. Podem ocorrer mudanças químicas na fração lipídica oriundas do processo oxidativo, com a produção de substâncias indesejáveis (tais como peróxidos, radicais livres e mudanças na configuração *cis-trans*), assim como reações com outros constituintes

dos alimentos. Na tentativa de manter estável o teor de ácidos graxos poliinsaturados, os processos envolvendo temperatura, luz e oxigênio devem ser minimizados o quanto for possível (15-17).

Tendo em vista a importância do consumo de lipídios de boa qualidade, com quantidades adequadas de ALA, com menor consumo de gorduras saturadas e diminuição na relação n-6:n-3, este trabalho teve como objetivo analisar as possíveis alterações do perfil de ácidos graxos no grão e no óleo de linhaça submetidos a diferentes temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos

O grão e o óleo de linhaça foram fornecidos pela empresa Cisbra, de Panambi (RS), Brasil, e ambos pertenciam a lotes únicos. O óleo extraído a frio foi embalado e armazenado em frascos plásticos próprios para óleo vegetal.

O emprego dos diferentes tipos de temperatura no grão e no óleo foram baseados nas situações de consumo, simulando-se temperaturas de forneamento de pão, bolo ou biscoito com linhaça, de aquecimento em forno de microondas e ainda de fritura com o óleo de linhaça. Os tratamentos analisados foram:

LC: grão de linhaça *in natura*;

L150: grão de linhaça assado em forno elétrico a 150°C por 40 minutos, com forno pré-aquecido na mesma temperatura por 5 minutos;

L180: grão de linhaça assado em forno elétrico a 180°C por 40 minutos, com forno pré-aquecido na mesma temperatura por 5 minutos;

LM: grão de linhaça aquecido em forno de microondas, potência máxima de 950W, por 5 minutos, sendo homogeneizado na metade do tempo;

OL: óleo de linhaça *in natura*; e

OF: óleo de linhaça aquecido a 180°C por 30 minutos, em contato com o oxigênio.

Análises químicas

As análises de umidade dos grãos de linhaça foram realizadas de acordo com a técnica descrita pela AOAC (18). Os valores de umidade foram usados para o cálculo da quantidade de lipídio em base seca. A extração da porção lipídica dos grãos foi feita a frio, por meio do método de Bligh; Dyer (19). Após realizada a extração, os solventes foram evaporados em bomba de vácuo. As amostras de gordura foram armazenadas em tubos de ensaio com gás nitrogênio, lacradas, envoltas por papel alumínio e congeladas.

Obteve-se o teor de lipídios do óleo por diferença do conteúdo de umidade após 12 horas em estufa a 105°C. As análises foram realizadas, em triplicata, nos laboratórios do Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos (DTCA) e Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), ambos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria (RS), Brasil.

Perfil de ácidos graxos

Para a determinação do perfil de ácidos graxos, fez-se a metilação do lipídio (aproximadamente 0,0250g por análise) pelo método de Hartman; Lago (20), com posterior análise por cromatografia gasosa de alta resolução. Utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, com detector por ionização em chama, injetor *split* (1:50) e coluna capilar de sílica fundida (100m x 0,25mm x 0,20µm, CP-SIL 88, Chromopack, Middleburg, The Netherlands). A temperatura da coluna foi inicialmente de 120°C por 8 min, progredindo a 20°C/min até atingir 160°C; 3°C/min até 195°C, por 10 min; 3°C/min até 210°C; 35°C/min até 220°C, por 3 min; e 20°C/min até 240°C por 5 min. As demais condições cromatográficas foram: gás de

arraste hidrogênio, com velocidade linear de 34cm/s; gás *make up* nitrogênio a 30mL/min; temperatura do injetor a 250°C; temperatura do detector a 260°C; injeção de 1µl; e técnica de injeção *hot needle* por 5 segundos. A identificação dos ácidos graxos foi realizada pela comparação do tempo de retenção de ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões com as amostras. Foram utilizados no total 37 padrões de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (Supelco 37 FAME Mix, Sigma, Bellefonte, EUA). Os tempos de retenção e as áreas foram computados automaticamente pelo *software GCSolution*, versão 2.30 (Shimadzu). Os resultados, obtidos em triplicata, foram expressos em mg de ácido graxo/g de óleo e posteriormente calculados para g em 100g de alimento (21-23).

O valor dos ácidos graxos saturados totais (AGS) foi obtido a partir da soma dos ácidos graxos cáprico (10:0), láurico (12:0), mirístico (14:0), pentadecílico (15:0), palmítico (16:0), margárico (17:0), esteárico (18:0), araquídico (20:0), behênico (22:0) e lignocérico (24:0). Os ácidos graxos monoinsaturados totais (AGMI) foram indicados pelo somatório dos ácidos palmitoléico (16:1n-7), oléico (18:1n-9c), gadoléico (20:1n-9), erúcico (22:1n-9) e nervônico (24:1n-9c). Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) foram obtidos pela soma dos ácidos linoléico (18:2n-6), gama-linolênico (18:3n-6), α -linolênico (18:3n-3), eicosadienóico (20:2n-6) e di-homo-alfa-linolênico (20:3n-3) (4,24).

A metilação, a esterificação e a cromatografia gasosa foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos, da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Unicamp, Campinas (SP), Brasil.

Análise estatística

Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico *Statistical Analyses System* (SAS) 9.1.3. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as

médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan, com alfa de 0,05. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (25).

RESULTADOS

A quantidade de lipídios em cada tratamento é mostrada na Tabela 1. A umidade foi detectada no grão cru (LC), no óleo *in natura* (OL) e no óleo aquecido (OF). Optou-se por apresentar o teor lipídico da linhaça crua calculado em relação à base seca, e não em relação à amostra integral. O cozimento aumenta a matéria seca, resultado da perda de água pelo calor (26-27). Os grãos também apresentaram teores lipídicos maiores após o tratamento térmico, sendo que essa diferença pode ser decorrente da quebra dos complexos protéicos resistentes à extração de lipídios por clorofórmio e metanol, possibilitando uma extração lipídica mais eficiente pelo método utilizado, assim como pela redução de umidade e conseqüente concentração dos nutrientes (19,26).

É possível observar na Tabela 2 que os ácidos graxos saturados tiveram diferenças significativas entre os tratamentos ($p=0,0001$). O óleo aquecido (OF) apresentou mais AGS totais, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos. O aquecimento a 150°C por 40 minutos (L150) não provocou mudanças significativas nos AGS em relação ao grão *in natura* (LC), enquanto que os tratamentos L150 e L180 não diferiram entre si, mas apresentaram menor concentração de ácidos graxos saturados quando comparados ao LC. O grão aquecido no forno de microondas (LM) foi o que obteve o menor valor de AGS, diferindo estatisticamente de todos os outros processamentos.

Os ácidos cáprico e láurico só foram detectados na linhaça crua e no grão aquecido a 150°C por 40 minutos, inferindo-se que são destruídos em temperaturas elevadas. Com exceção dos ácidos cáprico, láurico e mirístico, todos os ácidos graxos saturados tiveram no

tratamento OF as maiores concentrações, e em segundo lugar no tratamento OL. Em relação ao perfil de ácidos graxos saturados no grão, não houve um comportamento único, observando-se as maiores concentrações tanto na linhaça crua (LC) como na linhaça aquecida a 180°C por 40 minutos (L180). Os menores valores foram encontrados, predominantemente, no tratamento LM.

Os dados referentes aos AGMI, aos AGPI e à relação n-6:n-3 estão expostos na Tabela 3. As maiores quantidades de ácido oléico foram encontradas nos óleos (OL e OF), sem alteração significativa pelo aquecimento. Nos grãos, LC apresentou mais C18:1n-9 e o LM apresentou menos, com redução entre 0,29g e 1,97g nos tratamentos assados (L150, L180 e LM) em comparação à linhaça *in natura*. O ácido nervônico só foi detectado no óleo cru e em pequena quantidade. Quando analisada a quantidade de AGMI total, os óleos tiveram as maiores concentrações e, assim como em relação ao ácido oléico, sem diferença estatística entre OL e OF. Os tratamentos dos grãos também foram semelhantes entre si, com exceção do LM, que obteve a menor quantidade de AGMI total. A diferença de AGMI total foi significativa ($p=0,0001$) entre os tratamentos com óleo, com grão aquecido em forno elétrico e com grão aquecido no forno de microondas.

Em relação aos AGPI, o óleo aquecido (OF) teve um aumento significativo em relação ao óleo cru (OL), sendo o tratamento com maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados. O grão *in natura* (LC) só foi semelhante ao tratamento L150, com uma importante diminuição estatística dos níveis de AGPI no grão assado em forno elétrico a 180°C (L180) e no forno de microondas (FM). Enquanto isso, o AL e o ALA apresentaram o mesmo comportamento. É importante salientar que, embora as altas temperaturas no grão tenham diminuído as concentrações de AGPI, de ácido linoléico e de ácido alfa-linolênico, ainda foram detectadas quantidades elevadas em todos os tratamentos.

Na Figura 1 é possível visualizar as concentrações de AGS, AGMI e AGPI encontrados nos tratamentos.

A razão n-6:n-3 em cada um dos tratamentos é apresentada na Figura 2. Apesar de somente OF ter sido estatística diferente dos demais tratamentos ($p=0,0002$), com uma relação de 0,258, é possível observar que, entre os grãos, o tratamento com menor n-6:n-3 foi o LC. A linhaça crua foi, portanto, o tratamento com menor quantidade de ácidos graxos da família n-6 (18:2n-6, 18:3n-6 e 20:2n-6) e maior quantidade de ácidos graxos da família n-3 (18:3n-3 e 20:3n-3).

O ácido elaídico (18:1n-9t), isômero *trans* do ácido oléico, foi detectado em todos os tratamentos, sendo LC e OF os que apresentaram as maiores quantidades. Com o aquecimento do grão observou-se uma diminuição significativa na concentração do 18:1n-9t, enquanto no óleo o resultado foi o inverso, havendo maior quantidade de ácido elaídico no que sofreu tratamento térmico quando comparado ao óleo *in natura*.

DISCUSSÃO

A temperatura de 150°C por 40 minutos (L150) foi suficiente para ocasionar alterações significativas nas concentrações de AGS no grão de linhaça, porém não houve diferença estatisticamente importante em relação aos AGMI e AGPI. Em contrapartida, o grão submetido a 180°C por 40 minutos (L180) apresentou uma grande variação dos AGS e AGPI quando comparado à LC e L150, mas sem alteração relevante quando analisados os AGMI. Um experimento com peixe assado em forno convencional por 20 minutos não mostrou variação estatística nos ácidos graxos das famílias n-9, n-6 e n-3 (8). Nesse sentido, pode-se supor que, apesar de temperaturas de forneamento mais brandas serem capazes de manter o perfil lipídico mais próximo ao do grão original, a temperatura de 180°C não traz alterações

de ácidos graxos que impossibilitem o consumo ou destruam as propriedades nutricionais da linhaça.

Um fato observado neste estudo é que a maioria dos ácidos graxos (exceto behênico e gadoléico), seja com ligações simples ou duplas, mono ou poliinsaturadas, apresentou uma redução importante em relação ao tratamento LC quando submetidas ao aquecimento em forno de microondas. Alguns trabalhos apresentam resultados inversos. Yoshiara (8), por exemplo, analisou filés de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas por 45 dias com ração peletizada suplementada com óleo de linhaça, concluindo que as amostras de peixe tratadas em forno de microondas (também por 5 minutos) apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) em seus teores de ácidos graxos insaturados, com exceção do ácido araquidônico. Como na linhaça não foi detectado o ácido araquidônico, esse comportamento específico não pôde ser analisado. Contudo, a relação n-6:n-3 foi semelhante neste estudo em relação ao trabalho de Yoshiara: nos filés assados em forno de microondas se manteve constante, e na linhaça mostrou uma pequena elevação (de 0,276 para 0,279), mas sem importância estatística. Já em outro estudo, Yoshida et al. (28) observaram o efeito da tostagem em microondas sobre a estabilidade oxidativa em sementes de abóbora (*Curcubita sp.*). As sementes foram submetidas a uma frequência de 2450MHz (potência máxima) por 6, 12, 20 e 30 minutos e as diferenças significativas nos teores de ácidos graxos foram observadas apenas após 20 minutos de tostagem. Em poucos casos, a irradiação por 12 minutos causou alteração nos teores de AGPI.

O aquecimento do óleo de linhaça a 180°C por 30 minutos (OF) aumentou os teores dos ácidos graxos saturados e poliinsaturados e manteve os ácidos graxos monoinsaturados em relação ao óleo não tratado termicamente. Os únicos ácidos graxos que sofreram redução foram o gadoléico e o erúcico (família n-9) bem como o nervônico (família n-6), todos totalmente perdidos com o aquecimento. A decomposição de óleos é diminuída se o processo

de fritura for realizado com pequena quantidade de gordura, em recipientes que proporcionem um menor contato com o oxigênio. Além disso, o processo de rancificação pode ser diminuído se o óleo for guardado em recipientes de vidro ou de plástico, sem exposição à luz (29-30). Deve-se também ter cuidado para que, durante os processos que utilizam aquecimento, a temperatura do óleo vegetal não ultrapasse os 170°C, já que em temperaturas mais elevadas ocorre a emissão de fumaça e o início dos processos oxidativos. É importante ainda que os resíduos alimentares liberados durante a fritura sejam retirados, assim como certificar-se de que não há detergente ou materiais de limpeza no recipiente onde o óleo será aquecido (31-32). Todos esses cuidados foram tomados antes e durante o aquecimento do óleo, podendo ser este um dos motivos pelo qual praticamente não houve redução dos ácidos graxos.

Mesmo com uma temperatura maior do que 170°C, o tempo de aquecimento de 30 minutos sob temperatura constante e sem a presença de alimentos pode ter contribuído na não ocorrência dos processos oxidativos e, conseqüentemente, na manutenção do teor de ácidos graxos insaturados. Esperava-se perdas de AGPI, visto que o óleo de linhaça é rico em ALA e AL, que são mais instáveis que os ácidos graxos monoinsaturados ou saturados por conterem várias ligações duplas entre seus átomos de carbono (33). O aquecimento também trouxe um acréscimo na concentração de ácido eláidico; como essa quantidade, porém, ainda foi menor do que a encontrada no grão de linhaça *in natura*, conclui-se que o consumo de produtos fritos no óleo de linhaça não acarrete em maior ingestão de ácidos graxos *trans*. Como o alimento frito por imersão absorve parte do óleo no qual está sendo processado (26), pode-se inferir que a fritura em óleo de linhaça seja uma alternativa para aumentar as quantidades de ALA e demais ácidos graxos insaturados nos alimentos. O consumo de óleo *in natura*, na adição de saladas frias, por exemplo, também é um caminho para aumentar o consumo de ácidos graxos

n-3 nos indivíduos que não têm o hábito de consumir peixes de águas frias ou possuem aversão ou alergia alimentar aos mesmos (6).

Foi possível observar que o tratamento térmico não aumentou significativamente a relação n-6:n-3 em nenhum dos tratamentos com o grão de linhaça, e diminuiu no óleo aquecido. A dieta ocidental possui, atualmente, relação elevada de n-6:n-3, com 15:1, 16,7:1. Razões menores têm sido relacionadas a melhorias da qualidade de vida: 4:1 foi associada com redução de 70% nas mortes por doenças cardiovasculares, 2,5:1 reduziu a proliferação de células cancerosas em pacientes com neoplasia colorretal, 2-3:1 diminuiu a inflamação em pacientes com artrite reumatóide, e uma relação 5:1 foi benéfica para asmáticos. Uma razão n-6:n-3 ótima varia de indivíduo para indivíduo e de acordo com o quadro de saúde deste (8,34), entretanto as evidências apontam a necessidade urgente de equilibrar o consumo de ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, buscando alternativas para a modificação do perfil lipídico dos alimentos industrializados, reduzindo os riscos à saúde da população.

Não basta, porém, aumentar o conteúdo de ALA ou outros ácidos graxos n-3 nos alimentos: é necessário garantir que eles se mantenham disponíveis até o momento do consumo. Nesse sentido, uma característica importante do grão de linhaça não analisada nesse estudo, mas que é de grande relevância, refere-se à estabilidade ao longo do tempo. Aguiar et al. (35) avaliaram o comportamento da porção lipídica na linhaça moída estocada à temperatura ambiente e sob refrigeração, nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias, não havendo formação de peróxidos ou alteração significativa nas concentrações de ALA e AL.

A linhaça mostrou-se bastante estável quando submetida a diferentes processamentos envolvendo altas temperaturas. A adição de linhaça, seja como óleo ou na forma de grão, em alimentos *in natura*, assados ou fritos, pode ajudar na redução do consumo exagerado de AL (presente em altas concentrações no óleo de soja, milho, arroz, etc.) e na elevação do consumo de n-3, equilibrando a ingestão lipídica e aumentando a qualidade de vida da população.

AGRADECIMENTOS

À empresa Cisbra Alimentos pela doação da linhaça e do óleo de linhaça. Ao CNPq e à CAPES pelo auxílio financeiro. Ao Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos (UFSM) pelo espaço físico e auxílio em todos os momentos. Ao Laboratório de Química de Alimentos da Unicamp que, por meio do Programa de Apoio e Cooperação entre cursos de Pós-Graduação *Stricto Sensu* “Casadinhos” da FAPERGS possibilitou o intercâmbio de conhecimento.

REFERÊNCIAS

- (1) Pinto, F. Senai/RS. SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. *Produção de farinha*. 2007. Available in: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Access: oct 30th.2008.
- (2) Campos, V. CETEC - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. *Produção e beneficiamento de sementes de linhaça*. 2007. Available in: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Access: sep 17th.2007.
- (3) Bombo, A. Obtenção e caracterização nutricional de *snacks* de milho (*Zea mays L.*) e linhaça (*Linum usitatissimum L.*). Master dissertation – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- (4) United States Department of Agriculture USDA. *National nutrient database for standard reference, Release 20*. Available in: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Access: jun 20th. 2008.
- (5) Oomah, B.; Mazza, G. Productos de linaza para lah prevención de enfermedades. In: *Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado*; Mazza, G., Acribia: Zaragoza, Spain, 2000. 457pp.
- (6) Choo, W.S.; Birch, J.; Dufour, J.P. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Compos.Anal.* **2007**, 20, 202-211.
- (7) Wiesenfeld, P.W.; Babu, U.S.; Collins, T.F.X.; Sprando, R.; O'Donnell, M.W.; Flynn, T.J. et al. Flaxseed increased α -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. *Food Chem Toxicol.* **2003**, 41, 841-855.
- (8) Yoshiara, L.Y. Efeito do método de cocção sobre o teor de ômega 3 em pescado. Master dissertation – Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil, 2007.

- (9) Simopoulos, A.P. The omega-6/omega-3 fatty acids ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pac. J. Clin. Nut.* **2008**, 17, 131-134.
- (10) Tarpila, A.; Wennberg, T.; Tarpila, S. Flaxseed as a functional food. *Current Topics in Nutraceutical Research.* **2005**, 3, 167-188.
- (11) Martin, C.A.; Almeida, V.V.; Ruiz, M.R.; Visentainer, J.E.L.; Matshushita, M.; Souza, N.E. et al. Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição.* **2006**, 19, 761-770.
- (12) Youdim, K.A.; Martin, A.; Joseph, J.A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci.* **2006**, 1, 386-99.
- (13) Sanhueza, J.; Nieto, S.; Valenzuela, A. Acido docosahexaenoico (DHA), desarrollo cerebral, memoria y aprendizaje: la importancia de la suplementación perinatal. *Rev. Chil.nutr.* **2004**, 31, 84-92.
- (14) Villarroel, M.; Pino, L.; Hazbún, J. Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (*Linum usitatissimum*). *ALAN.* **2006**, 56, 181-191.
- (15) Varlet, V.; Prost, C.; Serot, T. Analytical, nutritional and clinical methods volatile aldehydes in smoked fish: analysis methods, occurrence and mechanisms of formation. *Food Chem.* **2007**, 105, 1536-56.
- (16) Zheng, Y.L.; Wiesenborn, D.P.; Tostenson, K.; Kangas, N. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. *J. Food Eng.* **2005**, 66, 193-202.
- (17) Wong, D.W.S. Química de los alimentos: mecanismos y teoría. Acríbia S.A.: Zaragoza, Spain, 1995.
- (18) Association of Official Analytical Chemists AOAC. *Official Methods of Analysis of the AOAC International.* 16th ed., Supplement 1998. AOAC: Washington, 1995. 1018p.
- (19) Bligh, E.G.; Dyer, W.J., A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem.Physiol.* **1959**, 37, 911-917.
- (20) Hartman, L.; Lago, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Laboratory Practice.* **1973**, 22, 475-477.
- (21) Mazalli, M.R.; Brgagnolo, N. Validation of two methods for fatty acids analysis in eggs. *Lipids.* **2007**, 42, 483-490.
- (22) American Oil Chemists' Society AOCS. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society.* 5th ed. AOCS: Campaign, 1997.
- (23) Ackmam, R.G.; Sipos, J.C. Application of specific response factors in the gas chromatographic analysis of ethyl esters of fatty acids with flame ionization detectors. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1964**, 41, 377-378.

- (24) Nepa; Unicamp. Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO. 2.ed., NEPA-UNICAMP: Campinas, Brasil, 2006. Available in: < <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>. Access: jul 10th.2008.
- (25) SAS Institute. SAS 9.1.3 service pack3. Cary: SAS Institute, 2003.
- (26) Ferreira, M.W.; Bressan, M.C.; Souza, X.R.; Vieira, J.O.; Faria, P.B.; Andrade, P.L. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757). *Ciênc. Agrotec.* **2007**, 31, 798-803.
- (27) Gokoglu, N.; Yerlikaya, P.; Cengiz, E. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chem.* **2004**, 84, 19-22.
- (28) Yoshida, H.; Tomiyama, Y.; Hirakawa, Y.; Mizushima, Y. Microwave roasting effects on the oxidative stability of oils and molecular species of triacylglycerols in the kernels of pumpkin (*Cucurbita spp*) seeds. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, 19, 330-339.
- (29) Chung, M.J.; Kang, A.Y.; Park, S.O.; Park, K.W.; Jun, H.J.; Lee, S.J. The effect of essential oils of dietary wormwood (*Artemisia princeps*), with and without added vitamin E, on oxidative stress and some genes involved in cholesterol metabolism. *Food Chem. Toxicol.* **2007**, 45, 1400-1409.
- (30) Saguy, I.S.; Dana, D. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *J. Food Eng.* **2003**, 56, 143-52.
- (31) Coenders, A. Química culinária: estudio de lo que les sucede a los alimentos antes, durante y después de cocinados. Acríbia S.A.: Zaragoza, Spain, 2001.
- (32) Paul, S.; Mittal, G.S. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. *Food Sci. Nutr.* **1997**, 37, 637-62.
- (33) Chen, Y.C.; Nguyen, J.; Semmens, K.; Beamer, S.; Jaczynski, J. Chemical changes in omega-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during abrasive-temperature storage. *Food Control.* **2008**, 9, 599-608.
- (34) Simopoulos, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic disease. *Exp Biol Med.* **2008**, 233, 674-688.
- (35) Aguiar, A.C.; Netto, R.M.; Perazolo, G.C.; Souza, N.E.; Matsushita, M.; Visentainer, J.V. Efeito do tempo e temperatura de estocagem sobre a estabilidade lipídica e a composição centesimal de linhaça (*Linum usitatissimum*) moída. In *XII Congresso Latinoamericano de Óleos e Gorduras*. Florianópolis, Brasil; 2007.

Tabela 1 – Teor lipídico, em 100g, da linhaça submetida a diferentes temperaturas.

Tratamento	Lipídio (g%)
LC*	39,69
L150*	36,56
L180*	37,17
LM*	37,14
OL**	99,01
OF**	99,01

* Valor calculado em base seca (n = 3). ** Valor calculado na amostra integral (n = 3). **LC**: grão de linhaça *in natura*; **L150**: grão de linhaça assado em forno elétrico a 150°C por 40 minutos, com forno pré-aquecido na mesma temperatura por 5 minutos; **L180**: grão de linhaça assado em forno elétrico a 180°C por 40 minutos, com forno pré-aquecido na mesma temperatura por 5 minutos; **LM**: grão de linhaça aquecido em forno de microondas, potência máxima (950W) por 5 minutos, sendo homogeneizado na metade do tempo; **OL**: óleo de linhaça *in natura*; **OF**: óleo de linhaça aquecido a 180°C por 30 minutos, em contato com o oxigênio.

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos saturados (AGS) do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes tratamentos, em g de ácido graxo/100g de alimento.

AG	LC	L150	L180	LM	OL	OF
10:0	0,021±0,00 ^a	0,013±0,0 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
12:0	0,031±0,00 ^a	0,019±0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
14:0	0,139±0,00 ^b	0,184±0,01 ^a	0,116±0,01 ^c	0,099±0,02 ^c	0,056±0,00 ^d	0,112±0,00 ^c
15:0	0,034±0,00 ^b	0,021±0,00 ^b	0,014±0,00 ^b	0,015±0,00 ^b	0,041±0,00 ^b	0,068±0,02 ^a
16:0	3,550±0,06 ^b	3,232±0,05 ^b	2,786±0,00 ^c	2,474±0,10 ^c	6,926±0,07 ^a	7,230±0,36 ^a
17:0	0,083±0,01 ^b	0,046±0,00 ^c	0,040±0,00 ^c	0,040±0,01 ^c	0,091±0,00 ^b	0,142±0,01 ^a
18:0	1,991±0,02 ^b	1,757±0,01 ^b	1,820±0,28 ^b	1,402±0,01 ^c	3,598±0,01 ^a	3,688±0,15 ^a
20:0	0,072±0,01 ^c	0,058±0,00 ^c	0,058±0,01 ^c	0,052±0,01 ^c	0,118±0,02 ^b	0,168±0,02 ^a
22:0	0,076±0,00 ^c	0,138±0,01 ^c	0,163±0,02 ^{bc}	0,138±0,02 ^c	0,249±0,01 ^b	0,438±0,09 ^a
24:0	0,00 ^d	0,00 ^d	0,072±0,02 ^c	0,060±0,01 ^c	0,124±0,00 ^b	0,232±0,02 ^a
AGS	5,996±0,11^c	5,464±0,06^{cd}	5,068±0,23^d	4,281±0,10^c	11,202±0,07^b	12,078±0,59^a

AG: ácidos graxos; 10:0: ácido cáprico; 12:0: ácido láurico; 14:0: ácido mirístico; 15:0: ácido pentadecílico; 16:0: ácido palmítico; 17:0: ácido margárico; 18:0: ácido esteárico; 20:0: ácido araquídico; 22:0: ácido behênico; 24:0: ácido lignocérico; AGS: ácido graxo saturado total. Resultados expressos em média±DP. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05 (n = 3).

Tabela 3 – Composição de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes tratamentos, em g de ácido graxo/100g de alimento.

AG	LC	L150	L180	LM	OL	OF
16:1n-7	0,134±0,02 ^a	0,068±0,00 ^b	0,070±0,02 ^b	0,062±0,01 ^b	0,084±0,01 ^b	0,166±0,02 ^a
18:1n-9c	8,152±0,12 ^b	7,544±0,09 ^{bc}	7,866±1,31 ^b	6,240±0,26 ^c	17,205±0,19 ^a	17,573±0,44 ^a
20:1n-9	0,028±0,00 ^b	0,034±0,00 ^b	0,104±0,01 ^a	0,044±0,01 ^b	0,092±0,01 ^a	0,00 ^c
22:1n-9	0,005±0,00 ^d	0,073±0,01 ^a	0,020±0,00 ^c	0,00 ^d	0,040±0,00 ^b	0,00 ^d
24:1n-9c	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,019±0,01 ^a	0,00 ^b
AGMI	8,320±0,09^b	7,718±0,08^{bc}	8,059±1,32^b	6,346±0,24^d	17,439±0,17^a	17,739±0,45^a
18:2n-6	4,640±0,06 ^c	4,342±0,12 ^{cd}	3,936±0,00 ^{de}	3,621±0,16 ^e	10,008±0,43 ^b	11,277±,29 ^a
18:3n-6	0,128±0,02 ^{bc}	0,084±0,00 ^c	0,158±0,01 ^b	0,098±0,02 ^c	0,156±0,02 ^b	0,318±0,04 ^a
18:3n-3	17,372±0,21 ^c	16,028±0,66 ^{cd}	14,652±0,00 ^{de}	13,346±0,57 ^e	36,612±1,64 ^b	45,209±1,05 ^a
20:2n-6	0,035±0,01 ^b	0,026±0,01 ^b	0,00 ^c	0,00 ^c	0,071±0,01 ^a	0,057±0,01 ^a
20:3n-3	0,011±0,00 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
AGPI	22,227±0,24^c	20,481±0,78^{cd}	18,744±0,01^{de}	17,065±0,71^e	46,846±2,09^b	56,860±1,39^a
18:1n-9t	0,074±0,0 ^a	0,013±0,00 ^{de}	0,022±0,00 ^{bc}	0,019±0,01 ^{cd}	0,008±0,00 ^e	0,027±0,00 ^b
n-6:n-3	0,276±0,00^a	0,278±0,00^a	0,280±0,00^a	0,279±0,00^a	0,280±0,00^a	0,258±0,00^b

AG: ácidos graxos; C16:1n-7: ácido palmitoléico; 18:1n-9c: ácido oléico; 20:1n-9: ácido gadoléico; 22:1n-9: ácido erúico; 24:1n-9c: ácido nervônico; AGMI: ácido graxo monoinsaturado total; 18:2n-6: ácido linoléico; 18:3n-6: ácido gama-linolênico; 18:3n-3: ácido alfa-linolênico ou ALA; 20:2n-6: ácido eicosadienóico; 20:3n-3: di-homo-alfa-linolênico; AGPI: ácido graxo poliinsaturado total; 18:1n-9t: ácido eláidico. Resultados expressos em média±DP. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05 (n = 3).

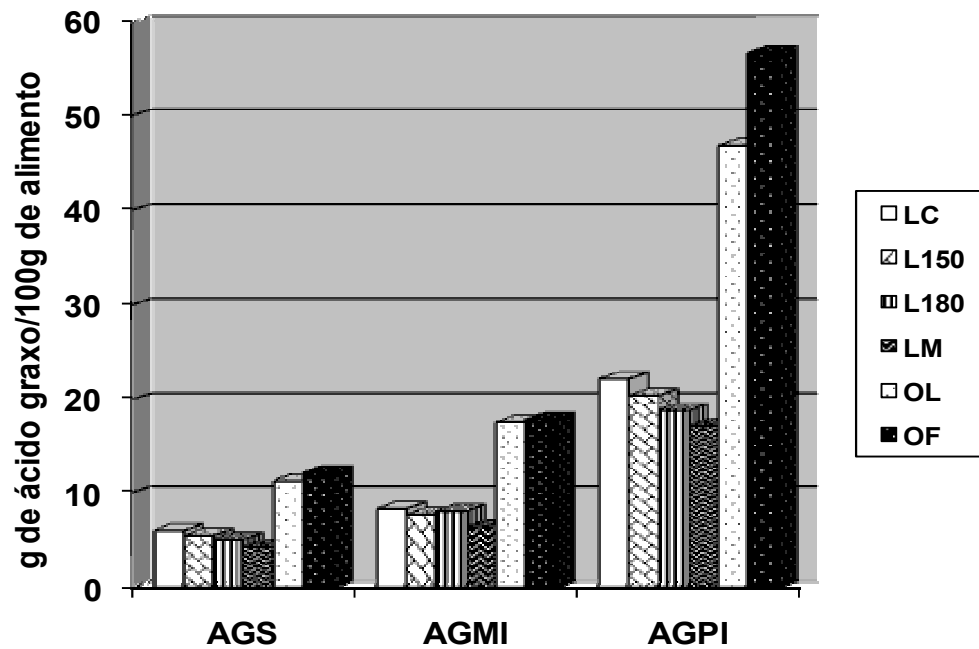


Figura 1 – Concentração, em 100g de alimento, de ácidos graxos saturados totais (AGS), ácidos graxos monoinsaturados totais (AGMI) e ácidos graxos poliinsaturados totais (AGPI) nos tratamentos submetidos a diferentes temperaturas.

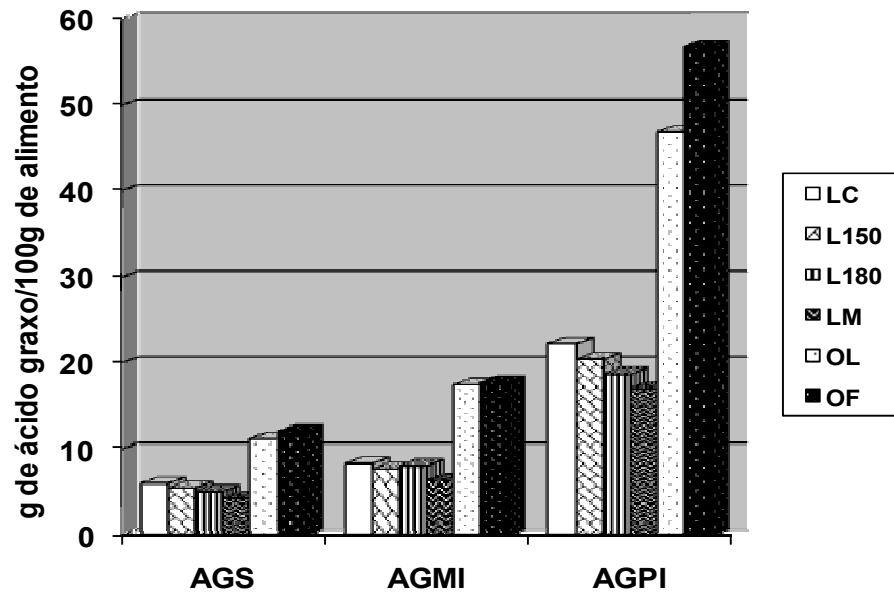


Figura 2 – Relação n-6:n-3, em 100g de alimento, nos tratamentos submetidos a diferentes temperaturas.

4 DISCUSSÃO

A partir da análise química (Artigo 1), verificou-se que a linhaça utilizada para a confecção das rações e para a análise do perfil de ácidos graxos é rica em lipídio (37,04g%), assim como em proteína (16,69g%) e em fibras alimentares (32,9g%), o que reforça sua conhecida propriedade funcional (OOMAH; MAZZA, 2000).

No ensaio biológico (Artigo 1), momento em que os animais receberam quatro tipos de ração (P: ração padrão conforme AIN isenta de linhaça; LC: ração com 16% de linhaça crua; LA: ração com 16% de linhaça assada; e OL: ração com substituição do óleo de soja por óleo de linhaça), constatou-se que a utilização do grão de linhaça cru, do grão assado e do óleo de linhaça resultou positivamente *in vivo*. Mesmo que alguns resultados não tenham apresentado diferenças significativas estatisticamente, observou-se uma diminuição nos parâmetros bioquímicos glicemia, triglicerídio e colesterol total, um aumento da excreção lipídica bem como da excreção fecal, sem alteração no desenvolvimento ponderal dos ratos nos tratamentos adicionados de linhaça. Salienta-se que os resultados mais positivos foram detectados nos animais que receberam o grão da linhaça *in natura* (LC). Dados semelhantes em outros estudos têm apontado o grão de linhaça como benéfico, tal como postulam Lucas et al. (2004), os quais observaram que o grão da linhaça é eficiente na prevenção de alterações no colesterol total plasmático em *hamsters* ovariectomizadas. Do mesmo modo Cintra et al. (2006) compararam uma dieta com linhaça a dietas compostas de outras fontes lipídicas e verificaram alta excreção fecal de lipídio nos ratos alimentados com o grão, assim como os melhores valores de colesterol total e triglicerídio sérico em relação aos demais tratamentos.

O grupo que consumiu ração suplementada com o óleo de linhaça (OL) obteve resultados melhores, porém semelhantes estatisticamente ao grupo controle (P), supondo-se com isso que a propriedade de alimento funcional da linhaça deva-se ao alimento como um todo, e não especificamente à porção lipídica (WIESENFELD et al., 2003). O grão de linhaça contém, além de ácidos graxos essenciais, fibra insolúvel e solúvel. A fibra insolúvel aumenta o volume das fezes, sendo benéfica no tratamento da constipação, da síndrome do intestino irritável e na doença diverticular; já a fibra solúvel serve como fonte energética para a microflora intestinal, aumenta o poder de saciedade e ajuda no controle dos parâmetros bioquímicos (TARPILA; WENNERBERG; TARPILA, 2005).

No artigo 2, realizou-se a análise do perfil lipídico do grão e do óleo de linhaça submetidos a diferentes processos envolvendo altas temperaturas. Os tratamentos analisados foram grão de linhaça *in natura* (LC); grão de linhaça assado em forno elétrico a 150°C por 40 minutos (L150); grão de linhaça assado em forno elétrico a 180°C por 40 minutos (L180); grão de linhaça aquecido em forno de microondas (LM); óleo de linhaça *in natura* (OL); e óleo de linhaça aquecido a 180°C por 30 minutos, em contato com o oxigênio (OF).

A análise do perfil de ácidos graxos destes experimentos corrobora com a suposição de que os benefícios da ingestão de linhaça não são ocasionados somente pelo alto teor de ácidos graxos insaturados, pois, entre os tratamentos testados *in vivo*, as maiores concentrações de ácidos graxos poliinsaturados e de ácido α -linolênico foram detectadas no óleo de linhaça (46,85g de AGPI e 36,61g de ALA em 100g de alimento), enquanto os melhores resultados no ensaio biológico foram encontrados nos grupos alimentados com os grãos cru e assado (LC e LA). Salienta-se que as alterações biológicas causadas pelo consumo da ração com óleo de linhaça foram melhores do que a dieta padrão, a qual é extremamente equilibrada em macro e micronutrientes, suprimindo todas as necessidades do animal; se a ingestão da ração com o óleo de linhaça resultou em dados semelhantes ou melhores ao da dieta padrão, conclui-se que a ingestão de óleo de linhaça seja benéfica.

Como foi mencionado anteriormente, a linhaça crua (LC) mostrou ter maior atividade biológica em ratos quando comparada aos grupos alimentados com linhaça assada ou óleo de linhaça. Por meio da cromatografia gasosa, verificou-se que, entre os tratamentos oferecidos aos animais, a linhaça crua foi o que apresentou menor quantidade de ácidos graxos da família n-6 (18:2n-6, 18:3n-6 e 20:2n-6) e maior quantidade de ácidos graxos da família n-3 (18:3n-3 e 20:3n-3), com razão n-6:n-3 de 0,276. A dieta ocidental possui, atualmente, uma razão elevada de n-6:n-3, com 15:1, 16,7:1. Relações menores têm sido atribuídas a melhorias na qualidade de vida, tais como redução nas mortes por doenças cardiovasculares, menor proliferação de células cancerosas em pacientes com neoplasia colorretal e diminuição de processos inflamatórios (YOSHIARA, 2007; SIMOUPOLOS, 2008b).

O aquecimento do grão de linhaça em forno elétrico a 180°C por 40 minutos ocasionou uma pequena diminuição na sua atividade biológica, tanto em relação aos parâmetros bioquímicos quanto na produção de fezes, se comparado ao grão *in natura*. Essa redução, no entanto, não foi importante estatisticamente. Por meio do perfil de ácidos graxos, constatou-se que houve uma perda significativa de ácido α -linolênico no grão assado a 180°C (de 17,33g na linhaça crua para 14,65g na linhaça assada). Mesmo com o aquecimento manteve-se no grão uma quantidade importante de ALA, a qual foi suficiente para ocasionar

alterações positivas no perfil lipídico dos animais. Diante desses resultados, supõe-se que a aplicação de altas temperaturas na linhaça diminui a concentração de ALA, mas não inibe a propriedade funcional do grão.

Os tratamentos L150 (grão de linhaça aquecido em forno elétrico a 150°C por 40 minutos), LM (grão aquecido em forno de microondas por 5 minutos) e OF (óleo aquecido a 180°C por 30 minutos) não foram testados nas cobaias. Tendo em vista os resultados obtidos por meio da cromatografia gasosa, é provável que o tratamento L150 ocasionasse uma resposta biológica semelhante ao grupo que recebeu o grão *in natura* (visto não haver diferenças estatísticas no perfil lipídico entre LC e L150), assim como o óleo aquecido (OF) e o óleo *in natura* (OL), os quais também não apresentaram diferenças significativas no perfil de ácidos graxos. Já o grão aquecido em forno de microondas (LM) sofreu perdas significativas tanto de ácidos graxos saturados como de ácidos graxos insaturados, quando comparado ao grão de linhaça cru (LC). Baseando-se no fato de que cada alimento é formado por uma série de composições químicas complexas (FENNEMA, 1993), é improvável inferir corretamente possíveis resultados ocasionados *in vivo* pelo consumo do tratamento LM.

O ácido elaidico, isômero *trans* do ácido oléico, foi detectado em todos os tratamentos, sendo que a linhaça crua (LC) e o óleo aquecido (OF) apresentaram as maiores quantidades. Sendo o grupo que recebeu a linhaça crua o que obteve os melhores resultados dos parâmetros bioquímicos, conclui-se que a presença do ácido elaidico não trouxe prejuízos à saúde dos animais.

O consumo de linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo, possui uma atividade biológica positiva em ratos, destacando-se como hipoglicêmica, hipotrigliceridêmica, hipocolesterolêmica e por aumentar o volume do bolo fecal. Apesar dos menores benefícios causados pela linhaça processada (grão assado ou como óleo), observa-se que parte do ácido alfa-linolênico permanece no alimento e é absorvido pelo organismo. Esses dados foram confirmados pela análise do perfil de ácidos graxos, que mostrou quantidades significativas de ácidos graxos da família n-3, principalmente de ALA, em todos os tratamentos.

O efeito hipocolesterolêmico da linhaça tem importantes implicações terapêuticas em pacientes dislipidêmicos e, em adição a esse efeitos, a linhaça pode atuar diretamente sobre as paredes de vasos e artérias, prevenindo a aterosclerose. (BHATHENA et al., 2003; LUCAS et al., 2004).

5 CONCLUSÕES

a) O consumo de linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo, possui uma atividade biológica positiva em ratos, destacando-se como hipoglicêmica, hipotrigliceridêmica, hipocolesterolêmica e por aumentar a excreção fecal, sendo os melhores resultados causados pelo consumo do grão *in natura*;

b) a linhaça pode ser adotada como terapia complementar no tratamento de dislipidemias e de enfermidades relacionadas à constipação;

c) o aquecimento do óleo de linhaça a 180°C por 30 minutos aumentou as concentrações de AGS e AGPI em relação ao óleo *in natura*; o aquecimento em forno de microondas diminuiu a concentração de AGS, AGMI e AGPI em relação à linhaça crua; e o aquecimento do grão a 180°C por 40 minutos diminuiu as quantidades de AGS e AGPI se comparado ao grão *in natura*. Apesar desses resultados, a linhaça mostrou-se bastante estável quando submetida a diferentes processamentos envolvendo altas temperaturas, principalmente quando assada em forno elétrico com temperatura de 150°C por até 40 minutos;

d) a adição de linhaça, seja como óleo ou na forma de grão, em alimentos *in natura*, assados ou fritos, pode ajudar na redução do consumo exagerado de ácido linoléico (em substituição aos óleos vegetais ricos em AL) e na elevação do consumo de ácidos graxos da família n-3, equilibrando a ingestão lipídica e aumentando a qualidade de vida da população;

e) mais estudos são necessários para estipular, com segurança, as doses adequadas para humanos, de acordo com as particularidades individuais.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

a) Estudos em cobaias com o grão e o óleo de linhaça submetidos aos tratamentos em forno de microondas e fritura;

b) análise do perfil de ácidos graxos do grão de linhaça submetido a diferentes potências e frequências no forno de microondas;

c) investigação do *shelf life* do grão e do óleo submetidos a diferentes tratamentos e temperaturas variadas, por meio da análise de processos oxidativos e formação de compostos indesejáveis.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, M.K. et al. Re-evaluation of individual and combined garlic and flaxseed diets on hyperlipidemic rats. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, n.1, p.1-8, 2009.

ACKMAM, R.G.; SIPOS, J.C. Application of specific response factors in the gas chromatographic analysis of ethyl esters of fatty acids with flame ionization detectors. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 41, p.377-378, 1964.

AGUIAR, A.C. et al. J.V. Efeito do tempo e temperatura de estocagem sobre a estabilidade lipídica e a composição centesimal de linhaça (*Linum usitatissimum*) moída. In **XII Congresso Latinoamericano de Óleos e Gorduras**. Florianópolis, Brasil, 2007. CD-ROM.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 4th ed. Campaign: AOCS, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, AOAC. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed., Supplement 1998. Washington: AOAC, 1995. 1018p.

BANZATTO, D.A. **Experimentação agrícola**, 3.ed., Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.

BEHRENS, M.D.D.; NETTO-FERREIRA, J.C. Fotoquímica de alfa, alfa-dimetilvalerofenona adsorvida em celulose microcristalina. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.5-10, jan.fev.2006.

BHATHENA, S.J. et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. **Journal of the American College of Nutrition**, v.22, n.2, p.157-164, 2003.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BOMBO, A.J. **Obtenção e caracterização nutricional de snacks de milho (*Zea mays L.*) e linhaça (*Linum usitatissimum L.*)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 1999a. Disponível em: < [http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=109&word=alimentos funcionais](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=109&word=alimentos%20funcionais)>. Acesso em: 17 set.2007.

_____. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 1999b. Disponível em: < [http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=110&word=alimentos funcionais](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=110&word=alimentos%20funcionais)>. Acesso em: 17 set.2007.

CÄMMERER, B.; KROH, L.W. Shelf life of linseeds and peanuts in relation to roasting. **Food Science and Technology**, v.42, n.2, p.545-549, mar.2009.

CAMPOS, V.M.C. CETEC - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. SBRT - Serviço Brasileiro de Respostas. **Produção e beneficiamento de sementes de linhaça**. 2007. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 17 set.2007.

CHANG, N.W. et al. High polyunsaturated and monounsaturated fatty acid to saturated fatty acid ratio increases plasma very low density lipoprotein lipids and reduces the hepatic hypertriglyceridemic effect of dietary cholesterol in rats. **Nutrition Research**, v.24, p.73-83, 2004.

CHEN, H.-H.; XU, S.-Y; WANG, Z. Gelation properties of flaxseed gum. **Journal of Food Engineering**, v.77, n.2, p.295-303, 2006.

_____. Interaction between flaxseed gum and meat protein. **Journal of Food Engineering**, v.80, n.4, p.1051-1059, 2007.

CHEN, Y.C. et al. Chemical changes in omega-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during abrasive-temperature storage. **Food Control**, v.19, n.6 p.599-608, 2008.

CHOO, W.S.; BIRCH, J.; DUFOUR, J.P. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, n.3/4, p.202-211, 2007.

CHUNG, M.J. et al. The effect of essential oils of dietary wormwood (*Artemisia princeps*), with and without added vitamin E, on oxidative stress and some genes involved in cholesterol metabolism. *Food and Chemical Toxicology*, v.45, n.8, p.1400–1409, ago.2007.

CINTRA, D.E.C. et al. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. *Nutrition*, v.22, p.197-205, 2006.

COENDERS, A. **Química culinária**: estudio de lo que les sucede a los alimentos antes, durante y después de cocinados. Zaragoza: Acribia S.A, 2001.

COLLINS, T.F.X. et al. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v.41, n.6, p. 819–834, jun.2003.

COLPO, E. et al. Benefícios do uso da semente de linhaça. *Nutrição em Pauta*, n.81, p.25-28, nov.dez.2006.

CORREIA, L.F. 2001. **Linhaça**. Disponível em: <<http://lucorreianutri.hpg.ig.com.br/linhaca.htm>>. Acesso em: 12 set.2005.

FAINTUCH, J. et al. Propriedades antiinflamatórias da farinha de linhaça em pacientes obesos. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, v.21, n.4, p.273-277, 2006.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia SA, 1993.

FERREIRA, M.W. et al. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757). *Ciência e Agrotecnologia*, v 31, n.3, p.798-803, mai.jun.2007.

FILISSETTI, T.M.C.C.; LOBO, A.R. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais, cap. 7, p. 175-215. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed., Barueri: Manole Ltda, 2007.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P.; CENGIZ, E. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, v.84, n.1, p.19-22, 2004.

HARTMAN, L; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, v.22, p.475-477, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, v.1, São Paulo: o Instituto. 1985.

KAMIMURA, M.A. et al. Avaliação nutricional. In: CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**. Barueri: Manole, 2002.

LEMAY, A. et al. Flaxseed dietary supplement versus hormone replacement therapy in hypercholesterolemic menopausal women. **Obstetrics & Gynecology**, v.100, n.3, p.495-504, sep.2002.

LUCAS, E.A. et al. Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. **Atherosclerosis**, v.173, n.2, p.223-229, apr.2004.

MARTIN, C.A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, p.19, 761-770, nov.dez.2006.

MAZALLI, M.R.; BRGAGNOLO, N. Validation of two methods for fatty acids analysis in eggs. **Lipids**. v.42, n.5, p.483-490, may.2007.

MAZZEU, F.J.; DEMARCO, D.J; KALIL, L [coord.]. **Qualidade de vida, consumo e trabalho: caderno do professor /Coleção Cadernos de EJA**. São Paulo: Unitrabalho - Fundação Interuniversitária de Estudos e Pesquisas sobre o Trabalho; Brasília, DF: Ministério da Educação, SECAD - Secretaria de Educação Continuada, Alfabetização e Diversidade, 2007.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.411-424, out.dez.2004.

MORISE, A. et al. Effects of dietary alpha-linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, n.1, p.51-61, 2004.

MURASE, T.; IOKI, M.; TOKIMITSU, I. Supplementation with alpha-linolenic acid rich diacylglycerol suppresses fatty liver formation accompanied by an upregulation of β -oxidation in Zucker rats. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1733, n.2/3, p.224-231, 2005.

NEPA; UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO. 2.ed., Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. Disponível em: < <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>. Acesso em: 10 jul.2008.

NETTO, B.D.M. et al. Avaliação de mastócitos da mucosa intestinal inflamada de ratos submetidos à ingestão de ácidos graxos insaturados. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.22, n.3, p.230-236, jul.set.2007.

OOMAH, B.D.; MAZZA, G. Productos de linaza para la prevención de enfermedades. In: MAZZA, G. (Coord.). **Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado**, Zaragoza: Acribia, 2000. 457p.

PAUL, S.; MITTAL, G.S. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. **Food Science and Nutrition**, v.37, n.7, p.637-62, 1997.

PINHEIRO J.R. et al. Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da síndrome de Sjögren. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.70, n.4, p.649-655, ago.2007.

PINTO, F.S.T. SENAI/RS. SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. **Produção de farinha**. 2007. Disponível em: <<http://www.sbirt.ibict.br>>. Acesso em: 30 out.2008.

PITA, M.C.G. et al. Effect of dietary supplementation of unsaturated fatty acids and vitamin E upon yolk lipid composition and α -tocopherol incorporation into the egg yolk. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.1, p.25-31, 2004.

PITA, M.C.G. et al. Efeito da suplementação de linhaça, óleo de canola e vitamina E na dieta sobre as concentrações de ácidos graxos poliinsaturados em ovos de galinha. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.925-931, out.2006.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY JR., G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p.1939-1951, nov. 1993.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v.34, p.105-110, sep.2002.

RUIZ-ROSO, B; PÉRES-OLLEROS, L; GARCÍA-CUEVAS, M. Influencia de la fibra dietaria (FD) em la biodisponibilidad de los nutrientes, cap. 26, p. 345-370. In: LAJOLO, F M et al. **Fibra dietética en iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Varela Ltda, 2001, 472p.

SAGUY, I.S.; DANA, D. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. **Journal of Food Engineering**, v.56, p.143-52, 2003.

SANHUEZA, J; NIETO, S; VALENZUELA, A. Acido docosahexaenoico (DHA), desarrollo cerebral, memoria y aprendizaje: la importancia de la suplementación perinatal. **Revista Chilena de Nutrición**, v.31, n.2, ago. 2004.

SAS Institute. **SAS 9.1.3 service pack3**. Cary: SAS Institute, 2003.

SIMOPOULOS, A.P. The omega-6/omega-3 fatty acids ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.17, p131-134, 2008.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic disease. **Experimental Biology and Medicine**, v.233, p.674-688, apr.2008.

SOUZA, S.M.G.; ANIDO, R.J.V.; TOGNON, F.C. Ácidos graxos Ômega-3 e Ômega-6 na nutrição de peixes: fontes e relações. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.1, p.63-71, 2007.

TARPILA, A; WENNBERG, T; TARPILA, S. Flaxseed as a functional food. **Current Topics in Nutraceutical Research**, v.3, n.3, p.167-188, 2005.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE USDA. **National nutrient database for standard reference**, Release 20 [citado em 2008 Jun 20]. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>>.

VARLET, V.; PROST, C.; SEROT, T. Analytical, nutritional and clinical methods volatile aldehydes in smoked fish: analysis methods, occurrence and mechanisms of formation. **Food Chemistry**, v.105, p.1536-56, 2007.

VIJAIMOHAN, K. et al. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. **Life Sciences**, v.79, n.5, p.448-454, jun.2006.

VILLARROEL, M; PINO, L; HAZBÚN, J. Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (*Linum usitatissimum*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, n.2, jun.2006. Disponível em: <<http://www.scielo.org>>. Acesso em 15 out.2008.

VISENTAINER, J.V. et al. Relação entre teores de colesterol em filés de tilápias e níveis de óleo de linhaça na ração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.310-314, abr.jun.2005.

WEBER, A.R. et al. Improved vascular relaxation response to acetylcholine with ingestion of flaxseed in hypercholesterolemic rabbits. **Vascular Biology**. [200-]. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em:15 mar.2007.

WIESENFELD, P.W. et al. Flaxseed increased α -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, n.6, p.841-855, 2003.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza: Acríbia S.A, 1995.

YAMAMOTO, S.M. et al. Rendimentos dos cortes e não-componentes das carcaças de cordeiros terminados com dietas contendo diferentes fontes de óleo vegetal. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1909-1913, nov.dez. 2004.

YOSHIARA, L.Y. **Efeito do método de cocção sobre o teor de ômega 3 em pescado**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2007.

YOSHIDA, H. et al. Microwave roasting effects on the oxidative stability of oils and molecular species of triacylglycerols in the kernels of pumpkin (*Cucurbita spp*) seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, n.4, p.330-339, 2006.

YOUDIM, K.A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J.A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.1, n.4/5, p.386-399, jul. 2006.

ZHANG, R.; MUSTAFA, A.F.; ZHAO, X. Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese. **Small Ruminant Research**, v.63, n.3, p.233–241, 2006.

ZHENG, Y.I. et al. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. **Journal of Food Engineering**, v.66, n.2, p.193–202, jan.2005.

ANEXOS

ANEXO A - Normas de publicação do periódico Revista de Nutrição

A Revista de Nutrição/*Brazilian Journal of Nutrition* é um periódico especializado que publica artigos que contribuem para o estudo da Nutrição em suas diversas subáreas e interfaces; está aberta a contribuições da comunidade científica nacional e internacional, com periodicidade bimestral.

A Revista publica trabalhos inéditos nas seguintes categorias:

Original: contribuições destinadas à divulgação de resultados de pesquisas inéditas tendo em vista a relevância do tema, o alcance e o conhecimento gerado para a área da pesquisa.

Especial: artigos a convite sobre temas atuais.

Revisão: síntese crítica de conhecimentos disponíveis sobre determinado tema, mediante análise e interpretação de bibliografia pertinente, de modo a conter uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área, que discuta os limites e alcances metodológicos, permitindo indicar perspectivas de continuidade de estudos naquela linha de pesquisa. Serão publicados até dois trabalhos por fascículo.

Comunicação: relato de informações sobre temas relevantes, apoiado em pesquisas recentes, cujo mote seja subsidiar o trabalho de profissionais que atuam na área, servindo de apresentação ou atualização sobre o tema.

Nota Científica: dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento.

Ensaio: trabalhos que possam trazer reflexão e discussão de assunto que gere questionamentos e hipóteses para futuras pesquisas.

Processo de Revisão

Os manuscritos submetidos à Revista, que atenderem à política editorial e às “instruções aos autores”, serão encaminhados ao Comitê Editorial, que considerará o mérito científico da contribuição. Aprovados nesta fase, os manuscritos serão encaminhados aos revisores *ad hoc* previamente selecionados pelo Comitê. Cada manuscrito será enviado para três relatores de reconhecida competência na temática abordada.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, em procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

No caso da identificação de conflito de interesse da parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminhará o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Os pareceres dos consultores comportam três possibilidades: a) aceitação integral; b) aceitação com reformulações; c) recusa integral. Em quaisquer desses casos, o autor será comunicado.

A decisão final sobre a publicação ou não do manuscrito é sempre dos editores, aos quais é reservado o direito de proceder ajustes de gramática necessários. Na detecção de problemas de redação, o manuscrito será devolvido aos autores para as alterações devidas; o trabalho reformulado deve retornar no prazo máximo determinado.

Após aprovação final, encaminhar em disquete 3,5', empregando editor de texto MS Word versão 6.0 ou superior.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da Revista.

Submissão de trabalhos.

São aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Revista de Nutrição e de concordância com a cessão de direitos autorais. Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso. A carta deve indicar o nome, endereço, números de telefone e fax do autor para o qual a correspondência deve ser enviada.

Pesquisas envolvendo seres humanos

Resultados de pesquisas relacionadas a seres humanos devem ser acompanhados de cópia do parecer do Comitê de Ética da Instituição de origem, ou outro credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde. Além disso, deverá constar, no último parágrafo do item Métodos, uma clara afirmação do cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (2000), além do atendimento a legislações específicas do país no qual a pesquisa foi realizada.

Autoria

O número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou

análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nome de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima, podendo, nesse caso, figurar na seção Agradecimentos.

Os manuscritos devem conter, ao final, explicitamente, a contribuição de cada um dos autores.

Apresentação do manuscrito

Enviar os manuscritos para o Núcleo de Editoração da Revista em quatro cópias, preparados em espaço duplo, com fonte Times New Roman tamanho 12 e limite máximo de 25 páginas para **Artigo Original** ou de **Revisão**, 10-15 páginas para **Comunicação e Ensaio** e 5 páginas para **Nota Científica**. Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação. Para esclarecimentos de eventuais dúvidas quanto à forma, sugere-se consulta a este fascículo. Aceitam-se trabalhos escritos em português, espanhol ou inglês, com título, resumo e termos de indexação no idioma original e em inglês. Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50.

Página de título: deve conter: a) título completo; b) *short title* com até 40 caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês; c) nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um; d) endereço completo para correspondência com os autores, incluindo o nome para contato, telefone, fax e e-mail: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês. Para os artigos originais, os resumos devem ser estruturados destacando objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações. Não deve conter citações e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - da Bireme.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Nota Científica e Ensaio, os trabalhos deverão seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

Metodologia: deve conter descrição clara e sucinta, acompanhada da correspondente citação bibliográfica, incluindo: procedimentos adotados; universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma a serem auto-explicativas e com análise estatística. Evitar repetir dados no texto. Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros terão as bordas laterais abertas. O autor responsabiliza-se pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações e gráficos), que devem permitir redução sem perda de definição, para os tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente). Sugere-se nanquim ou impressão de alta qualidade.

Discussão: deve explorar, adequada e objetivamente, os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

Conclusão: apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Se incluídas na seção *Discussão*, não devem ser repetidas.

Agradecimentos: podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Anexos: deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, quando da primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

Referências de acordo com o estilo Vancouver

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto, baseadas no estilo *Vancouver*. Os artigos devem ter em torno de 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em

torno de 50. A ordem de citação no texto obedecerá esta numeração. Nas referências com dois até o limite de seis autores, citam-se todos os autores; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros autores, seguido de *et al.* As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus*.

Citações bibliográficas no texto: deverão ser colocadas em ordem numérica, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo “&”; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor, seguido da expressão *et al.* **A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor.**

Exemplos

Livros

Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Capítulos de livros

Monteiro CA. La transición epidemiológica en el Brasil. In: Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Artigos de periódicos

Dutra de Oliveira JE, Marchini JS. Nutritional sciences in Brazil: the pioneer work of institutions and scientists. *Nutrition*. 2004; 20(2):174-6.

Dissertações e teses

Moutinho AE. Representações sociais na manutenção do peso corporal. O que e quem o discurso revela [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.

Trabalhos apresentados em congressos, simpósios, encontros, seminários e outros

Moreira EAM, Fagundes RLM, Faccin GL, Couto MM, Torres MA, Wilhelm Filho D. The effect of alcohol ingestion during lactation on oxidative stress. In: Annals of the 17th International Congress of Nutrition & Metabolism; 2001 Aug; Austria, Vienna; 2001. Abstract 6.06.135.

Material Eletrônico

Periódicos eletrônicos, artigos

Boog MCF. Construção de uma proposta de ensino de nutrição para curso de enfermagem. Rev Nutr [periódico eletrônico] 2002 [citado em 2002 Jun 10];15(1). Disponível em: <http://www.scielo.br/rn>

Texto em formato eletrônico

World Health Organization. Micronutrient deficiencies: battling iron deficiency anaemia [cited 2002 Nov 11]. Available from: <http://www.who.int/nut/ida.htm>

Programa de computador

Dean AG, et al. *Epi Info* [computer program]. Version 6: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on micro-computers. Atlanta, Georgia: Centers of Disease Control and Prevention; 1994.

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do *Committee of Medical Journals Editors* (Grupo Vancouver) (<http://www.icmje.org>).

Lista de checagem

- Declaração de responsabilidade e transferência de Direitos Autorais assinada por cada autor
- Enviar ao editor quatro vias do manuscrito
- Incluir título do manuscrito, em português e inglês
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências está reproduzido com letras *Times New Roman*, corpo 12 e espaço duplo, e margens de 3 cm
- Incluir título abreviado (*short title*), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas impressas
- Incluir resumos estruturados para trabalhos e narrativos, para manuscritos que não são de pesquisa, com até 150 palavras nos dois idiomas português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação
- Legenda das figuras e tabelas
- Página de rosto com as informações solicitadas
- Incluir nome de agências financiadoras e o número do processo
- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, ano de defesa e número de páginas
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo *Vancouver*, ordenadas na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto e se todas estão citadas no texto
- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas

- Parecer do Comitê de Ética da Instituição, para pesquisa com seres humanos

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Cada autor deve ler e assinar os documentos (1) Declaração de Responsabilidade e (2) Transferência de Direitos Autorais.

Primeiro autor:

Autor responsável pelas negociações:

Título do manuscrito:

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

- certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo;
- certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Revista de Nutrição, quer seja no formato impresso ou no eletrônico, exceto o descrito em anexo.

Assinatura do(s) autores(s) Data / /

2. Transferência de Direitos Autorais: “Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Revista de Nutrição passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à Revista”.

Assinatura do(s) autores(s) Data / /

ANEXO B - Normas de publicação do periódico *Journal of Agricultural and Food Chemistry*

Manuscripts **must** be submitted via the web using the Paragon Plus Environment (<http://paragonplus.acs.org>). The site's security features limit access to a manuscript to those Editors and reviewers to whom that manuscript is assigned. If coauthors' e-mail and contract information are entered during the submission process, they will be able to track the progress of the manuscript on their own Paragon Plus web pages; however, communications from the editorial offices will be limited to the corresponding author. Authors must also submit revised manuscripts via the ACS Paragon Plus Environment.

E-mailed submissions and hardcopy submissions will not be processed.

All manuscripts **must** be accompanied by a cover letter that includes eight specific points:

1. manuscript title;
2. corresponding author's name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address;
3. if manuscript is not submitted by the corresponding author, submitter's name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address;
4. e-mail addresses of all coauthors;
5. designation of the *Journal's* subject category that best fits the manuscript (see list under Journal Scope in these instructions);
6. **explanation of the manuscript's significance, including its originality, its contribution to new knowledge in the field, and its relevance to research in agricultural and food chemistry;**
7. list of graphics the author would like to have published in color;
8. **list of at least four recommended reviewers** for the manuscript; include the address, telephone and fax numbers, and e-mail address for each suggested reviewer; do not include reviewers who may have a conflict of interest or are from the authors' department or unit or who are Associate Editors of the *Journal*

Submissions that do not include a cover letter addressing these eight points will not be processed.

Complete instructions for manuscript preparation and a copyright status form are available at the *Journal's* Website

and are also printed in the first issue of each volume. Please conform to these instructions when submitting manuscripts.

Authors whose manuscripts are published in the *Journal* will be expected to review manuscripts submitted by other researchers from time to time.

JOURNAL SCOPE

The *Journal of Agricultural and Food Chemistry* publishes complete or full-length fundamental and applied research papers dealing with the chemistry and biochemistry of agriculture and food. The *Journal* also encourages papers with chemistry and/or biochemistry as a major component combined with biological/sensory/nutritional/toxicological evaluation related to agriculture and/or food.

The *Journal* is organized into the following sections:

Analytical Methods

Bioactive Constituents

Biofuels and Bioproducts Chemistry

Chemical Aspects of Biotechnology/Molecular

Biology

Chemical Aspects of Food Safety

Chemical Changes Induced by Processing/Storage

Chemical Composition of Foods/Feeds

Crop and Animal Protection Chemistry

Environmental Chemistry

Flavors and Aromas/Chemosensory Perception

Food Chemistry/Biochemistry

Molecular Nutrition

Toxicology in Agriculture and Food

MANUSCRIPT TYPES

Research articles must report *original research that is expected to have a definable impact on the advancement of science and technology, incorporating a significant component of innovative chemistry*. Originality will be documented by novel experimental results, theoretical treatments, interpretations of data, and absence of prior publications on the same/similar topics.

Expedited Handling. There is no separate Rapid Communications, Notes, or Letters section. However, manuscripts describing results deemed to be highly important and urgent in a field of research will be considered for expedited processing and review. **Only manuscripts reporting complete research, as opposed to preliminary results, will be considered.** A request for expedited handling, along with justification for the request, must be included in the cover letter accompanying the manuscript.

Review articles will be considered that summarize information in a field in which the literature is scattered or treat published data or other information so as to provide a new approach or stimulate further research. Authors considering the preparation of a review **should submit a synopsis to the Editor** to establish whether the manuscript will meet these guidelines.

Perspectives, which explore needs and opportunities in agricultural and food chemistry in a less technical format than a review article, will be considered. Authors should **contact the Editor** to outline the area to be covered before submitting a Perspectives manuscript. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4281–4288.

Comments related to published papers will be considered from readers if the correspondence is **received within six months of the date of publication of the original paper**; the authors of the original paper will be given the **opportunity to reply** to such comments within two months, if they so desire. Both comments and replies should not exceed 1000 words each, including citations, and will be published consecutively in the same issue of the *Journal* after peer review. For examples, see *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7213–7214 and *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7215–7216.

Symposia or Topical Collections. The Editor will consider publication of a series of manuscripts reporting or synthesizing original research that are presented in a symposium or otherwise clustered around a single topic. Prospective organizers should **contact the Editor well in advance** to determine whether the subject matter conforms to the *Journal's* goals, criteria, and available space and to obtain specific instructions for submission of the manuscripts. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3749–3797. Each manuscript will be put through the normal peer-review process.

ETHICS, CONFLICT OF INTEREST

Authors and coauthors are responsible for the integrity of their manuscripts. The Editor may impose a 2 year submission moratorium on authors and coauthors that are found to be in violation of the ethical guidelines.

Authors and coauthors should familiarize themselves by reading the entire *Ethical Guidelines to Publication of Chemical Research*, which are available at the *Journal's* website and are also published in the first issue each year.

Some particularly important points from the ACS Ethical Guidelines are the following:

Multiple Reporting of Research. It is improper for an author to submit manuscripts describing essentially the same research to more than one journal. Resubmission of a manuscript rejected or withdrawn from publication is permissible. Authors are expected to use care when submitting reports of research previously presented at meetings so that double publication does not occur. This applies to figures and tables as well as text. Publication of research in non-English journals constitutes prior publication. (For a discussion of copyright issues related to the use of tables, figures, or text that are published elsewhere, see *The ACS Style Guide*, 3rd ed., Chapter 7.)

Plagiarism. The Editors of this journal will not tolerate plagiarism, including self-plagiarism.

Coauthorship. The submitting author must obtain consent to coauthorship from all coauthors listed prior to submitting the manuscript and include as coauthors all individuals who made significant scientific contributions to the work. Any disagreement between the corresponding author and coauthors after the manuscript is submitted will cause review of the manuscript to cease. (For a discussion of coauthorship, see *The ACS Style Guide*, 3rd ed., Chapter 1.)

Conflict of Interest. Research involving an evaluation of commercial products should not reveal the brand names of such products unless information regarding their manufacture has been made public by the company producing the product. Codes such as letters (A, B, C, etc.) or numbers (1, 2, 3, etc., or I, II, III, etc.) may be used for purposes of identification. If brand names are used, the authors should disclose at the time of submission any financial arrangement they may have with a company whose product figures prominently in the submitted manuscript or with a company making a competing product. An editorial decision will then be made as to whether the manuscript being submitted should be sent out for review. If the paper is deemed to be suitable for review, information concerning any financial arrangement the authors may have with a given company will be held in confidence and will not influence the evaluation of the research and whether the manuscript can be accepted for publication. As a guiding principle, however, it is expected that the authors of such papers should not have any financial interest in a company (or its competitor) that makes a product

discussed in the paper. These guidelines do not generally apply to the use of brand names or to the identification of the producers of products that are used for analytical purposes such as instruments, reagents, or kits.

EDITORIAL PEER REVIEW PROCESS

Peer review is used to help ensure the **highest possible quality** in published manuscripts. For a discussion of this, see “The Importance of Peer Review” by H. L. Wheeler and W. B. Wheeler, *J. Agric. Food Chem.* (Editorial) **2006**, *54*, 8983-8983. Scientists with expertise in the subject matter being treated will evaluate the manuscript for validity of the experimental design and results, originality, significance, and appropriateness to the *Journal*. **The Editors may exercise their prerogative to decline a manuscript without peer review if that paper is judged to be outside the scope of the *Journal* (lacks significant chemistry/biochemistry), poorly written or formatted, fragmentary and marginally incremental, or lacking in significance.** Manuscripts describing properties of crude extracts, without detailing the chemical composition of the extracts responsible for the described properties, will generally not be accepted for review.

All manuscripts submitted are reviewed and handled by the Editor-in-Chief or assigned to one of the Associate Editors. The Associate Editor and local Editorial Assistant are then responsible for the assigned manuscripts, including acknowledging receipt, evaluating the content and format of the paper, selecting reviewers, monitoring the progress of the review process, evaluating the comments of reviewers and forwarding them to the authors for their response, communicating ultimate acceptance or rejection to the corresponding authors, and carrying out a final check of accepted manuscripts for appropriate format and style.

Typically, three reviewers are selected per paper on the basis of the subject matter, available expertise, and the Editor’s knowledge of the field. Potential reviewers for each paper are identified by various means, including a computerized search of the subject area. Authors must submit the names and addresses (including e-mail addresses and fax numbers) of at least four potential reviewers; however, the Editors are under no obligation to use specific individuals. Reviewers are normally asked to provide their assessments within two to three weeks. Anonymous copies of the reviews and the Editor’s decision regarding the acceptability of the manuscript are sent to the corresponding author. If the reviewers’ evaluations of the manuscript disagree, or if reviewer’s and Editor’s comments are not satisfactorily addressed by the authors, the Editor may reject the manuscript or select additional reviewers. These

additional reviews are used by the Editor to assist in reaching the final decision regarding disposition of the manuscript.

The obligations of the Editors and Reviewers are outlined in the *Ethical Guidelines*.

Documents accepted for publication will be **posted on the *Journal's* ASAP website** as soon as they are ready for publication, that is, when the author's galley proof corrections have been made and all author concerns are resolved. This can occur anywhere from 2 to 8 weeks in advance of the cover date of the printed issue. Authors should take this into account when planning their intellectual and patent activities related to a document. The actual date on which the document is posted on the web is recorded in a separate line at the bottom of the first page of the document in the issue.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscript Format. Manuscripts must be prepared using accepted word-processing software, and all parts must be double-spaced. All pages must be numbered consecutively starting with the title page and including tables and figures. PDF submissions must include line numbers at the left for the abstract and text, but no line numbers on tables. **Do not include line numbering on Word files**; Paragon Plus inserts line numbers during conversion to pdf. A standard font, in a size of 12 points or greater, must be used. The *Journal* requires authors to stay within a **20 typed page limit**, not including references, tables, and figures.

Standard American English usage is required. Authors who are not familiar with standard American English are urged to seek assistance; deficiencies in grammar may be a serious hindrance during the review process.

The ACS Style Guide (3rd ed., 2006; ISBN 0-8412-3999-1), available from Oxford University Press, Order Department, 201 Evans Road, Cary, NC 27513, provides a detailed treatment of the fundamentals of manuscript preparation. Refer to a current issue of the *Journal* for general style.

The various sections of the manuscript should be assembled in the following sequence:

Title and authorship (single page)

Abstract and keywords (single page)

Introduction

Materials and Methods

Results

Discussion

Abbreviations Used

Safety
Acknowledgment
Supporting Information description
Literature Cited
Figure captions
Tables
Figures
Graphic for table of contents (optional)

TITLE AND AUTHORSHIP

The title, authorship, and institutional affiliations should be included on a single page.

Title. The title should be specific and informative. Keywords in the title assist in effective literature retrieval. If a plant is referred to in the title or elsewhere in the text by its common or trivial name, it should be identified by its scientific name in parentheses immediately following its first occurrence. This term should also be provided as one of the keywords. If trade names are mentioned, give generic names in parentheses.

Authorship. Be consistent in authorship designation on the manuscript and on all correspondence. **First name, middle initial, and last name** are generally adequate for correct identification, but omit titles. Give the complete mailing address of all institutions where work was conducted and identify the affiliation of each author. If the current address of an author is different, include it in a footnote on the title page. The name of the author to whom inquiries about the paper should be addressed must be marked with an asterisk; provide the telephone and fax numbers and e-mail address of this correspondent.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Abstract. Authors' abstracts are used directly for *Chemical Abstracts*. The abstract should be a clear, concise (100–150 words), one-paragraph summary, informative rather than descriptive, giving scope and purpose, experimental approach, significant results, and major conclusions. Write for literature searchers as well as journal readers.

Keywords. Provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval. The keywords are published immediately before the text, following the abstract.

INTRODUCTION

Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. **The purpose or reason for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated.** Do not include or summarize current findings in this section.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus, reagents, and biological materials used in the study should be incorporated into a general section. List devices of a specialized nature or instruments that may vary in performance, such that the model used may affect the quality of the data obtained (e.g., spectroscopic resolution).

List and describe preparation of special reagents only. Reagents normally found in the laboratory and preparations described in standard handbooks or texts should not be listed.

Specify the source, vendor [city and state (or city and country if non-U.S.)], and availability of special equipment, reagents, kits, etc. Do not include catalog numbers.

Biological materials should be identified by scientific name (genus, species, authority, and family) and cultivar, if appropriate, together with the site from which the samples were obtained. Specimens obtained from a natural habitat should be preserved by deposit of samples in an herbarium for plants or in a culture collection for microorganisms, with a corresponding collection or strain number listed.

Manuscripts describing studies in which live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines, and **also name the institutional committee that approved the experiments** (see Reporting Specific Data: Animal or Human Studies).

Specific experimental methods should be sufficiently detailed for others to repeat the experiments unequivocally. Omit details of procedures that are common knowledge to those in the field. Brief highlights of published procedures may be included, but details must be left to the Literature Cited. Describe pertinent and critical factors involved in reactions so the method can be reproduced, but avoid excessive description. For information on the reporting of certain types of data see Reporting Specific Data. Describe statistical design and methods in this section.

RESULTS/DISCUSSION

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results in the most lucid fashion. Be complete but concise in discussing findings, comparing results with previous work and proposing explanations for the results observed.

All data must be accompanied by appropriate statistical analyses, including complete information on sampling, replication, and how the statistical method employed was chosen.

Avoid comparisons or contrasts that are not pertinent, and avoid speculation unsupported by the data obtained.

A separate summary or conclusion section is not to be used; any concluding statements are to be incorporated under Results and Discussion.

ABBREVIATIONS AND NOMENCLATURE

Standard abbreviations, without periods, should be used throughout the manuscript.

Refer to *The ACS Style Guide* for the preferred forms of commonly used abbreviations. Specialized abbreviations may be used provided they are placed in parentheses after the word(s) for which they are to substitute at first point of use and are again defined in this section. Avoid trivial names and “code” abbreviations (e.g., NAR for naringenin) unless such codes are in common usage (e.g., MTBE for methyl *tert*-butyl ether).

If trade names are used, define at point of first use. If nomenclature is specialized, include a “Nomenclature” section at the end of the paper, giving definitions and dimensions for all terms. Use SI units insofar as possible. Refer to *The ACS Style Guide* for lists of SI units and a discussion of their use.

Write all equations and formulas clearly and number equations consecutively. Place superscripts and subscripts accurately; avoid superscripts that may be confused with exponents. Identify typed letters and numbers that might be misinterpreted, such as “oh” for zero or “ell” for one. Chemistry numbering requiring primes should be identified as such, not by a comma; e.g. 3,3'-hydroxy-.

It is the authors' responsibility to provide correct nomenclature. All nomenclature must be consistent and unambiguous and should conform with current American usage. Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstracts Service, the International Union of Pure and Applied Chemistry, and the International Union of Biochemistry and

Molecular Biology. Chemical Abstracts (CA) nomenclature rules are described in Appendix IV of the *Chemical Abstracts Index Guide*. For CA nomenclature advice, consult the Manager of Nomenclature Services, Chemical Abstracts Service, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012. A name generation service is available for a fee through CAS Client Services, 2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3343, Columbus, OH 43210-0334 [telephone (614) 447-3870; fax (614) 447-3747; e-mail answers@cas.org]. In addition, the ACS website has links to nomenclature recommendations at <http://chemistry.org>.

SAFETY

Authors are required to call special attention in their manuscripts to safety considerations such as explosive tendencies, special precautionary handling procedures, and toxicity.

ACKNOWLEDGMENT

Include essential credits but hold to an absolute minimum. Omit academic and social titles. Meeting presentation data and acknowledgment of financial support of the work should not be included here; give these instead in a note following the Literature Cited.

LITERATURE CITED

Consult *The ACS Style Guide* and current issues of the *Journal* for examples of reference format.

Authors should cite all prior published work directly pertinent to the manuscript. However, extensive bibliographies that go beyond a direct connection with the manuscript are discouraged. Prior work can often be covered by citation of a few leading references or of review articles. As a general guideline, authors should attempt to limit the literature cited to approximately 30 or fewer citations.

Authors are responsible for the accuracy of their references. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source. References should be listed on a separate sheet and numbered in the order in which they are cited in the text.

References should be cited in the text by an on-line italic number in parentheses, for example, (1), (2–5), etc.

Give complete information, using the last name and initials of the author, patentee, or equivalent; do not use “Anonymous”.

Follow *Chemical Abstracts Service Source Index* for abbreviations of journal titles. Because subscribers to the Web edition of the *Journal* are now able to click on the “Chemport” or other tag following each reference to retrieve the corresponding abstract from various Web resources, reference accuracy is critical.

Typical references follow the styles given below.

For journals:

1. Brown, J.; Jones, M.; Green, D. Article title. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, *28*, 1–4. (Use issue number only if each issue of the periodical begins with page 1.)

For books:

2. Smith, L; Caldwell, A. Chapter title. In *Book Title*, edition no.; Keys, F., Park, G., Eds.; Publisher: City, State (or Country if non-U.S.), Year; Vol. no., pp.

Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material “in press” is discouraged. Reference to the authors’ own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript. **If pertinent references are “in press” or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions for review-only Supporting Information.**

TABLES AND ARTWORK

The tables and graphics (illustrations) should be inserted after the Literature Cited section.

Tables and figures should be carefully designed to maximize presentation and comprehension of the experimental data with superfluous information excluded. Useful information not directly relevant to the discussion may be included under Supporting Information.

Tables. Tables may be created using a word processor’s text mode or table format feature. The table format feature is preferred. Ensure each data entry is in its own table cell. If the text mode is used, separate columns with a single tab and use a line feed (return) at the end of each row. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and should be grouped after the Literature Cited section. Footnotes in tables should be given letter designations and be cited in the table by italic superscript letters. The sequence of letters

should proceed by row rather than by column. Each table should be provided with a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the type area of the journal page (17.8×25.4 cm), and the column width (8.5 cm), and to make tables conform to the limitations of these dimensions. **Arrangements that leave many columns partially filled or that contain much blank space should be avoided.** Conversely, arrangements that include >20 columns should be broken into two tables if possible. If *significance of Values* is to be indicated, use a lower case letter, on line, one space after the value.

Figures and Artwork. Insert the illustrations into the word-processing file following the Literature Cited. Artwork should be sequentially numbered using Arabic numbers. Schemes and charts may have titles and footnotes; figures should have captions.

For bar charts, bars with hatching patterns generally reproduce well. Bars that range in shading from light to dark gray to black can usually be reproduced successfully, although we do not recommend any more than two shades of gray. A legend needs to be included within the figure itself rather than the patterns or shades included in the caption.

For manuscripts containing gel patterns, use of a high resolution digital scanner is recommended. Only high-quality digital reproductions will allow reviewers to correctly verify the experimental results. For an example of gel patterns see *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5717–5723, Figures 2 and 3.

Only readable and accurately represented images are acceptable; the **Editors reserve the option to reject images that do not satisfactorily support points made in the manuscript or that are not of satisfactory quality for publication.**

The quality of the illustrations printed in the *Journal* largely depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the journal production staff. Contrast is important. Remove all color from graphics, except for those graphics that are to be considered for publication in color (see paragraph below on color reproduction for details). Each figure or photograph should be properly labeled.

Illustrations must fit a one- or two-column format on the journal page. **For efficient use of journal space, singlecolumn illustrations are preferred.**

For best results, submit illustrations in the actual size at which they should appear in the journal. Illustrations that do not need to be reduced to fit a single or double column will yield the best quality. Lettering should be no smaller than 4.5 points. (Helvetica or Arial type works well for lettering.) Lines should be no thinner than 0.5 point. Lettering and lines should

be of uniform density. Avoid the use of very large and very small lettering within the same figure.

If artwork that must be reduced will be submitted, use larger lettering and thicker lines so that, when reduced, the artwork meets the above-mentioned parameters. Avoid using complex textures and shading to achieve a three-dimensional effect. To show a pattern, choose a simple crosshatch design.

Color photographs and artwork may be printed in the journal if the Editor approves of their use. Color illustrations should be submitted **only** if they are essential for clarity of communication. Reproduction of color illustrations will be provided at no cost to the author; however, a surcharge of \$100 per 100 reprints will be added to the standard cost of reprints. Do not submit color prints to be printed in black and white.

Structural Formulas. Authors should note that structural formulas are valuable in expressing concisely the precise nature of the compounds under discussion and revealing the essence of the subject to readers unfamiliar with the topic, without their necessary recourse to reference materials. The use of chemical names without accompanying structures may cause readers to overlook the significance of the paper.

Structures should be produced with the use of a drawing program such as ChemDraw. Structure drawing preferences (preset in the ACS Stylesheet in ChemDraw) are as follows:

as drawing settings select			
chain angle	120°		
bond spacing	18% of width		
fixed length	14.4 points (0.508 cm, 0.2 in.)		
bold width	2.0 points (0.071 cm, 0.0278 in.)		
line width	0.6 point (0.021 cm, 0.0084 in.)		
margin width	1.6 points (0.056 cm, 0.0222 in.)		
hash spacing	2.5 points (0.088 cm, 0.0347 in.)		
as text settings select		tolerances	3 pixels
font	Arial or Helvetica		
size	10 points	under page setup choose	
		paper	US Letter
under preferences choose		scale	100%
units	points		

Using the ChemDraw ruler or appropriate margin settings, create structure blocks, schemes, and equations having maximum widths of 11.3 cm (one-column format) or 23.6 cm (two-column format). Note: if the foregoing preferences are selected as cm values, the ChemDraw ruler is calibrated in cm. Also note that a standard sheet of paper is only 21.6 cm wide, so all graphics submitted in two-column format must be prepared and printed in landscape mode.

Use boldface type for compound numbers but not for atom labels or captions.

Authors using other drawing packages should, as far as possible, modify their program's parameters to reflect the above guidelines.

TABLE OF CONTENTS GRAPHICS

Authors may include a suitable graphic for publication in the table of contents (TOC) in the Web edition of the *Journal*. **Submission of this graphic is optional.** This graphic should capture the reader's attention and, in conjunction with the manuscript's title, should give the reader a quick visual impression of the type of chemistry described. Structures in the TOC graphic should be constructed as specified under Structural Formulas above. The TOC graphic may be up to 4.7 in. (12.0 cm) wide and 1.8 in. (4.6 cm) tall. (See detailed instructions at the Paragon Plus website.) Text should be limited to labels for compounds, reaction arrows, and figures. The use of color to enhance the scientific value is acceptable. The TOC graphic should be inserted on a separate page at the end of the manuscript file.

SUPPORTING INFORMATION

Extensive tables, graphs, spectra, calculations, and other material beyond a modest content in the printed paper may be included in the Web edition of the journal. These will **not** be part of the printed article but can be accessed separately on the web by readers.

Supporting Information is uploaded as a separate file, as specified by the manuscript submission system, at the time the manuscript is submitted.

The material should be described in a paragraph inserted between the Acknowledgment and the Literature Cited sections, using the following format: "Supporting Information Available: Description. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>."

Components of the Supporting Information should be clearly labeled.

DO NOT UPLOAD FIGURES AND TABLES THAT ARE TO BE PUBLISHED IN THE ARTICLE INTO THE SUPPORTING INFORMATION FILE. Figures and tables that will appear in the published article are to be inserted in the manuscript directly after the Literature Cited section.

CURRENTLY ACCEPTABLE WORD-PROCESSING PACKAGES

Refer to the Paragon Plus Environment website (<http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/software.html>). **LaTeX** users should follow the guidelines given at <http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/tex.html>.

WORD-PROCESSING DETAILS

When preparing a manuscript, use the document mode or its equivalent in the word-processing program, that is, do not save files in “Text Only” (ASCII) mode. If a non-Western version of the word-processing software is used to prepare the manuscript, save the file in rich-text format (RTF). Do not include any page-layout instructions such as placement information for graphics in the file. The text should be left justified, and automatic end-of-line hyphenation should be turned off. Use carriage returns only to end headings and paragraphs, not to break lines of text. Do not insert spaces before punctuation. To ensure expeditious processing of a manuscript, the references should conform to the format described under Literature Cited. Ensure that all characters are correctly represented throughout the manuscript: for example, 1 (one) and l (ell), 0 (zero) and O or o (oh), x (ex) and × (times sign). Check the final copy carefully for consistent notation and correct spelling. The editorial office conversion program will faithfully translate any errors to the typeset copy.

All of the text (including the title page, abstract, all sections of the body of the paper, figure captions, scheme or chart titles and footnotes, and references) and tabular material should be in one file, with the complete text first followed by the tabular material. It is best to use the fonts “Times” and “Symbol”. Other fonts, particularly those that do not come bundled with the system software, may not translate properly. Ensure that all special characters (Greek characters, math symbols, etc.) are present in the body of the text as characters and not as graphic representations. Consult the documentation for the specific software package being used on how to detect the presence of graphics in the files and replace them with the appropriate text characters.

As additional features become available, these instructions will be updated at the *Journal's* website.

REVISIONS AND RESUBMISSIONS

For all revisions:

- Clearly identify the manuscript as a revision; reference the manuscript number.
- Include an itemized list of changes, with a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.
- Be aware that the manuscript may be sent for additional review, at the discretion of the Editor.
- **Please fax the copyright status form to the assigned Editor.**

For all resubmissions:

- Clearly identify all resubmissions; reference the previous manuscript number.
- Include an itemized list of changes, including a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.
- Indicate the three most appropriate journal sections for the article; a list of sections appears in the Journal Scope section of these instructions, and also at the Paragon Plus manuscript submission website. Final decision on the category under which the manuscript will be listed lies with the Editor.
- **Please fax the copyright status form to the assigned Editor.**

COPYRIGHT STATUS FORM

The ACS Copyright Status Form must be completed and signed for each submitted manuscript. No substitute forms or attachments are acceptable. A copy of this form can be found on the ACS Paragon Plus website. The ACS Copyright Status Form is a legal document and must be signed manually. Once the form has been signed, it may be faxed or mailed to the Editor's office. Authors also have the option of uploading a PDF or TIF version of the signed form at the time of submission. The Completed and Signed Copyright Form file designation should be selected. **For questions about the form or about signing the form, contact the ACS Copyright Office at (202) 872-4368 or -4367.**

Note: Authors who are not U.S. government employees or bona fide agents should sign the top portion of the form only. If ALL of the authors were employees or bona fide agents of the U.S. government when the paper was prepared, the work is "a Work of the U.S. Government" and only the lower section, "Certification as a Work of the U.S. Government", should be signed if BOTH of the following circumstances apply:

- ALL authors are or were bona fide officers or employees of the U.S. Government when the paper was prepared.
- The work is a "Work of the U.S. Government", prepared by an officer/employee of the U.S. government as part of official duties.

If the work was prepared under a U.S. government contract or is coauthored by a non-U.S. government employee, the work is not a "Work of the U.S. Government"; DO NOT SIGN THIS LOWER SECTION. Sign only the top part of the form, on the line marked with the pointing hand. Call the ACS Copyright Office at the above telephone number for assistance.

PROOFS AND REPRINTS

Proofs. Galley proofs are made available to only the corresponding author of a paper via a secure website. It is the responsibility of the corresponding author to ascertain that all coauthors agree with the corrections before the corrections are returned. Corrections should be designated by galley proof line number.

ACS Policies for E-prints and Reprints. Under the ACS Articles on Request policy, the Society will provide (free of charge) to all contributing authors a unique URL within the ACS website that they may e-mail to colleagues or post on external websites. These author-directed links are designed to facilitate distribution of an author's published work to interested colleagues. The ACS Articles on Request policy allows 50 downloads within the first year after web publication and unlimited access via the same author-directed links 12 months after web publication.

The ACS AuthorChoice option establishes a fee-based mechanism for authors or their research-funding agencies to sponsor the open availability of their articles on the web at the time of online publication. Under this policy, the ACS as copyright holder will enable unrestricted web access to a contributing author's publication from the Society's website in exchange for a fixed payment from the sponsoring author. ACS AuthorChoice will also enable participating authors to post electronic copies of published articles on their own personal websites and institutional repositories for noncommercial scholarly purposes and allow immediate open access to an article as soon as it is published on the ACS website. For more details on ACS AuthorChoice, please visit <http://pubs.acs.org/4authors/authorchoice/index.html>.

For paper reprints, the reprint order form (provided with the proof) and purchase order or check should be sent prior to the publication date to Cadmus Reprints, P.O. Box 751903, Charlotte, NC, USA 28275-1903. Reprints will be shipped within two weeks after the printed issue date. Neither the Editors nor the Washington ACS Office keeps a supply of reprints; requests for single copies of papers should be addressed to the corresponding author of the paper concerned.

REPORTING SPECIFIC DATA

Gas Chromatographic Methods. For manuscripts in which gas chromatographic methods are used, see "Reporting of Gas Chromatographic Methods", by Morton Beroza and Irwin Hornstein [*J. Agric. Food Chem.* **1973**, *21*, 7A (located at the back of the January 1973 issue or as a link from the *Journal's* Author Information page)].

Spectroscopic Data. This is a guide only; in certain cases different methods of data presentation may be more suitable. Authors are encouraged to consult examples of data presentation published in recent issues of the *Journal* for appropriate style and format. **Complete infrared, NMR, mass, or other spectra will be published only if novel or necessary to substantiate points made under the Results or Discussion sections.** Such presentations take up valuable space, and essentially the same information can frequently be put into a much more compact form by simply listing the position and intensity of the maxima. It is usually not necessary to list all of the maxima in the spectra to provide an adequate description. Report the type of instrument used (e.g., in mass spectrometry, whether magnetic, quadrupole, etc.) and also the type of cell, the solvent (if any), and the state of the sample (whether liquid, gas, solution, etc.).

Mass Spectra. List the molecular ion and about 10 of the major ions with their intensities in parentheses, or more preferably use the method outlined by H. S. Hertz, R. A. Hites, and K. Biemann (*Anal. Chem.* **1971**, *43*, 681–691). This method involves dividing the spectrum into consecutive regions of 14 mass units starting at m/z 6 (i.e., 6–19, 20–33, 34–47, 48–61, etc.). The two most intense ions in each region are then listed. Intensities, relative to the most intense ion, the intensity of which is taken as 100, are shown in parentheses immediately following the m/z value; for example: hexanal, mass spectrum found (70 eV, two most intense ions each 14 mass units above m/z 34): 43 (86), 44 (100), 56 (86), 57 (65), 71 (28), 72 (33), 82 (18), 85 (5), 97 (2), 100 (2). If the molecular ion does not appear in this presentation, the author should indicate it separately.

Proton Magnetic Resonance (PMR or ^1H NMR) Spectra. The frequency used, the solvent, and also temperature (if other than ambient) are first specified. The type of unit used (δ or τ) is then stated, followed by the position of the center of gravity of the sharp line, broad line, or spin–spin multiplet in these units. This is then followed by information in parentheses which (1) describes the type of splitting, that is, singlet as s, doublet as d, triplet as t, quadruplet as qd, multiplet as m; (2) gives the value of the number of protons the area represents; (3) gives the coupling constant J ; and (4) gives the part of the molecule connected with the particular absorption with the protons involved underlined. As an example that would be PMR for ethanol (60 MHz, CCl_4): δ 1.22 (t, 3, J) 7 Hz, CH_2CH_3 , 2.58 (s, 1, OH), 3.70 (qd, 2, J) 7 Hz, OCH_2CH_3 .

Other Spectra. In general, list position and intensity of the maxima. In some cases it may be desirable to list points of inflection. A brief explanation should be given for any abbreviations not in common use.

Examples:

- Reporting liquid chromatography (HPLC) and HPLC/MS:

“Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three *Pouteria* Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography–Mass Spectrometry”, by Jun Ma et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5873–5878.

- Reporting data in detail, including UV shifts and IR

spectra:

“Characterization of Vegetable Oils: Detailed Compositional Fingerprints Derived from Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry”, by Zhigang Wu et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5322–5328.

Novel Compound Characterization. For a discussion of the *Journal’s* expectations for compound characterization, please read “Compound Identification: A *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Perspective” by R. J. Molyneux and P. Schieberle. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4625–4629 (DOI: 10.1021/jf070242j). It is essential that novel compounds, either synthetic or isolated from natural sources, be characterized rigorously and unequivocally. Supporting data normally include physical form, melting point (if solid), UV/IR spectra if appropriate, ¹H and ¹³C NMR, mass spectrometric data, and optical rotation (when compounds have chiral centers).

Examples:

- Reporting X-ray data

“Racemic and Enantiopure Synthesis and Physicochemical Characterization of the Novel Taste Enhancer *N*-(1-Carboxyethyl)-6-(hydroxymethyl)pyridinium-3-ol Inner Salt”, by Renaud Villard et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *51*, 4040–4045.

- Reporting data in detail, including UV shifts “Novel Flavonol Glycoside, 7-*O*-Methyl Mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and Its Antioxidant Effect”, by Shin-Kyo Chung et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4664–4668.

- Reporting data for previously known compounds

“Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of *Wendita calysina* Leaves (Burrto), a Folk Paraguayan Tea”, by Anna Lisa Piccinelli et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5863–5868.

Flavor Constituents. Manuscripts reporting on flavor constituents should conform to the recommendations made by the International Organization of the Flavor Industry [for details, see the Editorial in the October 1996 issue of *J. Agric. Food Chem.* (*44*, 2941–2941)]. In brief, any identification of a flavoring substance must pass scrutiny of the latest forms of

available analytical techniques. **In practice, this means that any particular substance must have its identity confirmed by at least two methods, for example, comparison of chromatographic and spectrometric data (which may include GC, MS, IR, and NMR) with those of an authentic sample.** If only one method has been applied (MS data alone or retention index or Kovats index alone), the identification shall be labeled “tentative”. In addition, authors are encouraged to include at least semiquantitative data on the concentration of an identified component in the original source, for example, foodstuff or plant part. Ranges such as $<1 \mu\text{g}/\text{kg}$, $1\text{--}10 \mu\text{g}/\text{kg}$, and $10\text{--}100 \mu\text{g}/\text{kg}$ are acceptable.

Flavor is evoked by smell (aroma) and taste. A good example showing the correct characterization of taste compounds is the study by Czepa and Hofmann (*J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3865–3873). A good example for aroma compound identification is the study by Milo and Grosch (*J. Agric. Food Chem.* **1996**, *48*, 2366–2371).

The use of reference compounds is a must, if data on sensory properties of single compounds are reported. Odor, which is perceived during sniffing of a food extract at a certain retention index, may be indicative of the presence of a given compound, but not conclusive unless substantiated by chromatographic and/or spectrometric data and comparison with an authentic reference compound.

Soil Classification. Soils used in research should be described down to the family level according to the soil classification scheme given in *Soil Taxonomy, A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*, 2nd ed. (Agricultural Handbook 436; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1999) (available on-line at <http://soils.usda.gov/technical/classification/taxonomy/>). Also give series name if known. This requirement is to allow comparison and extrapolation to other work giving similar soil classifications, as published in journals such as the *Journal of Soil Science*, *Soil Science Society of America Journal*, *Journal of Environmental Quality*, and *Geoderma*. If information is unavailable to classify the soils at the desired family level, classification should be described or estimated at least to the great group level in the same classification system.

Statistics. Manuscripts reporting analytical, biological activity, composition, and related data must include relevant statistical information to support discussion of differences or similarities in data sets. Refer to a standard statistics reference such as *Statistical Methods*, 8th ed.; Snedecor, G. W., Cochran, W. G., Eds.; University Press: Ames, IA, 1989.

Animal or Human Studies. Manuscripts describing studies in which the use of live animals or human subjects is involved must include under Materials and Methods a statement

that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines, and also name the institutional committee that approved the experiments. For experiments with human subjects, a statement that informed consent was obtained from each individual must be included and the consent forms made available to the *Journal* on request. Reviewers of manuscripts involving animal or human experiments will be asked to comment specifically on the appropriateness and conformity to regulations of such experiments.

Animal Subjects. The use of animals in a study should be employed only when there are no alternative methods for investigating the fundamental questions of the study. In such cases, it is the ethical responsibility of all authors to ensure that the care of animals is of the highest possible order, that pain and/or distress is minimized, and that the numbers involved are strictly limited to those essential to fulfill the experimental design. In the United States the care and use of laboratory animals is regulated by the U.S. Department of Agriculture (USDA) under the Animal Welfare Act. Links to the regulations, including a checklist of Institutional Animal Use and Care Committees (IUCAC) guidelines, is available at http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/publications_and_reports.shtml. It is recognized that researchers in other countries may be governed by different laws and regulations. In such cases, experiments should be designed to conform either to the above USDA regulations or to the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (1985), available at http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm.

Human Subjects. The use of human subjects in experimental studies requires informed consent. Such consent requires that the subjects be informed completely not only about the procedures involved but also about the aims, design, and expected outcomes of the study. Consent must be obtained not only when subjects are involved directly in the study but also when samples (tissue, blood, plasma, etc.) are required for in vitro experiments. In the United States the protection of human research subjects is regulated by the U.S. Department of Health and Human Services (HHS). Regulations are available at <http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/45cfr46.htm#46,htm#46.116>. Laws and regulations governing researchers in other countries must be observed, but experiments should be designed to conform to the intent of the HHS regulations as far as possible.

In relation to the subject matter of the *Journal*, experiments involving taste and food quality evaluation and consumer acceptance are exempt from the above regulations [CFR 46.101 (b) (6)]. However, it should be noted that this would not exempt studies in which

extracts, isolates, pure compounds, etc., obtained from conventional food sources are subjected to such evaluation.

The *Journal* will reject any manuscript for which there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary pain or distress or when informed consent of human subjects is absent or incomplete.

Editor Contact Information: James N. Seiber, Editor

Journal of Agricultural and Food Chemistry

Department of Environmental Toxicology

University of California

One Shields Avenue

Davis, California 95616, U.S.A.

Telephone (530) 754-7005

Fax (530) 754-7006

E-mail jafc@ucdavis.edu