

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

PREPARO DE TRIACILGLICERÓIS DE
CADEIA MÉDIA (TCM) E ESTUDO DE
SUA APLICAÇÃO.

Leonor Almeida de Souza Soares

Orientador: Prof. Dr. Leopold Hartman

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrí-
cola da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do títu-
lo de Doutor em Ciências de Alimentos.

1980

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pelotas - UFPEL - pela oportunidade oferecida.

À Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - através das unidades - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola - FEAA, Faculdade de Ciências Médicas - FCM e Hospital de Clínicas, pelo acolhimento recebido.

AO PICD/CAPEES e Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da UFPEL, pela bolsa concedida.

Aos Professores Júlio Carlos Regulý - Chefe do Departamento de Química da Universidade de Rio Grande e Naum Keiserman - ex Diretor da Faculdade de Medicina de Pelotas - UFPEL, estimuladores iniciais de nosso estudo na UNICAMP.

Ao Professor Doutor Leopold Hartman - pesquisador - proficiente em seu desempenho, mestre - de erudição invulgar, homem de ciência e de letras, amigo - de atitudes simples e nobreza de propósitos - pelo muito que lhe devemos em orientação, incentivo, exemplo e amizade.

Ao Professor Doutor John Whitaker da Universidade de Davis, California, pelas inestimáveis sugestões.

À Professora Adriana Sevã Pereira da Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP - pela contribuição excepcional a este trabalho, e aos pacientes, colaboradores anônimos, pela disponibilidade apresentada.

Aos colegas e amigos Professores Walter Esteves e Moacir Cardoso Elias pelo estímulo, cooperação e valiosas contribuições.

Aos Professores e Funcionários dos Departamentos de Tecnologia de Alimentos, Planejamento Alimentar e Nutrição e Ciências de Alimentos da FEAA pelo apoio prestado a este trabalho.

Às Professoras Ruth dos Santos Garruti, Yara Tosello e Maria Amélia Chaib Moraes, aos funcionários e equipes de provadores do Laboratório de Análise Sensorial, pela eficiente, interessada e gentil cooperação.

Aos Professores Berta Waldman e Carlos Vogt do Instituto de Estudos da Linguagem - UNICAMP, pela valiosa colaboração.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma, para a realização deste trabalho, em especial aos Professores Ramón Gutierrez, Maria Regina Bueno Franco, à Técnica Sônia Maria de Barros Campos, às Bibliotecárias da UNICAMP e da UFPEL, nas pessoas de Angelina Godoy da FEAA e Aida Pires da Faculdade de Medicina; aos Funcionários da Oficina da FEAA; aos amigos Eliana Badiale, Carlos Raimundo F. Grosso, José Pedro Toledo Leite e Julio Antonio Moreto.

Aos amigos Bárbara - Thomaz Koblinsky e família, Claudia Calil e Rosália Souza pelo apoio, dedicação, hospitalidade e compa_nheirismo, sempre presentes.

A todos queremos deixar expresso o nosso agradecimento sincero.

ÍNDICE

	Página
Índice de Tabelas	i
Índice de Figuras	iv
Resumo	1
Summary	4
Introdução	6
Revisão Bibliográfica	9
Obtenção do TCM	10
TCM - algumas características	12
Ensaio com animais	13
Ensaio com pessoas	15
Digestão dos lipídios	17
Absorção dos lipídios	20
Aspectos patológicos em relação à digestão e absorção de gorduras	28
Síndromes	28
Fibrose cística do pâncreas	30
Pancreatite crônica	31
Manifestações clínicas da esteatorréia	31
Avaliação da gordura fecal	31

	Página
Métodos de estimação dos lipídios fecais	33
Aplicação do TCM	34
Usos clínicos do TCM	34
Alimentos contendo TCM	36
Fórmulas de dieta contendo TCM	37
Outros empregos do TCM	38
Materiais e Métodos	40
Materiais	40
Reagentes	40
Nutrientes e ingredientes para ensaios biológicos	41
Ingredientes para fabricação de sorvetes	42
Ingredientes para testes sensoriais	42
Ingredientes para dieta enteral	42
Aparelhos e equipamentos	43
Métodos	46
Métodos preparativos	46
Carga nº I	46
Neutralização	46
Desodorização	47
Filtração e enlatamento	47
Carga nº II	47
Obtenção em escala de laboratório do óleo <u>in</u> teresterificado "TCML"	48

	Página
Glicerólise	48
Esterificação	48
Preparo de monoacilgliceróis puros de ácidos graxos de C ₈ a C ₁₂	49
Preparo de sorvetes	50
Métodos analíticos	50
Determinação dos lipídios nas fezes humanas e animais	51
Ensaaios biológicos	52
Ensaaios <i>in vivo</i>	52
Ensaaios <i>in vitro</i>	55
Ensaaios com pessoas	56
Indivíduo normal	56
Pacientes nº 1, 2, 3 e 4	57
Paciente nº 5	58
Paciente nº 6	59
Métodos sensoriais	60
Análise sensorial do sorvete	60
Análise sensorial de monoacilgliceróis	60
Resultados	63
Cargas nº I e II	64
Características e composição do TCM I e TCM II	65

	Página
Óleo interesterificado TCML	66
TCML características	67
Ensaio biológicos com animais	70
Ensaio <i>in vivo</i>	70
Ensaio <i>in vitro</i>	78
Ensaio biológicos com pessoas	79
Indivíduo normal	79
Pacientes	79
Análise sensorial	84
Análise dos sorvetes	84
Análise dos monoacilgliceróis	85
Discussão	89
Preparo de TCM e TCML	89
Ensaio com animais	92
Ensaio <i>in vivo</i>	92
Ensaio <i>in vitro</i>	94
Ensaio com pacientes	95
Análise sensorial	98
Conclusões	100
Bibliografia	102
Índice de Autores	119

	Página
Apêndice nº 1	124
Apêndice nº 2	142
Apêndice nº 3	143
Apêndice nº 4	144
Apêndice nº 5	145
Apêndice nº 6	146
Apêndice nº 7	147

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA I - Composição dos sorvetes	50
TABELA II - Composição centesimal das dietas usa das nos ensaios biológicos	54
TABELA III - Composição da dieta enteral utilizada no paciente nº 6	59
TABELA IV - Quantidades de reagentes, etapas de produção e rendimentos do TCM I e TCM II	64
TABELA V - Características e composição dos produ tos acabados TCM I e TCM II	65
TABELA VI - Quantidades de reagentes e etapas de produção do TCML	66
TABELA VII - Características do TCML acabado	67
TABELA VIII - Dados do ensaio preliminar com ratos mantidos em dietas sintéticas com adi ção de 20% de óleo de milho e de 20% de TCM I, respectivamente	71
TABELA IX - Peso dos ratos, sua variação, consumo e eficiência das dietas durante o expe rimento	72

TABELA X	- Quantidade média de lipídios ingeridos e excretados pelos ratos experimentais	73
TABELA XI	- Resultados das análises do plasma e <u>f</u> ígado dos ratos experimentais	74
TABELA XII	- Composição dos ácidos graxos presentes nas fezes dos ratos experimentais	75
TABELA XII	- Ensaios <i>in vitro</i> dos diferentes <u>sub</u> stratos incubados com fragmentos de <u>in</u> testino de rato, a 37 °C, durante 2 <u>ho</u> ras	78
TABELA XIV	- Análise das fezes do indivíduo normal submetido às diferentes dietas por <u>pe</u> ríodos de uma semana cada	80
TABELA XV	- Análise das fezes de pacientes com <u>fi</u> brose cística do pâncreas antes e <u>de</u> pois da administração de TCM II	81
TABELA XVI	- Análise das fezes do paciente após <u>ci</u> rurgia gástrica, mantido com dieta <u>en</u> teral por uma semana	82
TABELA XVII	- Análise dos lipídios fecais dos pacien <u>tes</u> com fibrose cística do pâncreas e pancreatite crônica	83

TABELA XVIII	- Análise sensorial dos sorvetes preparados com TCM I e gordura hidrogenada, respectivamente	84
TABELA XIX	- Médias aritméticas e níveis de probabilidade dos testes sensoriais para diferentes concentrações de monoacilgliceróis com ácidos graxos de C_8 , C_{10} e C_{12}	86
TABELA XX	- Médias geométricas e medianas usando o método de Magnitude para diferentes concentrações de monoacilgliceróis com ácidos graxos de C_8 , C_{10} e C_{12}	87
TABELA XXI	- Parâmetros da função de potência para gosto amargo em monoacilgliceróis com C_8 , C_{10} e C_{12} (horário da tarde)	88

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Estrutura do intestino delgado e da vilosidade	21
FIGURA 2 - Representação esquemática da absorção dos lipídios na célula da mucosa intestinal em presença e ausência de micelas de ácidos biliares	23
FIGURA 3 - Diagrama esquemático da célula absorptiva intestinal	26
FIGURA 4 - Absorção dos ácidos graxos pelas células da mucosa intestinal	26
FIGURA 5 - Esquema de absorção e transformação dos ácidos graxos na célula intestinal	27
FIGURA 6 - Metabolismo dos TCM, TCL e ácidos graxos de cadeia média e de cadeia longa no intestino, fígado e tecido adiposo	29
FIGURA 7 - Conjunto evaporador a vácuo, ICMA, da planta piloto FEAA-UNICAMP, convenientemente modificado	45

- FIGURA 8 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos â
cidos graxos do TCM I obtido na planta pi
loto 68
- FIGURA 9 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos
ácidos graxos do TCM II obtido na planta
piloto 69
- FIGURA 10 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos
lipídios fecais dos ratos com dieta nº49 76
- FIGURA 11 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos li
pídios fecais dos ratos com dieta conten
do 8% de TCM 77

RESUMO

Dois lotes de triacilgliceróis com ácidos graxos de cadeia média (TCM), denominados TCM I e TCM II foram preparados na Planta Piloto, devidamente adaptada, da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

O primeiro lote (141 kg) foi obtido por esterificação de glicerol com ácidos graxos leves comerciais, de óleo de babaçu, de peso molecular médio 189 (56% de ácido láurico), enquanto que os ácidos graxos do segundo lote (148 kg), provenientes de destilação fracionada, apresentaram peso molecular médio de 151 (traços de ácido láurico).

A esterificação foi conduzida a 145 °C e 120 torr., usando-se 0,5% de ácido fosfórico como catalisador, e o produto cru, depois da remoção do excesso dos ácidos graxos livres, por destilação a vapor, foi neutralizado com solução aquosa de hidróxido de sódio, lavado e desodorizado.

Cinco grupos de ratos Wistar (♀) foram alimentados com dietas contendo 8% de TCM I, 20% TCM I, 8% de óleo de milho, 20% de óleo de milho e dieta nº 49, para animais de laboratório, da Anderson Clayton, respectivamente, e os dados referentes a peso, absorção lipídica e sobrevivência dos animais de

monstraram a viabilidade do uso do TCM.

A inclusão de TCM em dietas de pacientes, com síndromes de má absorção lipídica, resultou em notável decrêscimo do sintoma de esteatorréia, na maioria dos casos, avaliado através da determinação de lipídios fecais por método desenvolvido neste trabalho.

Um terceiro lote denominado "TCML" - triacilgliceróis de cadeias médias e longas - (1,00 kg) foi obtido no laboratório, por esterificação de monoacilgliceróis técnicos de óleo de milho, com ácidos graxos de peso molecular médio 151 e, subsequente refinação.

Este lote, preparado com o objetivo de suprir as necessidades de ácidos graxos essenciais e obter um produto de composição de ácidos aproximada àquela dos óleos comuns, produziu resultados promissores, como ficou evidenciado, pelo grau de hidrólise e índice de iodo dos ácidos graxos livres, após incubação *in vitro*, com fragmentos de intestino de ratos (duodeno e jejuno), quando comparado com aqueles obtidos da mistura de óleo de milho e TCM, de composição equivalente. Teste semelhante, aplicado a pacientes, não demonstrou diferença entre a absorção de TCML e mistura de óleo de milho e TCM II.

Com a finalidade de variar o uso de TCM na alimentação, foram produzidos, no laboratório do Departamento de Tecnologia da FEAA, amostras de sorvetes com 10% de TCM I e 10%

de gordura vegetal hidrogenada, respectivamente, e submetidas à análise sensorial. Os resultados provaram aceitação igual de ambos os produtos. Outros testes sensoriais indicaram a necessidade de manter o conteúdo de monoacilgliceróis de ácidos graxos de C_8 e C_{10} , em TCM, abaixo de 0,1%, devido ao gosto amargo destes compostos.

SUMMARY

Two batches of medium chain triglycerides (MCT) denoted as MCT I and MCT II were prepared in suitably adapted Pilot Plant of the Food Engineering and Agricultural Faculty, State University of Campinas.

The first batch (141 kg) was prepared by esterification of glycerol with medium chain fatty acids of babassu oil of a mean molecular weight of 189 (56% of lauric acid) where as the mean molecular weight of the fatty acids of the second batch (148 kg), obtained by fractional distillation, was 151 (traces of lauric acid).

Esterification was carried out at 145 °C and 120 torr. using 0,5% of phosphoric acid as catalyst and the crude product after removal of the excess of free fatty acids by distillation, was neutralized with an aqueous solution of sodium hydroxide, washed and deodorized.

Five groups of Wistar rats (♀) were maintained during 3 weeks on diets containing 8% MCT I, 20% MCT I, 8% maize oil, 20% maize oil and Diet nº 49 of Anderson Clayton, respectively. Results based on weight gains, lipid absorption and survival of the animals demonstrated the viability of the use of MCT.

The employment of MCT in diets of patients with lipid malabsorption problems produced a notable decrease of steatorrhea symptoms as shown by the determination of faecal lipids according to the method developed during the present work.

A third batch (1,00 kg) denoted MLCT (medium and long chain triglycerides) was prepared on laboratory scale by esterifying technical monoglycerides of maize oil with medium chain fatty acids (MW = 151). Obtained with the purpose of supplying essential fatty acids and achieving a fatty acids compositions approaching that of common oils, it produced promising results on incubation *in vitro* with fragments of rat duodenum, as evidenced by the degree of hydrolysis and Iodine Number of liberated fatty acids, when compared with those obtained with an analogous mixture of maize oil and MCT II. A similar test applied to patients showed no difference between the absorption of "MLCT" (medium and long chains triglycerides) and the above mentioned mixture.

In order to amplify the use of MCT in human diet, samples of ice cream containing 10% of MCT I and 10% of hydrogenated vegetable fat, respectively, were prepared in the laboratory of the Technology Department and submitted to sensory analysis. The two products were equally acceptable. Sensory analysis indicted the necessity of maintaining the amount of monoglycerides of C_8 and C_{10} acids in MCT below 0,1%, owing to the bitter taste of these compounds.

INTRODUÇÃO

Triacilgliceróis de cadeia média (TCM) obtidos, pela primeira vez, em escala industrial nos Estados Unidos, em 1954, provocaram um vivo interesse por parte de médicos e nutricionistas, sendo agora produzidos, também, na Inglaterra, França, Alemanha Ocidental e Japão.

Os ácidos graxos que constituem o TCM incluem uma faixa de C_6 a C_{12} , sendo que os componentes principais são C_8 (ácido caprílico) e C_{10} (ácido cáprico).

No Brasil não existe, até agora, produção industrial de TCM, e em atenção ao pedido dos professores da Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, foram preparados, no Laboratório de Óleos e Gorduras da FEAA, as primeiras amostras deste produto no País. Contudo, devido a impossibilidade de produzir, em escala de laboratório, suficiente material para a condução de testes com pacientes, que necessitavam deste produto, por problemas de má absorção dos óleos comuns, procedeu-se seu preparo, na Planta Piloto da FEAA, depois de se efetuarem as adaptações necessárias.

Como foi verificado nos últimos vinte anos, os triacilgliceróis de cadeia média são absorvidos por mecanismos diferentes dos triacilgliceróis de cadeia longa, suprindo, deste

modo, às exigências calóricas das pessoas portadoras de deficiências de enzimas lipolíticas, como no caso da fibrose cística do pâncreas, pancreatite e doenças similares. É estimado que, no Brasil, 0,1% da população pertence a esta categoria e, além disso, o TCM, poderia também ser empregado na suplementação calórica das dietas infantis e geriátricas por suas características peculiares.

Tendo em vista que a importação do TCM, um produto que combina características de alimento-medicamento, é dificultada por seu alto preço, surgiu o interesse em produzi-lo, usando matéria-prima nacional, bem como o suporte metodológico para o seu preparo.

Outra finalidade do trabalho foi a de avaliar o efeito do TCM, por meio de sua aplicação aos animais de laboratório, *in vivo* e *in vitro* e, posteriormente, a pacientes com síndromes de má absorção lipídica. Esta avaliação foi feita, principalmente, pela medida da absorção dos lipídios, baseada na dosagem de sua presença na excreta, empregando-se método desenvolvido no presente trabalho. Além disso, tentou-se preparar um produto, que contivesse em sua estrutura - ácidos graxos de cadeia média e uma proporção (30%) de ácidos graxos de cadeia longa -, para suprir, deste modo, às exigências de ácidos graxos essenciais.

Uma nova forma de aplicação do TCM resultou de

seu emprego na confecção de sorvete cuja aceitabilidade foi testada através da análise sensorial.

Embora o número de experiências relatadas neste trabalho não seja extenso, devido à dificuldade de controlar todos os fatores inerentes à aplicação de um produto, como o TCM, existem razões para se esperar que os resultados já obtidos conduzam à instalação de uma indústria que atenda à demanda existente no País. A agricultura e indústria nacionais, sem dúvida alguma, são capazes de fornecer a matéria-prima necessária, e a experiência adquirida durante o presente trabalho demonstrou a viabilidade da adequada utilização desta matéria.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As gorduras alimentares naturais ou industrialmente preparadas são, em sua maior proporção, triacilgliceróis (triglicerídeos) (1). Aparecem, também, em menor quantidade fosfolipídios, colesterol, vitaminas lipossolúveis e alguns ácidos graxos livres (2).

De acordo com vários autores, dentre eles MONTGOMERY (3) e WANNMACHER e DIAS (2) os lipídios essenciais são as vitaminas lipossolúveis e o ácido linoléico, havendo necessidade de que 1 a 2% das calorias da dieta do adulto e 2 a 4% das calorias da dieta da criança provenham deste ácido graxo.

Desde que os triacilgliceróis preenchem uma boa parte das exigências calóricas diárias de um indivíduo, fica evidenciada a importância de sua presença na dieta e, mais ainda, de sua utilização pelos diferentes tecidos do organismo.

Sabe-se, contudo, que existem pessoas que apresentam problemas quanto ao uso de gorduras comuns da dieta, que são triacilgliceróis constituídos por ácidos graxos de cadeia longa (TCL), podendo, entretanto, utilizar triacilgliceróis de cadeia média (TCM), obtidos industrialmente (4).

Na revisão do assunto fica implícita a necessidade de informação sobre as fontes de matéria-prima, bem como, de

um estudo paralelo entre TCM e TCL quanto aos seus aspectos de emprego, digestão, absorção, metabolismo e dosagem.

Obtenção do TCM

Triacilgliceróis de cadeia média (TCM) é o termo usado para descrever uma forma de lipídio neutro, que contém moléculas de ácidos graxos com um comprimento de cadeia que varia de 6 a 12 átomos de carbono. Sua fabricação foi principalmente desenvolvida, a partir de 1950, pelos trabalhos de BABAYAN (5) nos Estados Unidos.

O mesmo autor (6) relata que os ácidos graxos foram liberados, do óleo de côco, por hidrólise, e destilados, sendo que a fração volátil, contendo principalmente ácidos graxos com 8 a 10 carbonos, foi usada na reesterificação do glicerol para produzir TCM. A matéria-prima - óleo de côco - para a indústria americana provém principalmente das Filipinas, de outros países asiáticos e da África. Sem entrar em pormenores de fabricação, Babayan menciona o uso de catalisadores levemente ácidos ou metálicos (pó de zinco) e acentua a necessidade de cuidadosa refinação de um produto que apresenta características especiais. FRANZKE *et al.* (7) recomendaram o ácido fosforoso e o caprilato de zinco, como catalisadores mais eficientes, na preparação de TCM.

As fontes naturais que apresentam maior percenta

gem de ácidos graxos de cadeia média passaram a ter importância para a fabricação do TCM; dentre elas aparecem os óleos de babaçu, de amêndoa de palma e de ouricuri (8). Segundo os dados de SWERN (8) estes óleos e gorduras naturais fazem parte do grupo do ácido láurico. Mais recentemente foi sugerido que o óleo de semente de olmo (*Ulmus campestris* L.) seria uma fonte potencial de ácidos graxos de cadeia média (9). Para fins de comparação teríamos, de acordo com as fontes citadas (8, 9):

Ácido graxo (% em peso)	Óleo de côco	Óleo de* amêndoa de palma	Óleo de babaçu	Óleo de ouricuri	Óleo de** olmo
ác. caprôico	-	-	0,2	1,8	-
ác. caprílico	6,0	3,0	4,8	9,8	3,5
ác. cáprico	6,0	4,0	6,6	8,2	54,8
ác. láurico	44,0	51,0	44,1	45,8	5,0
ác. mirístico	18,0	17,0	15,4	9,0	4,0
ác. palmítico	11,0	8,0	8,5	7,7	7,7
ác. esteárico	6,0	2,0	2,7	2,3	0,4
ác. araquídico	-	-	0,2	0,1	-
ác. oléico	7,0	13,0	16,1	13,1	11,8
ác. linoléico	2,0	2,0	1,4	2,2	10,5
ác. linolênico	-	-	-	-	2,3

* Dados publicados por SWERN (8).

** Dados de Franzke e KROLL (9).

O Brasil, devido ao seu potencial agrícola em babaçu (*Orbignya martiana*), dispõe de amplos recursos para a produção dos ácidos graxos de cadeia média (10). As maiores formações de babaçuais estão localizadas na Região Nordeste do País, principalmente nos Estados do Maranhão e Piauí; de acordo com os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE (11) a produção de amêndoas, em 1976, foi de 225.925 ton, o que corresponderia a, aproximadamente, 130 mil ton de óleo.

TCM - algumas características

O TCM, citado na maioria das publicações, é um óleo claro, contendo ácidos graxos saturados, com 6 a 12 átomos de carbono. O TCM apresenta ponto de fusão abaixo de 0 °C e um valor calórico de 8,3 Cal/g (12).

A classificação dos ácidos graxos em função do tamanho de sua cadeia carbonada tem sido discordante por parte dos pesquisadores. Ela pode ser feita tendo em vista as propriedades físicas, químicas ou fisiológicas, dependendo do objetivo (13).

Do ponto de vista nutricional (13), os ácidos graxos de baixo peso molecular, são interessantes por duas razões: velocidade e facilidade de digestão e absorção, e modo como são transportados no organismo.

Ensaio com animais

Em 1951 BLOOM *et al.* (14) mostraram, pela administração de ácidos graxos marcados em ratos, que havia participação fisiológica decorrente do tamanho da cadeia de carbonos, sendo que ácidos com menos de 12 átomos eram absorvidos por via portal, enquanto que os maiores, por via linfática.

KAUNITZ *et al.*, em 1958, (12) utilizando ratos machos com dieta contendo 20% de banha de porco ou 20% de TCM e 0,09% de ácido linolêico, durante 18 meses, observaram, que as diferenças consistiam, em diminuição de peso e níveis mais baixos de colesterol do soro, no grupo com TCM. A lactação das ratas com TCM mais 0,09% de ácido linolêico foi pobre. A segunda geração dos animais mostrou, inicialmente, sinais de deficiência mais severa de ácido linolêico, os quais, posteriormente, desapareceram. Os níveis de colesterol de alguns animais em dieta com TCM, estavam, significativamente, abaixo dos do grupo contendo banha de porco, e a adição de ácido linolêico à dieta com TCM, não alterou os resultados.

HARKINS e SARETT (15) fizeram a avaliação nutricional de TCM (75% de C_8 e 25% de C_{10}) em ratos Wistar, de ambos os sexos, em períodos de 4, 8 e 47 semanas. Dieta com caseína, possuindo 19,6% de TCM e 2,5% de óleo de girassol, foi comparada com outras semelhantes, contendo gorduras convencionais (manteiga, óleo de côco, gordura animal, óleo de milho e de

girassol). Os autores observaram que a dieta com TCM, em relação com as demais, conduzia a: 1) crescimento e desenvolvimento normais; 2) dados semelhantes quanto a proteína e cinza da carcaça, peso dos órgãos vitais e análises histológicas do fígado e intestino; 3) ganho de peso levemente menor nos ratos machos e fêmeas; 4) índice de mortalidade equivalente; 5) menores níveis de colesterol total, em ratos machos, durante o experimen-to; 6) no fim do experimento, a níveis de colesterol mais altos do que dietas contendo óleo de milho e de girassol; 7) níveis de colesterol hepático e lipídios totais mais baixos, em ratos de ambos os sexos; 8) dados semelhantes em relação aos níveis de fosfolipídios do fígado e, finalmente, 9) uma maior percentagem de absorção.

Estudando os efeitos dos óleos de milho, côco e TCM em ratos, DEVEILLE *et al.* (16) observaram que a ingestão de TCM deprime os níveis de colesterol do plasma e fígado. No tecido hepático destes ratos, os mecanismos de elongação e dessaturação estavam acelerados com a ingestão de TCM.

MALMROS *et al.* (17) estudaram o efeito do tamanho da cadeia dos ácidos graxos, em coelhos alimentados com dietas sintéticas. Os ácidos graxos foram ministrados em forma de triacilgliceróis puros. A tributirina induziu níveis de colesterol abaixo de 100 mg/100 ml, enquanto que a trioctanoína causou um aumento até 250 mg/100 ml após 18 semanas, e a tridecano

ina até 450 mg/100 mL. Os valores mais altos de colesterol foram observados após administração de triacilgliceróis dos ácidos lúurico e mirístico, respectivamente.

O trabalho de DEMARNE *et al.* (18), em 1979, mostrou que a flora gastrointestinal dos ratos é responsável pela presença de ácidos graxos ímpares e ramificados nos lipídios endógenos fecais. Nos lipídios fecais endógenos totais, a concentração de ácidos graxos mono e poliinsaturados (de C_{16} a C_{22}), foi 3,5 vezes maior, nos ratos isentos de bactérias, enquanto que a concentração de ácidos graxos de número par e saturados foi 1,5 maior, nos ratos convencionais. Os conteúdos dos ácidos graxos ramificados (de número par e ímpar, iso e anteiso) foram 12,9%, nos ratos convencionais, contra 2,0%, nos isentos de microflora.

Ensaio com pessoas

Os estudos dos efeitos do TCM, em relação aos níveis de colesterol do soro de um homem sadio, estão em acordo com aqueles dos animais (13). BEVERIDGE *et al.* (19) observaram, em 8 dias de estudo, que pessoas aparentemente normais não apresentavam mudanças significativas em seus níveis de colesterol do soro, quando quantidades isocalóricas, de uma formulação com TCM, substituíam um regime sem lipídio.

De acordo com KEYS *et al.* (20) os ácidos láurico, mirístico, palmítico, os ácidos poliinsaturados e o colesterol da dieta podem influenciar os níveis deste último no soro humano, enquanto que HEGSTED *et al.* (21) excluem desta série, o ácido láurico. Todavia, após um estudo realizado com faixa mais ampla de lipídios, MCGANDY *et al.* (22) incluíram ácido láurico e, além disso, ácido esteárico, nos compostos que influem no nível de colesterol do soro humano.

O TCM foi administrado a um grande número de pessoas com má absorção, por FURMAN (23). Isto levou a uma diminuída perda fecal de gordura, melhora do estado nutricional, ganho de peso e níveis levemente aumentados de lipídios no soro, geralmente, de baixos, para mais próximos aos normais.

As diferentes rotas de absorção no homem foram demonstradas, em 1955, por FERNANDES *et al.* (24), pela administração de um óleo sintético, "óleo capril-oliva", contendo 46% de ácido octanóico transesterificado.

O TCM segue uma rota não utilizada pelos lipídios comuns, ao ser absorvido pelo organismo, este comportamento diferenciado, sendo consequência do tipo de seus ácidos graxos componentes (3).

Digestão dos lipídios

Como é sabido, a digestão das gorduras é essencialmente um problema de solubilização (25). Há necessidade, portanto, de um condicionamento dos lipídios da dieta, nos diferentes segmentos do trato gastrointestinal. Eles devem ser emulsificados no lumen intestinal, transformados pelas enzimas hidrolíticas e absorvidos nas células da mucosa intestinal (3).

Foi observado por BORGSTRÖM *et al.* (26), em 1957, que ocorria considerável lipólise dos triacilgliceróis no conteúdo estomacal humano. Contudo, não estava claro, se esta lipólise era decorrente de um regurgitamento do conteúdo duodenal, ou se seria devido à existência de uma lipase gástrica (27). A presença de lipase gástrica, segundo CLÉMENT (1) começou a ser admitida em 1900 por VOLHARD (28), sendo contudo, contestada por vários autores.

COHEN *et al.* (29) detectaram a presença de uma lipase diferente da pancreática, no conteúdo gástrico humano. Foi proposto que esta lipase contribuiria para a digestão de muitos triacilgliceróis nas crianças, bem como para a hidrólise de TCM, nos adultos.

Em 1975, HAMOSH *et al.* (30) concluíram que a lipase gástrica, no homem, era mais provavelmente secretada pelas glândulas da, ou próximas à faringe, sendo denominada lipase faringêia (31). Esta enzima possui um pH ótimo de 5,4 não é afe-

tada por sais biliares, e seu maior efeito é o de hidrolisar triacilgliceróis, em diacilgliceróis e ácidos graxos livres (AGL). Foi proposto que esta enzima catalisaria a primeira etapa da digestão das gorduras da dieta, e que a formação de ácidos graxos livres facilitaria a emulsificação posterior dos lipídios no estômago e duodeno. Esta emulsificação dos lipídios no quimo aquoso, é resultante da interação com a bile. Em forma micelar estes lipídios podem ser transformados pelas enzimas digestivas (3).

A lipase pancreática, agindo na interfase óleo-água, é específica para os ácidos graxos das posições 1 e 3 do glicerol, produzindo 2-mono-glicerídeos e ácidos graxos livres. Estes produtos, resultantes da ação da lipase pancreática, podem atravessar a membrana das células, e serem absorvidos, por difusão, nas células da mucosa do jejuno e íleo (3).

Segundo ENTRESSANGLES *et al.* (32) os ácidos graxos de cadeia curta ($C_8 - C_{10}$), localizados nas posições internas dos triacilgliceróis, são hidrolisados a uma velocidade mais rápida, durante a lipólise *in vitro* e *in vivo*. Esta hidrólise, não constitui uma exceção, a bem conhecida regra, de que a lipase pancreática (glicerol-ester hidrolase, E.C. 3.1.1.3) não hidrolisa as cadeias internas dos triacilgliceróis; ela se deve, a uma migração espontânea, das cadeias curtas internas, para as posições externas dos di- e monoacilgliceróis. A migração

destes ácidos graxos tem dois efeitos importantes: a) *In vivo*, o nível dos ácidos graxos de cadeia curta, nos triacilgliceróis linfáticos, é relativamente baixo, mesmo quando estão situados internamente nos triacilgliceróis da dieta. b) *In vitro*, a técnica, bem conhecida, que utiliza a especificidade posicional da lipase pancreática, para determinação de estrutura dos triacilgliceróis, não pode ser aplicada, quando a cadeia interna dos triacilgliceróis é curta.

Sabe-se que os TCM e TCL são digeridos e metabolizados de modo diverso, sendo que a maior parte do TCM ingerido pode ser absorvida, intacta, pelas células das vilosidades intestinais (3).

Enzimas lipolíticas, do epitélio intestinal de mamíferos, ativas em relação a lipídios neutros, têm sido, recentemente, caracterizadas. O intestino delgado de porco contém uma enzima lipolítica simples (lipase intestinal), principalmente ativa em relação a TCM, mas também ativa em relação a Acil-coenzima A (Acil-CoA), tendo sido purificada, 242 vezes, por SERERO et al. (33) em 1975.

Em 1976, FERNANDEZ-LOPEZ et al. (34) isolaram do intestino de rato, e purificaram, uma enzima lipolítica simples (glicerol-éster hidrolase), com especificidade mais restrita. Tem um pH ótimo entre 8,0 e 8,5, atuando, principalmente, em di- e triacilgliceróis de cadeias médias e curtas, e monoacilgliceróis de

cadeias curtas, médias e longas, sendo inativa em relação a Acil COA (34).

Uma glicerol-éster hidrolase do intestino humano (35) tem sido também caracterizada e parcialmente purificada (23 vezes). A origem pancreática foi excluída, pelo uso de imunosoro, enquanto que uma origem faringêia, seria improvável devido à diferença de pH ótimo das duas enzimas. Esta glicerol éster hidrolase é especialmente ativa em relação a di- e triacilgliceróis de cadeias curtas e médias, a monoacilgliceróis de cadeia longa, em forma micelar, mas não a triacilgliceróis de cadeia longa.

Absorção dos lipídios

A finalidade primordial da digestão é a absorção (36). Somente após a sua passagem, através do revestimento epitelial do trato digestivo e penetração na corrente sangüínea é que os produtos da digestão se tornam capazes de preencher suas finalidades, fornecendo alimento às células tissulares do corpo. Apesar da absorção de nutrientes ocorrer, principalmente, no intestino delgado, é no intestino grosso, que se processa a absorção de água e sais, em quantidades apreciáveis. Calcula-se, que a existência de vilosidades (Figura 1) aumenta 7 a 8 vezes a superfície da membrana mucosa do intestino. As microvilosidades fazem com que este aumento passe para mais de vinte vezes.

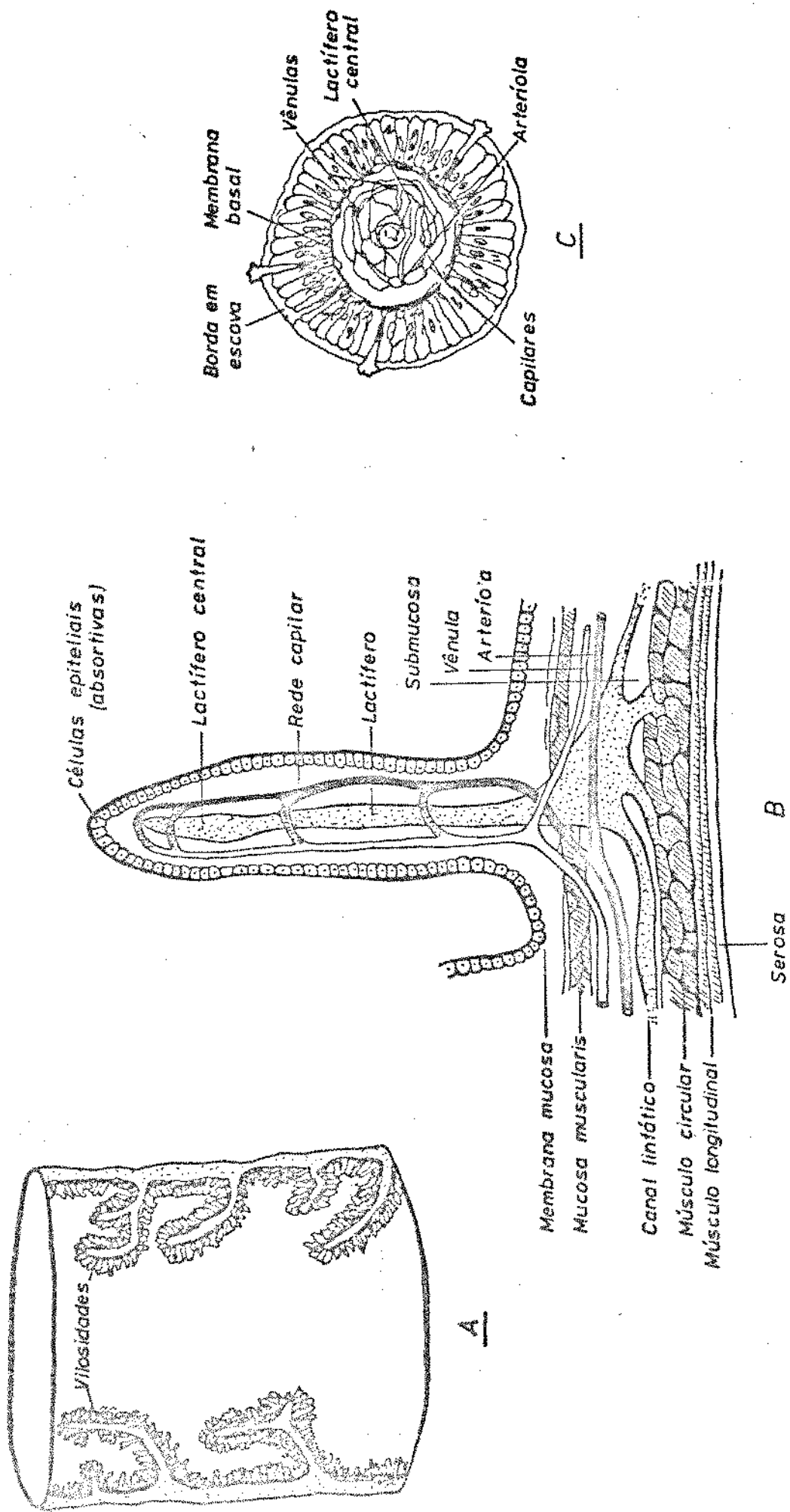


FIGURA 1 - Estrutura do intestino delgado e da vilosidade. Intestino delgado - corte longitudinal (A);

Vilosidade - corte longitudinal (B), - corte transversal (C). (Fontes: A e C - GUYTON, A.C.

1971 - Tratado de Fisiologia Médica. Interam.; B - CULCLASURE, D.F. 1973. Sistema Digesti

vo. Ed. Univ. Brasília).

A superfície luminal do intestino é recoberta por uma camada de água não misturada (ANM) de cerca de 0,1 mm de espessura (37). Para atingir a borda em escova das células da mucosa, as substâncias devem difundir através desta camada de água. No caso dos lipídios, esta difusão deve ser a etapa limitante da velocidade, em sua absorção (38). Uma vez que as micelas mistas, contendo ácidos graxos livres (AGL), monoacilgliceróis e lisofosfatídios, atinjam altas concentrações no lúmen intestinal, durante a digestão dos alimentos, elas são o maior veículo na difusão do lipídio, para a borda em escova da célula da mucosa (39) (Figura 2).

A micela, uma vez atingindo a borda em escova, poderia entrar na célula ou ter seus componentes - ácidos graxos livres, monoacilgliceróis e lisofosfatídios dissociados, os quais difundiriam através da membrana; contudo, ainda não está certo qual destes fenômenos ocorre (40), ou se há possibilidade, de ambos ocorrerem, simultaneamente. Há incerteza, também, quanto a passagem dos lipídios, através da membrana plasmática, podendo ser, por simples difusão (41) ou por um processo mais elaborado (42, 43).

CLÉMENT (1) menciona em sua revisão, efetuada em 1976, que de modo geral, as gorduras insaturadas (de ponto de fusão mais baixo) são absorvidas mais rapidamente do que as gorduras saturadas (ponto de fusão mais elevado). A tripalmiti

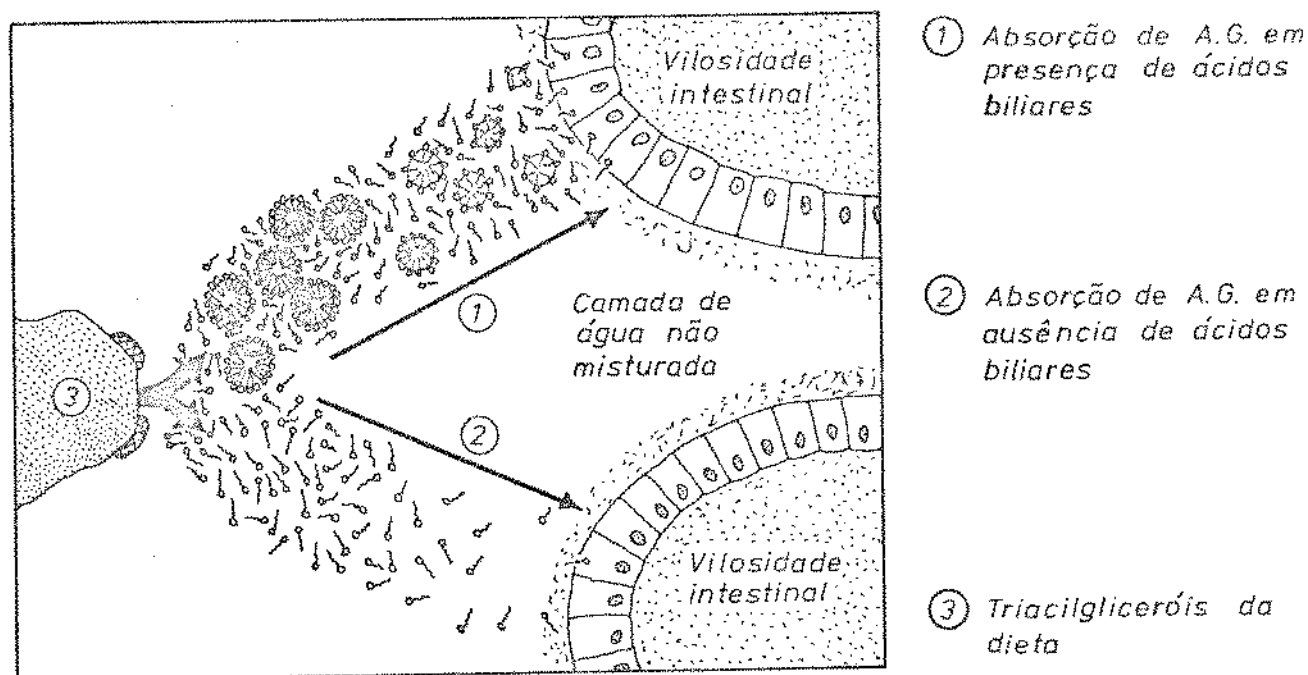


FIGURA 2 - Representação esquemática da absorção dos lipídios na célula da mucosa intestinal em presença e ausência de ácidos biliares. 1 - a difusão dos lipídios, através da camada de água não misturada, é aumentada e, a absorção dos ácidos graxos é relativamente eficiente. 2 - a camada de água não misturada apresenta resistência significativa à difusão das moléculas dos lipídios apolares, por meio da qual a absorção ficaria reduzida. (Fonte: WESTERGAARD, H. & DIETSCHY, J.M. 1974. Normal mechanisms of fat absorption and derangements induced by various gastrointestinal diseases. Med. Clin. North. Am. 58:1413).

na e triestearina que são dificilmente digeridas, apresentaram maior índice de digestibilidade, quando misturadas com óleo de oliva; a primeira, misturada na proporção 1/1, em peso, passa de 55 para 85% e a segunda misturada na proporção de 3/1 em peso, eleva seu coeficiente de digestibilidade de 37 para 50% (44).

A quase totalidade das gorduras naturais, que são constituídas de triacilgliceróis mistos, apresentam uma digestibilidade de 95 a 98% (45, 46), contudo, se os triacilgliceróis apresentarem elevado teor de ácido esteárico ou outro ácido de cadeia longa saturado, sua digestibilidade é menor.

Estudos com microscópio eletrônico têm sido feitos, por vários pesquisadores, em relação às estruturas envolvidas na absorção intestinal de TCL (47).

Conforme cita OSHIMA (48), estes estudos, junto com as investigações bioquímicas de SENIOR e ISSELBACHER (49, 50), DAWSON e ISSELBACHER (51) e SJÖSTRAND e BORGSTRÖM (52), têm demonstrado, que o retículo endoplasmático das células absorptivas, é o local de ressíntese de triacilgliceróis, e que tanto o Complexo de Golgi, quanto o retículo endoplasmático, estão envolvidos no transporte intracelular de TCL.

Por sua vez, sabe-se que o TCM é raramente ressinetizado nas células absorptivas intestinais, de acordo com DAWSON e ISSELBACHER (51), GELB e KESSLER (53), GREENBERG *et al.* (54, 55) e BRINDLEY & HÜBSCHER (56).

Existem poucos trabalhos em relação aos aspectos morfológicos da absorção de TCM (57).

OSHIMA (48) em 1977, estudando a absorção intestinal de TCM e TCL, em ratos, mostrou que há diferenças morfológicas, surpreendentes, entre a absorção destes dois lipídios. A mais evidente, é a de que não aparecem gotas de lipídios ou quilomícrons, no retículo endoplasmático das células absorptivas dos ratos alimentado com TCM, enquanto que um grande número de quilomícrons aparece no retículo endoplasmático dos ratos alimentados com TCL. Estas evidências sugeriram que a maior parte do TCM administrado era transportada através das células absorptivas, sem reesterificação no retículo endoplasmático, para o sistema venoso portal e que somente uma pequena parte do TCM administrado, era transportada via lactífero central, após reesterificação (Figura 3 e 4).

O trabalho de GANGL (58) mostra alguns detalhes dos aspectos fisiológicos da absorção dos triacilgliceróis, enfatizando o papel da proteína que se liga aos ácidos graxos (PLAG) (Figura 5).

Segundo THÉODORE & CERF (59), esta proteína celular solúvel, caracterizada pelos trabalhos de OCKNER *et al.* em 1972 (60), com peso molecular 12000, realiza o transporte intracelular dos ácidos graxos, apresentando grande afinidade pelos ácidos graxos insaturados de cadeia longa (AGICL), afinida

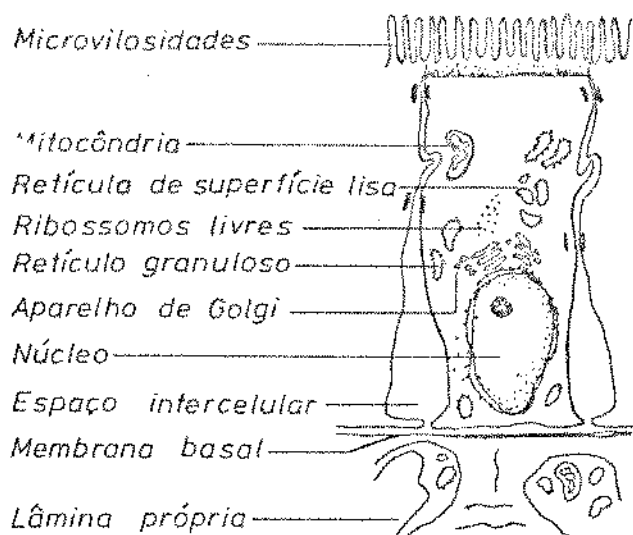


FIGURA 3 - Diagrama esquemático da célula absorptiva intestinal.

(Fonte: TRIER & RUBIN. 1965 - Electron microscopy of the small intestine: a review. Gastroenterology 49:574-603).

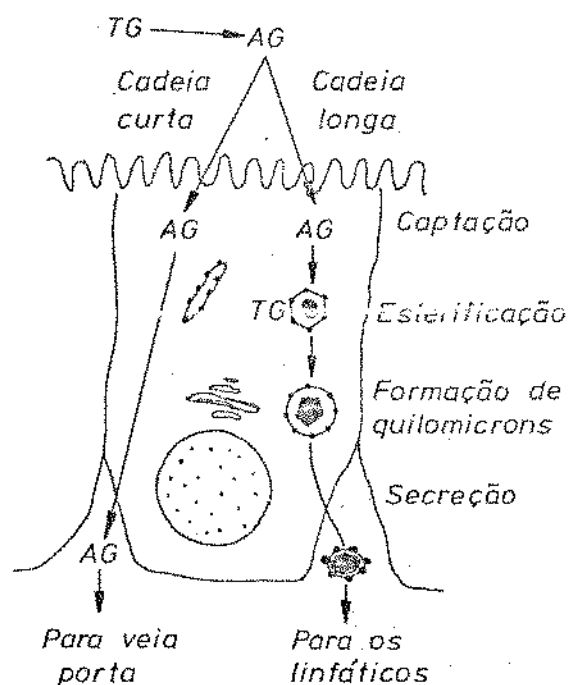
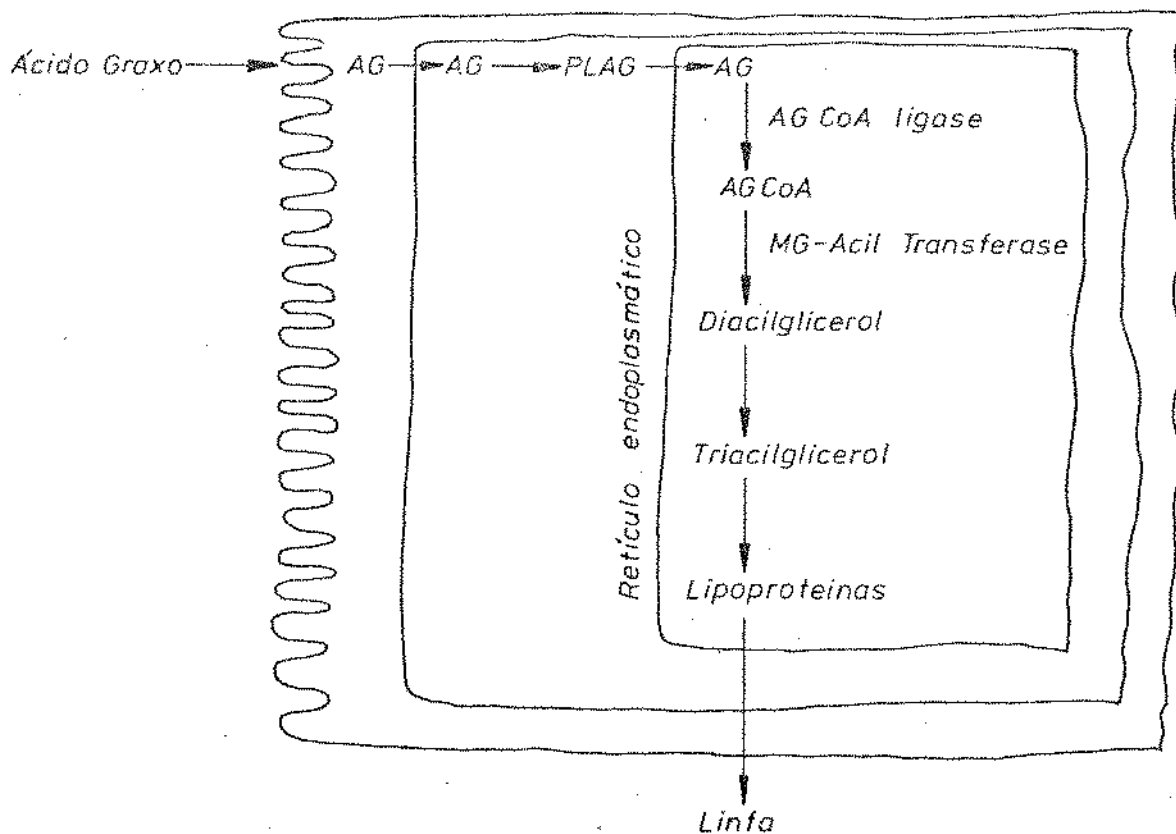


FIGURA 4 - Absorção dos ácidos graxos pelas células da mucosa intestinal. (Fonte: CANONG, N.F. 1974. Manual de Fisiologia Médica).



AG - Ácido graxo

PLAG - Proteína que liga o ácido graxo

AG CoA ligase - Ácido graxo coenzima A ligase

AGCoA - Ácido graxo ligado ao coenzima A (Ácido graxo ativado)

MG-Acil Transferase - Enzima que liga o ácido graxo ativado ao monoacilglicerol

FIGURA 5 - Esquema de absorção e transformação dos ácidos graxos na célula intestinal (Fonte: GANGL, A. 1975 - Referência 58).

de média, pelos ácidos graxos saturados de cadeia longa (AGSCL) e fraca, pelos ácidos graxos de cadeia média (AGCM). Após absorção, os ácidos graxos são transportados da parede interna da membrana da vilosidade, ao retículo endoplasmático, onde serão metabolizados (60, 61), Figura 6.

ASPECTOS PATOLÓGICOS EM RELAÇÃO À DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE GORDURAS

Síndromes

De acordo com SLEINSENGER (62) a síndrome de má absorção é um conjunto de sintomas e de sinais resultantes de uma excreção fecal anormal de gordura (esteatorréia), e de graus variáveis de má absorção de vitaminas lipossolúveis, assim como de carboidratos, proteínas, minerais, outras vitaminas e água. A taxa de absorção, quer seja de ácidos graxos livres, quer seja de glicerídeos, é determinada, principalmente, pelo comprimento da cadeia carbonada e pelo grau de saturação dos ácidos graxos envolvidos (62).

Segundo o mesmo autor (62) a administração de ácidos graxos de cadeia média, que passam diretamente para o sistema venoso portal, devido às suas características peculiares já mencionadas anteriormente, constitui uma vantagem nos pacien

AG -Ácido graxo
 AGCL -Ácido graxo de cadeia longa
 AGCM -Ácido graxo de cadeia média
 DG -Diacilglicerol
 MGCL -Monocilglicerol de cadeia longa
 TCL -Triacilglicerol de cadeia longa
 TCM -Triacilglicerol de cadeia média
 TG -Triacilglicerol
 (TG) Quilomícron
 (TG) Lipoproteína de baixa densidade

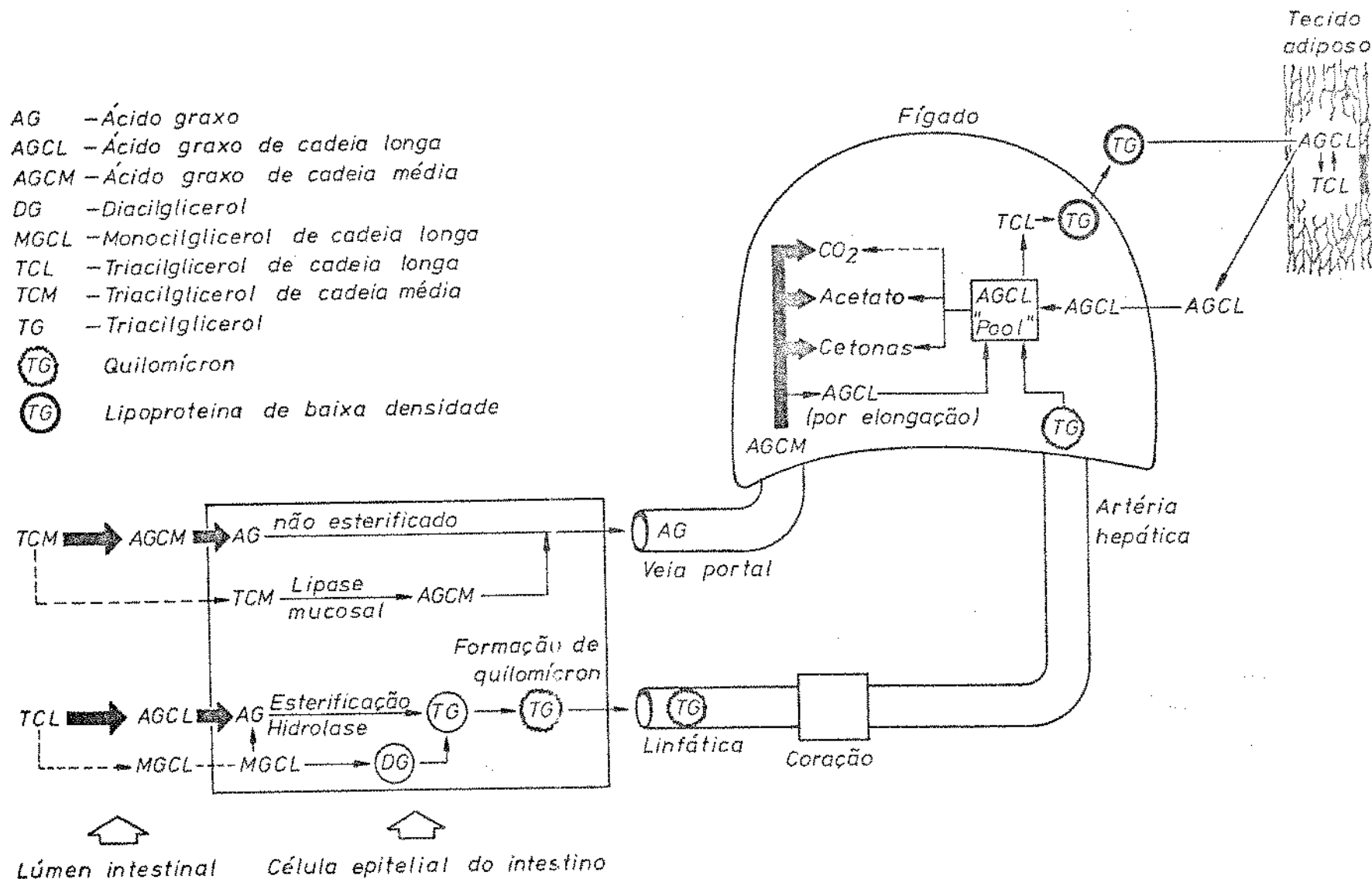


Fig.6 Metabolismo dos TCM, TCL e ácidos graxos de cadeia média e de cadeia longa no intestino, fígado e tecido adiposo. (PONTE: GREENBERGER, N.J. & SKILMAN, T.G. 1969. Medium-Chain triglycerides. *New Eng. J. Med.* 280:1045-1058).

com enfermidade da mucosa intestinal.

Fibrose cística do pâncreas (mucoviscidose)

É a causa mais frequente de uma insuficiência pancreática exócrina na idade infantil e, simultaneamente, uma das doenças genéticas de maior ocorrência. Atinge 0,05% da população e pode levar à morte precoce, por obstrução intestinal, desnutrição ou doença pulmonar (63). Por afetar a superfície reabsortiva das glândulas exócrinas, provoca excessiva excreção de sódio e de muco, apresentando como consequências: insuficiência pancreática, insuficiência respiratória, sudorese com exsudação de sódio, etc.

Dificuldade da digestão intestinal de gordura e da absorção, de seus constituintes, é uma das principais manifestações da fibrose cística do pâncreas (64, 65). Através de muitos trabalhos foi comprovada a eficiência do TCM no tratamento de vários tipos de esteatorréia (66, 67, 68).

O trabalho de KUO & HUANG (69) indica que é possível usar alimentação com TCM, por um período prolongado de tempo, para controlar a esteatorréia, e para aumentar a ingestão calórica diária, em crianças com fibrose cística do pâncreas.

Pancreatite crônica

Constitui a causa mais frequente de uma insuficiência pancreática exócrina. Pode ocorrer em todas as idades, mas principalmente na idade adulta. Correspondendo ao consumo de bebidas alcoólicas, há considerável predominância do sexo masculino, especialmente entre pacientes mais jovens (70).

Manifestações clínicas da esteatorrêia

A perda excessiva de gordura, nas fezes, priva o organismo de quantidades consideráveis de calorias, levando a perda de peso e desnutrição. Possivelmente, o efeito irritante dos ácidos graxos de cadeia longa (C_{18}) não absorvidos, que são hidroxilados, contribua para a diarreia, com as consequentes grandes perdas de água, eletrólitos e outros elementos nutritivos. Além disso, a fixação do cálcio (Ca^{++}) pelos ácidos graxos, favorece a hipocalcemia. A flatulência e a distensão abdominal podem ter relação com a menor absorção de gordura e a fermentação excessiva de carboidratos (62).

Avaliação da gordura fecal

Como o aspecto mais característico, no diagnóstico da síndrome de má absorção, é a esteatorrêia, a determinação

da gordura fecal adquire extrema importância. Um dos métodos é o da análise química das fezes, acumuladas em 72 horas, ingerindo o paciente 80 a 100 g de gordura por dia. Nestas circunstâncias, a excreção normal será de aproximadamente 6,0 g por dia (62).

Segundo CANTAROW e SCHEPARTZ (71) os adultos em dieta normal excretam, por dia, entre 75 e 170 g de fezes, das quais cerca de 25 a 30% correspondem a sólidos, sendo o restante representado por água. Quando a dieta é rica em vegetais, essa quantidade aumenta, principalmente se eles são ingeridos crus.

Em condições habituais, cerca de um terço do peso seco das fezes corresponde às bactérias. A matéria orgânica é representada principalmente por celulose, proteína e gorduras. Em circunstâncias normais, 5 a 25% dos sólidos fecais são representados pelas gorduras. Estas aumentam, consideravelmente, nos estados em que ocorre interferência na função pancreática ou biliar. No caso de total ausência de suco pancreático, as gorduras ingeridas podem ser excretadas nas fezes, maciçamente, até 90% (72).

FERNANDES *et al.* (73) afirmam que o meio mais satisfatório de se estudar a absorção de gordura é, provavelmente, a comparação da gordura fecal com a gordura da dieta. Este método apresenta a vantagem de investigar a absorção dos

ácidos graxos administrados sem alterar a homeostase.

Os mesmos autores (73) verificaram que a absorção dos ácidos graxos, em pacientes com esteatorréia, é determinada por três fatores: 1) tamanho da cadeia - a absorção diminui com o aumento do peso molecular; 2) grau de saturação - os ácidos graxos com uma ou mais ligações duplas são absorvidos em maior quantidade do que o são seus saturados correspondentes, sendo que os ácidos C_{18} poliinsaturados são melhor absorvidos do que o ácido oléico e 3) composição da gordura da dieta - o grau de absorção de qualquer ácido graxo é maior, quando a quantidade administrada de ácido graxo facilmente absorvido, diminui.

Métodos de estimação dos lipídios fecais

Métodos de avaliação da gordura fecal tem sido objeto de estudos de muitos pesquisadores, dentre eles: INABA (74) em 1908, FOLIN e WENTWORTH (75) em 1910, SAXON (76) e GEPHART e CSOKKA (77) em 1914, HOLT *et al.* (78) em 1919 e FOWWEATHER (79) em 1926.

Os estudos de VAN de KAMER *et al.* (80, 81, 82) propiciaram o surgimento de um método bastante simples que foi adotado, por muitos pesquisadores e laboratórios de análises clínicas, desde o seu aparecimento até nossos dias. Devido às ca

racterísticas peculiares do TCM, surgiu a necessidade de se buscar um método de análise de fezes, que dosasse a presença de seus ácidos graxos, nas mesmas. Como decorrência disto, foi feito um estudo dos métodos até então existentes, que se encontra no Apêndice nº1.

Aplicações do TCM

Tem sido demonstrado, por vários pesquisadores, o uso do TCM no controle nutricional de pacientes com problemas de absorção de gorduras. Os dados fornecidos a seguir, resultantes do trabalho de VAN ITALLIE (83), mostram o emprego clínico deste óleo, junto com suas propriedades físico-químicas e fisiológicas.

Usos clínicos do TCM

Propriedades físico-químicas	Características fisiológicas	Usos
Apresenta mais superfície interfacial para ação enzimática por unidade de tempo.	Velocidade de hidrólise enzimática intraluminal do TCM é maior do que a do TCL.	a) Insuficiência pancreática parcial com lipases diminuídas. b) Diminuição da superfície absorptiva do intestino.

Hidrossolubilidade -
dos produtos de hi
drólise.

Não requer sais biliar
es para a formação
de micelas.

Obstrução biliar com
ausência parcial ou
completa de sais bi
liares.

Moléculas de TCM me
nores do que as de
TCL.

Hidrólise intramocu-
sal.

Esteatorréia pancreá
togênica.

TCM - ácidos graxos
de cadeia mais curta.

- a) Penetração mais e
ficiente na superfí-
cie mucosal afetada.
- b) Não são esterificaa
dos no fígado.
- c) Catabolismo obrigat
ório para acetilcoenz
ina A com formação de
corpos cetônicos.

- a) Esteatorréia enter
rogênica.
- b) Hiperlipemias.
- c) Caracterização do
diabetes melitus.

Configuração estéri
ca e pequeno tamanho
molecular dos ácidos
graxos.

- a) Ausência de enzima
para a reesterifica-
ção na mucosa.
- b) Não são excluídos
das fenestrações capil
lares (em contraste -
com os quilomicrons)
com transporte capil
lar à veia portal.

- a) Fístulas quilosas.
 - b) Obstrução quilosa.
 - c) Linfangiectasia.
-

Alimentos contendo TCM

De acordo com BABAYAN (6) o TCM pode ter composição bastante flexível. A sua aceitabilidade clínica difere muito pouco, quer sua composição apresente uma distribuição de ácidos graxos ao acaso, quer ela seja decorrente de uma mistura de dois ou mais triacilgliceróis. Foi constatado, tanto em animais quanto em humanos, que diferenças na forma física ou nas constantes químicas, decorrentes do tipo e proporção dos ácidos graxos componentes, tinha mínima influência no metabolismo do TCM. Entretanto, os ácidos graxos componentes deveriam estar abaixo do ácido láurico. Por outro lado a legislação francesa (84), de setembro de 1977, define TCM como produto formado por ácidos graxos com 8, 10 e 12 átomos de carbono.

O preparo de TCM requer cuidados especiais, no sentido de que a esterificação seja a mais completa possível, a fim de que o produto final possua odor e gosto aceitáveis. WIESKE e MENZ (85) utilizando TCM como componente de margarinas, demonstraram que a existência de monoacilgliceróis dos ácidos caprílico (C_8) e cáprico (C_{10}), podia conferir gosto extremamente amargo ao produto, quando em concentrações de 0,1%.

Fórmulas de dieta contendo TCM

Fórmulas em pó, contendo TCM, parecem ser bem toleradas e mais aceitas, por pacientes, do que o óleo, como tal, embora este último, seja uma fonte mais concentrada de calorias (86).

O TCM pode também ser usado como molho ou tempero para saladas e vegetais crus (86).

Crianças prematuras alimentadas com fórmulas contendo TCM em níveis de 40 e 80%, apresentaram bom desenvolvimento, resultante de um aumento na absorção das gorduras. A fórmula contendo 40% de TCM conduziu a um ganho de peso maior (87).

Existem formulações que incluem em sua composição: proteínas, carboidratos, vitaminas e TCM em proporções variadas (88, 89).

HOLT (90) descreveu uma preparação contendo 35g de leite desnatado, 7 g de glicose, 10 ml de TCM e água suficiente para obter um volume de 240 ml; esta formulação podia ser misturada e aromatizada conforme o desejado.

Atualmente surgiram alimentações líquidas isotônicas, incluindo TCM em níveis de 15% do total calórico, que podem ser utilizadas para dietas líquidas (sondas) ou para suplementação alimentar (91).

Estas formulações poderiam trazer suplemento alimentar, para as diferentes faixas etárias, tanto para indivíduos

normais, quanto para enfermos. Além de pessoas com síndromes de má absorção, pacientes com dieta enteral, prematuros e indivíduos normais, com suplementação alimentar, o TCM, em forma de óleo, ou em formulações especiais, poderia ser também utilizado em geriatria. Os trabalhos de WEBSTER *et al.* (92) mostraram que o padrão de absorção lipídica, em idosos, não é o mesmo que o dos jovens.

Outros empregos do TCM

As análises do sangue, de pacientes recebendo alimentação parenteral contendo TCM, mostraram, que o mesmo foi rapidamente metabolizado a corpos cetônicos, sem gliconeogênese, e portanto, poderia ser utilizado neste tipo de alimentação, como um rápido fornecedor de energia (93).

GALLO-TORRES *et al.* (94), em 1973, estudaram o efeito do TCM na disponibilidade da vitamina E, comprovando a teoria de que a absorção gastrointestinal dos tocoferóis da dieta era dependente da simultânea digestão e absorção da gordura na qual a vitamina estava solubilizada.

ECKERT & KEMPER (95) mostraram a importância do TCM nas solubilizações de certos fármacos para aplicação oral.

THISTLE *et al.* (96), em 1977, mostraram que o TCM dissolve rapidamente *in vitro*, cálculos biliares; enquanto

que MACK *et al.* (97) relataram que uma fórmula comercial, contendo di-e monoacilgliceróis de ácidos graxos de cadeia mê dia, era um excelente agente para dissolução de cálculos bília res, quando usada em sondas especiais.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Frações leves de ácidos graxos de óleo de baba
çu, industrialmente destiladas.

Captex 300 (TCM) Capital City Products Co.

Óleo de Milho comercial.

Animais de laboratório:

- ratos WISTAR para ensaios biológicos e *in vi*
tro;
- excretas de pacientes e animais de laborato
rio.

- Reagentes

Glicerol comercial 96%

Ácido fosfórico 85%, Baker, A.R.

Zinco em pó, Riedel, P.A.

Ácido clorídrico 37%, Carlo Erba, P.A.

Anidrido acético, Baker, P.A.

Ácido acético glacial, Merck, P.A.

Ácido sulfúrico, Carlo Erba, P.A.

Colesterol, Aldrich, P.A.

Vanilina, Fischer.

Hidróxido de sódio, Baker, A.R.
Hidróxido de potássio, Baker, A.R.
Soda cáustica em escamas, Polyfarma.
Acetona, Reagen, P.A.
Álcool etílico absoluto, Baker, P.A.
Éter de petróleo (40 - 60 °C).
Hexana destilada.
Clorofórmio, Riedel, P.A.
Metanol, Carlo Erba, P.A.
Éter dietílico, Moura Brasil, P.A.
Álcool isopropílico, Merck, P.A.
Iodeto de potássio, Ecibra, P.A.
Tetracloreto de carbono, Ecibra, P.A.
Tiosulfato de sódio, Riedel, P.A.
Solução de iodo-cloro, segundo Wijs, Qeel, P.A.
Saponina, Merck.
Fosfato dissódico, Merck, P.A.
Fosfato monopotássico, Merck, P.A.
Sulfato de cobre, Qeel, P.A.
Tartarato de sódio e potássio, Reagen, P.A.
Celite.

- Nutrientes e ingredientes para ensaios biológicos

Sais minerais, P.A.

Vitaminas, Merck, P.A.

Ração comercial para animais de laboratório nº49.

Leite em pó desnatado.

Amido de milho comercial.

Óleo de milho comercial.

Triacilgliceróis de cadeia média (TCM).

- Ingredientes para fabricação de sorvete

Leite em pó.

Gordura hidrogenada.

TCM.

Açúcar.

Vanilina.

Emulsificante (carboximetilcelulose).

- Ingredientes para testes sensoriais

Monoacilgliceróis de ácidos graxos de C_8 , C_{10} e

C_{12} .

Óleo mineral, Nujol.

- Ingredientes para dieta enteral

Caseinato de cálcio solúvel, Casec, Mead Johnson.

Glicose, Ecibra.

Rehidrat, Scarle.

Óleo de milho comercial.

TCM.

Amido comercial.

Vitaminas, Merck.

- Aparelhos e equipamentos

Conjunto evaporador à vácuo, ICMA, instalado na planta piloto da FEAA/UNICAMP, convenientemente adaptado. As modificações contaram de:

- instalação de válvulas para injeção de vapor direto, para resfriamento e para descarga do produto.

Todas estas modificações foram do tipo removível, para não comprometer a finalidade original do aparelho. (Figura 7)

Bomba de vácuo, NASH, provida de ejeter atmosférico e de dispositivo para regulagem de pressão modelo HC-25.

Caldeira elétrica, LUFERCO, provisoriamente instalada.

Vacuômetro de mercúrio.

Placa de aquecimento e agitação magnético, Thermolyne.

Cromatôgrafo gás-líquido, Perkin-Elmer, modelo 990.

Cromatôgrafo gás-líquido, VARIAN Aerograph, modelo 204.

Coletor de destilados, Dean Stark.

Espectrofotômetro, Coleman 295 E.

Espectrofotômetro, Baush-Lomb.

Banho térmico, Buchler.

Placa de Aquecimento FAET.

Centrífuga FANEM.

Trompa d'água.

Cadinhos e baguetas de Teflon.

Estufa FANEM.

Condensador.

Vidraria e aparelhos comuns para análises de la
boratório, sensoriais e ensaios biológicos.



FIGURA 7 - Conjunto evaporador a vácuo ICMA, da Planta Piloto FEAA-UNICAMP, convenientemente adaptado.

MÉTODOS

- Métodos preparativos

Preparo de triacilgliceróis de ácidos graxos de cadeia média de carbonos (TCM), em equipamento adaptado na planta piloto da FEAA/UNICAMP.

Carga nº I (TCMI)

Para obter uma carga do produto, o "conjunto evaporador a vácuo" foi alimentado com 165 kg de ácidos graxos de cadeia média ($\overline{PM} = 189$), e com 24 kg de glicerol (quantidade calculada para se obter um excesso de 10% de ácidos graxos livres, sobre a quantidade estequiométrica). Adicionou-se 1 kg de ácido fosfórico a 85%. A reação foi conduzida a 145 °C e pressão absoluta de 120 torr, durante 36 horas, até atingir a acidez correspondente a 8,5% de ácidos graxos livres (A.G.L.).

- Neutralização

A carga foi neutralizada, sob agitação, com 34 l de solução aquosa de NaOH a 10%, contendo 8,0 kg de açúcar, a temperatura ambiente, seguida de aquecimento até 65 °C. Depois de um repouso de 3 horas, a "borra" foi removida, o óleo lavado quatro vezes, com porções de 10% de água, a temperatura de 80 °C.

- Desodorização

A desodorização foi efetuada pela injeção de vapor direto, com agitação, durante 4 horas, a 145°C e 120 torr, seguida de resfriamento, sob vácuo até temperatura ambiente.

- Filtração e enlatamento

O óleo desodorizado foi escoado através de um filtro de lona, usando-se 0,1% de celite, como auxiliar de filtração, e armazenado em latas envernizadas nº 2,5 de 850 ml.

Carga nº II (TCMII)

Nesta obtenção de TCM os passos fundamentais foram semelhantes aos anteriores, com as seguintes modificações:

- a matéria prima consistiu de 170 kg de fração leve de ácidos graxos de babaçu de $\overline{\text{PM}} = 151$ e de 32 kg de glicerol.
- o catalisador foi adicionado depois de atingir uma acidez de 21% de ácidos graxos livres (A.G.L.).
- o tempo total de reação foi de 29 horas, o que resultou em acidez de 4,2% de A.G.L.

Devido a um escurecimento demasiado do produto, foi efetuado seu branqueamento com 2% de água oxigenada a 30%, com aquecimento até 80°C , sob agitação, durante 2 horas. O óleo foi lavado com 5% de água (2 vezes) a 80°C , neutralizado, lavado, desodorizado e filtrado, como anteriormente descrito.

Obtenção em Escala de Laboratório do Óleo Interesterificado Contendo Triacilgliceróis de Ácidos Graxos de Cadeia Média e Longa "TCML"

Este produto foi obtido por glicerólise do óleo de milho, seguida de esterificação com ácidos graxos de peso molecular $\overline{PM} = 151$.

- Glicerólise

Em kitassato de 2 l, provido de tampa com termômetro, foram colocados 500 g de óleo de milho refinado, 250 g de glicerol e 2,5 g de hidróxido de sódio. O frasco de reação foi colocado em placa de aquecimento com agitação magnética e conectado à trompa d'água. A mistura foi aquecida a 200°C , mantida nesta temperatura por 30 minutos, e resfriada, sob vácuo, à temperatura ambiente.

- Esterificação

A reação foi conduzida em balão de vidro de 2 l, com duas bocas, e juntas esmerilhadas, às quais foram adaptados um termômetro e um coletor de destilados Dean Stark. A este último se ajustou um condensador a água, que estabeleceu a conexão do sistema com a linha de vácuo.

Foram colocados 450 g de monoacilgliceróis de

óleo de milho, 900 g de ácidos graxos de cadeia média ($\overline{PM} = 151$) e 5,0 g de zinco em pó. O frasco foi aquecido em banho térmico, instalado sobre uma placa de aquecimento e agitação magnética. Os reagentes permaneceram, durante o tempo de reação (9 horas), a uma temperatura de 140 até 180 °C e pressão absoluta de 100 torr.

A água resultante da reação foi periodicamente retirada, sem interromper o vácuo. O excesso de ácidos graxos foi removido, por destilação com injeção de vapor direto, a 180 °C e pressão absoluta de 12,5 torr. O produto, assim obtido, foi neutralizado com 200 ml de solução de hidróxido de sódio a 10%, contendo 60 g de glicerol, lavado com água, desodorizado com vapor direto a temperatura e pressão acima mencionadas, durante 3 horas e, resfriado sob vácuo.

Preparo de Monoacilgliceróis Puros de Ácidos Graxos de C_8 a C_{12}

Foi feito pelo método de EMIL FISCHER, modificado por HARTMAN (98).

Preparo de Sorvetes com ou sem o uso de TCM

TABELA I - Composição dos Sorvetes

Ingredientes	Amostra Controle (g)	Amostra A (g)
Leite em pó	110,0	110,0
Gordura hidrogenada	100,0	-
TCM	-	100,0
Açúcar	160,0	160,0
Vanilina	5,0	5,0
Carboximetilcelulose	0,05	0,05
Água	625,0	625,0
TOTAL	1.000	1.000

Os sorvetes foram preparados pelo Prof. Ramón Gu-
tiérrez do Departamento de Tecnologia da FEAA/UNICAMP.

- Métodos analíticos

Para caracterizar os produtos obtidos foram fei-
tas as seguintes determinações:

- ácidos graxos livres (99)
- índice de saponificação (100)
- índice de iodo (101)

- cor Lovibond (102)
- monoglicerídios (103)

A composição dos ácidos graxos dos produtos obtidos foi determinada por cromatografia gás-líquido de seus êsteres metílicos preparados pelo método de HARTMAN e LAGO (104).

Outros métodos analíticos incluíram:

- determinação de lipídios totais no soro, pelo método de ZÖLLNER e KIRSCH (105).
- determinação de colesterol no soro, pelo mêtodo de LIEBERMANN-BURCHARD modificado (106).
- determinação do fósforo no soro, pelo método de HARTMAN *et al.* (107).
- extração de lipídios dos tecidos, pelo mêtodo de FOLCH *et al.* (108).
- determinação de proteínas, pelo método de biureto de GORNALL *et al.* (109).

Determinação de Lipídios nas Fezes Humanas e Animais, e de sua Insaturação, com Aplicação Especial para Dietas com TCM

Para esta estimação seguiu-se o método de "Determinação de Lipídios em Fezes Humanas, incluindo ácidos graxos e glicerídios de cadeia média", que aparece no Apêndice 1, com as seguintes modificações:

- uma alíquota de 10 ml de solução de lipídios em hexana foi ti

tulada com solução de 0,1 N de NaOH etanólico, em presença de fenolftaleína, e outra alíquota de 25 ml neutralizada (sem indicador) com base no resultado já obtido.

- o procedimento segue o método já mencionado, e os sabões, de pois da extração da matéria insaponificável e secagem, feita a vácuo, foram usados para determinar a insaturação dos ácidos graxos de acordo com o Método A.O.C.S. (101).

- Ensaaios biológicos

Ensaaios com animais

- Ensaaios com animais *in vivo*

Ratos WISTAR, fêmeas, aclimatados no biotério da FEAA por 2 meses, até obtenção de peso entre 150 e 220g, foram mantidos em gaiolas individuais, com piso de tela, e, em ambiente com temperatura e umidade controladas. O alimento, Dieta nº49 da Anderson Clayton - (ver apêndice 2), e a água foram fornecidos *ad libitum*.

- Preparo das dietas

O preparo das dietas seguiu as recomendações existentes (ver Apêndice 3 e 4) nos trabalhos de WARNER, 1962

(110); FRIEDMAN, 1975 (111) e A.O.A.C. (112). Na Tabela II, estão especificados os dados básicos da dieta utilizada.

- Procedimento

Os animais foram divididos em cinco grupos de nove ratos cada. Foram mantidos em gaiolas individuais, com água e dieta *ad libitum*, pelo período de 3 semanas. Os ratos foram pesados no início, e a cada 7 dias, durante o experimento.

- Sacrifício dos animais

No final de cada etapa, os animais foram sacrificados, por incisão na jugular, seu sangue foi coletado, com a adição de anticoagulante, e centrifugado a 2.500 rpm, por 10 minutos.

Os plasmas foram reunidos e analisados quanto aos seus níveis de lipídios totais, colesterol e fósforo.

Os fígados foram rapidamente removidos, lavados em solução fisiológica (0,9% NaCl) gelada, secos e pesados. Foram congelados e, posteriormente seus lipídios foram extraídos pelo método de FOLCH *et al.* (108) e dosados quanto aos seus níveis de lipídios totais (105) e colesterol (106).

TABELA II - Composição centesimal das dietas usadas nos ensaios biológicos.

Componente	Procentagem dietas				Observações
	OM 8%	TCMI 8%	OM 20%	TCMI 20%	
Proteína	10	10	10	10	Leite em pó desnatado
Lipídios	8	-	20	-	Óleo de milho comercial
	-	8*	-	20*	TCM
Sais minerais**	4	4	4	4	2% mistura adicionada
					2% presentes no leite
Vitaminas**	1	1	1	1	mistura adicionada
Carboidratos	77	77	65	65	63% amido comercial
					77%{ 14% lactose do leite
					51% amido comercial
					65%{ 14% lactose do leite

* Nestas dietas utilizou-se 1% de óleo de milho comercial, ficando portanto assim: 1% OM + 7% TCMI e 1% OM + 19% TCMI.

** Composição descrita nos Apêndices 3 e 4.

- Análise dos lipídios nas fezes

Semanalmente, as fezes de cada grupo foram coletadas e peneiradas. Uma alíquota foi retirada, homogeneizada e dosada quanto ao seu conteúdo lipídico pelo método desenvolvido neste trabalho (Apêndice 1), seguido de análise cromatográfica.

- Ensaio com animais *in vitro*

- Animais e preparo dos tecidos

Oito ratos WISTAR, machos, criados no biotério da FEAA, pesando aproximadamente 100 g, foram sacrificados com pancada na cabeça. Imediatamente, após incisão ventral, retirou-se parte do intestino delgado (duodeno e jejuno), lavou-se o lúmen intestinal, com solução fisiológica (NaCl a 0,9%) gelada, com auxílio de seringa. Abriu-se longitudinalmente, e cortou-se em fragmentos de 2 mm, aproximadamente. As amostras foram reunidas e usadas para a incubação.

- Incubação

Pesou-se, em erlenmeyer de 125 ml, 100 mg do óleo em estudo e 1,5 g de tecido. Acrescentou-se 10 ml de tampão fosfato com 1% de saponina. Incubou-se a 37 °C, por duas horas, sob agitação. Acidificou-se com 5,0 ml HCl 25%, colocou-se 1 ml

de álcool etílico absoluto e extraiu-se com 50 ml de hexana. Retirou-se uma alíquota de 5,0 ml da fase hexana e titulou-se com solução etanólica de NaOH 0,05 N, e fenolftaleína como indicador.

Transferiu-se para outro erlenmeyer 30 ml da fração hexana, neutralizou-se (sem uso de indicador) de acordo com a titulação prévia. Evaporou-se os solventes sob vácuo. O resíduo foi extraído com acetona, para remoção de insaponificáveis e glicerídios não hidrolizados, e procedeu-se à dosagem do Índice de iodo nos sabões, pelo Método A.O.C.S. (101).

- Ensaaios com pessoas

- Indivíduo normal

Dados pessoais: indivíduo normal, sexo feminino, idade 30 anos, altura 1,58 m e peso 40 kg.

Parte dos exames clínicos e laboratoriais foram efetuados no Hospital das Clínicas da UNICAMP.

- Dados sobre as dietas

Dieta padrão - indicada pela Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Ciência Médicas - UNICAMP, contendo 100 g de gordura por dia.

Dieta comum - alimentação normal (restaurante universitário e residência).

Dieta comum + TCM I - idem dieta comum, com acréscimo de 50 g de TCM I, ingeridos ao longo do dia, entre as principais refeições, misturados com leite em pó, açúcar e água.

Dieta comum + OM - idem dieta comum, com acréscimo de 50 g de óleo de milho comercial, da mesma forma como foi relatado para o TCM.

Todas as dietas foram utilizadas durante uma semana, sendo as fezes coletadas nos 3 últimos dias e, mantidas em recipientes, a 4 °C.

- Pacientes

- Pacientes números 1, 2 e 3.

Pacientes com fibrose cística do pâncreas

Indivíduos adultos, sendo duas mulheres e um homem; tratados na Clínica Universitária.

Dietas - dieta convencional e após, a substituição da gordura, nas mesmas proporções, por TCM II.

- Paciente número 4.

Indivíduo com fibrose cística do pâncreas, do sexo feminino, com três anos de idade. Por estar em fase de crescimento, foi impossível ministrar-lhe alimentos sem a suplementação enzimática usual (Viokase).

Dietas:

Dieta normal - alimentação comum (caseira), com pouca gordura.

Dieta normal + TCMII - alimentação comum (caseira), com adição de 10 g de TCM II, por dia, em mamadeira, iogurte desnatado, sopas, etc.

Após uma semana de dieta, as fezes foram recolhidas nos três últimos dias.

Dieta normal + "TCML"- semelhante a anterior.

Esta paciente vem se alimentando sistematicamente com TCM, há quase dois anos, sob os cuidados de seu pediatra.

- Paciente número 5.

Indivíduo com pancreatite crônica, do sexo feminino com 30 anos de idade.

Dietas:

Dieta normal + TCM II - alimentação comum (caseira), sem adição de pancreatina e com 76 g/dia de TCM II.

Dieta normal + "TCML" - idem a anterior, com 76 g de "TCML" por dia.

Dieta normal+OM+TCM II - idem a primeira, com adição de 76 g/dia da mistura (30% de ôleo de milho e 70% de TCM II).

- Paciente número 6.

Indivíduo adulto, de sexo masculino, com cirurgia de estômago (câncer), hospitalizado, recebendo alimento por sonda duodenal. (Dieta Enteral - ver Tabela III).

TABELA III - Composição da Dieta Enteral utilizada no Paciente número 6.

	Quantidade	Composição (g)			
		Carboidratos	Lipídios		Proteína
			TCM	TCML	
Rehidrat	100	83	-	-	-
Glicose	230	230	-	-	-
CASEC	95	-	-	1,9	84
TCM I	100	-	100	-	-
Óleo de milho	15	-	-	15	-
Amido de milho comercial	60	50	-	-	-
T O T A L	600	363	100	16,9	84
Calorias (Cal)	2770	1452	830	152,1	336

Observação:

Vitaminas foram acrescentadas na hora da dieta ser utilizada.

- Métodos sensoriais

Análise sensorial de sorvetes

Os sorvetes preparados com TCM I e gordura hidrogenada foram testados, no Laboratório de Análise Sensorial da FEAA, através de um método de Diferença - o Pareado com Preferência (113).

-Equipe

A equipe composta de 5 homens e 6 mulheres, na faixa etária entre 20 e 50 anos, recebia dois pares de amostras por sessão de provas, com intervalo de cinco minutos e, deveria indicar, dentro de cada par, a existência ou não de diferença e, em caso positivo, qual a amostra preferida (Modelo da Ficha - A pêndice 5).

Análise sensorial de monoacilgliceróis de ácidos graxos contendo 8, 10 e 12 átomos de carbono.

O objetivo foi medir a intensidade de gosto amargo dos monoacilgliceróis (C_8 , C_{10} e C_{12}), bem como, determinar, através do método de Magnitude (114, 115), se a percepção para o gosto amargo, é uma função das concentrações do estímulo, cumprindo a lei psicofísica de STEVENS (116, 117) onde ψ - percepção do gosto amargo pode ser expressa como uma função de potên

cia da concentração do estímulo ϕ .

Assim teríamos: $\psi = k \phi^n$ e em coordenadas log - log essa relação é expressa pela equação

$$\log \psi = n \log \phi + \log k$$

onde o expoente n e a intercepção k são calculados pelo método dos mínimos quadrados.

Esta equação é também expressa como:

$$S = k C^n$$

onde S , a magnitude psicológica e C , a magnitude física (114).

-Preparo das soluções

Os monoacilgliceróis de C_8 , C_{10} e C_{12} foram preparados a 0,2 g% (g/100 ml) em óleo mineral (nujol) insípido e inodoro. Após completa dissolução (banho a 30 °C) foram obtidas as demais concentrações estudadas - 0,1, 0,05 e 0,001%, a partir de diluições da primeira (0,2%).

-Equipe de provadores

Consistiu de 10 pessoas (6 homens e 4 mulheres, na faixa etária entre 20 e 30 anos) treinadas, inicialmente, com cartões especiais, para familiarização com o método a ser aplicado.

Delineamentos estatísticos para os testes sensoriais

Aplicou-se o delineamento em blocos completos, por ser o mais apropriado, no caso específico do método de magnitude.

Foram feitas quatro repetições sendo que em duas delas as concentrações foram apresentadas em ordem ascendente, e em outras duas, em ordem descendente.

- Testes

Cada provador recebeu o padrão (0,001%) e quatro amostras experimentais, dentre as quais incluía-se, novamente, o padrão, para medir a intensidade do gosto amargo. Copinhos plásticos, contendo 2 ml de cada amostra, foram dispostos por ordem de sorteio, pré-estabelecida para o teste, e mantidos à temperatura de 46 °C.

Os testes foram realizados em dois horários (10 horas e 15 horas) em sala apropriada, com cabines individuais e temperatura controlada.

RESULTADOS

Os dados pertinentes à obtenção, na Planta Piloto, de duas cargas de triacilgliceróis de ácidos graxos de cadeia média, TCM I e TCM II, estão resumidos na Tabela IV (página 64), que mostra as quantidades de reagentes, etapas de produção e rendimentos conseguidos.

As características e composição dos produtos acabados - TCM I e TCM II - aparecem na Tabela V (página 65) e as figuras 8 e 9 (páginas 68 e 69) correspondem aos cromatogramas dos TCM I e TCM II, obtidos na Planta Piloto.

A Tabela VI (página 66) mostra os dados referentes às quantidades de reagentes e etapas de produção do óleo interesterificado, - TCML -, obtido em escala de laboratório, enquanto que a Tabela VII (página 67) apresenta as características do TCML acabado.

TABELA IV - Quantidades de reagentes, etapas de produção e rendimentos de TCM I e TCM II.

Material e Procedimentos	Produtos	
	TCM I	TCM II
<u>Ácidos graxos</u>		
Peso molecular médio	189	151
<u>Esterificação</u>		
Glicerol (kg)	24,0	31,0
Ácidos graxos (kg)	165,0	170,0
Ácido fosfórico (kg)	1,0	1,0
Tempo (horas)	36	29
Destilados (kg)	12	18
Óleo cru (kg)	163	164
Acidez final (% AGL)	8,5	4,2
<u>Branqueamento</u>		
Água oxigenada a 30% (ℓ)	-	3,0
Temperatura (°C)	-	30 - 80
Lavagens (ℓ)	-	16
<u>Neutralização</u>		
Hidróxido de sódio a 10% com 8 kg de açúcar (ℓ)	34	-
Hidróxido de sódio a 10% (ℓ)	-	20
Lavagens 4 vezes (ℓ)	60	60
<u>Desodorização</u>		
Tempo	3 h 30 min	4 h
TCM acabado (kg)	141	148
<u>Rendimento da refinação</u>		
Perdas (kg)	22	16
% perdas*	13,5	9,7
Fator de perdas**	1,6	2,3

$$*\% \text{ perdas} = \frac{\text{perdas (kg)}}{\text{peso óleo cru (kg)}} \times 100$$

$$**\text{Fator de perdas} = \frac{\% \text{ de perda da neutralização}}{\% \text{ ácidos graxos livres no óleo bruto}}$$

TABELA V - Características e composição dos produtos acabados
TCM I e TCM II.

Características e composição	Produtos	
	TCM I	TCM II
Ácidos graxos livres (%)	0,09	0,05
Índice de saponificação	287,8	341,2
Monoacilgliceróis (%)	0,2	0,05
Cor Lovibond (cubeta de 133,35mm)	70 A - 11 V	35 A - 5,0 V
<u>Composição de ácidos graxos</u>		
Caprôico (C ₆) %	1,2	3,8
Caprílico (C ₈) %	25,4	68,9
Cáprico (C ₁₀) %	17,1	27,3
Láurico (C ₁₂) %	56,3	traços

TABELA VI - Quantidades de reagentes e etapas de produção do
TCML

Material e	Pesos (g)			Tempo	% A.G.L.
Procedimentos	Entrada	Saída	Remanescente		
<u>Esterificação</u>					
Monoacilgliceróis	450	-	-		
Ácidos graxos	900	-	-		
Zinco em pó	5,0	-	-		
Água	-	90			
<u>Destilação</u>					
Ácidos graxos	-	145	-	2 h 30 min	
TCML	-	-	1115	-	2,4
<u>Neutralização</u>					
Solução de hidróxido de sódio a 10% com 60 g de					
glicerol (ml)	200	-	-		
TCML	1115	-	-		
<u>Desodorização</u>					
TCML acabado	-	-	1005	3 h	

TABELA VII - Características do TCML acabado

Ácidos graxos livres (%)	0,1
Índice de saponificação	280,9
Índice de Iodo ($\text{gI}_2/100 \text{ g}$)	36
Monoacilgliceróis (%)	traços
Cor Lovibond (cubeta de 133,35mm)	35 A - 3,5 V

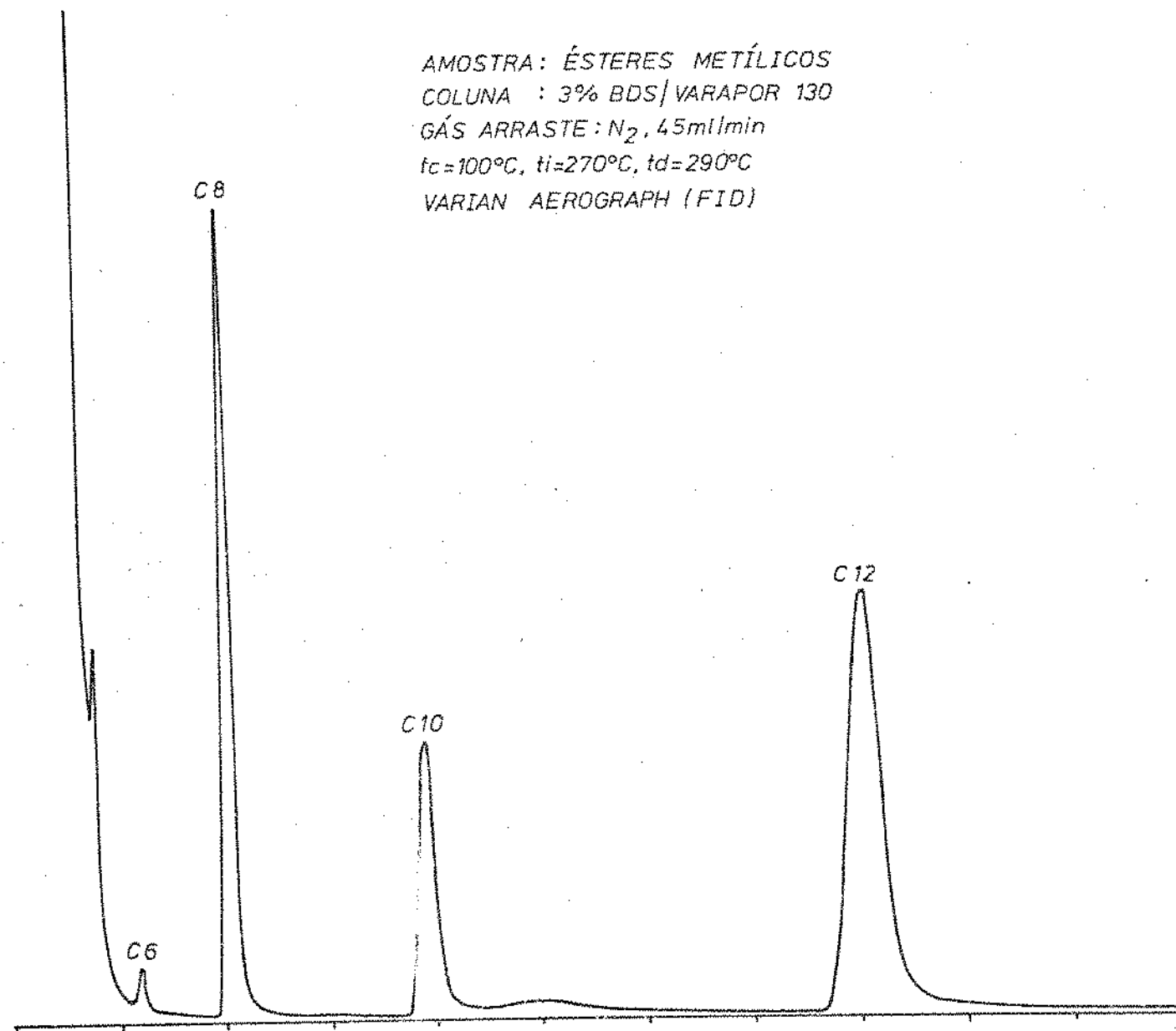


Fig. 8 Cromatograma dos ésteres metílicos dos ácidos graxos do TCM obtido na planta piloto

AMOSTRA : ÉSTERES METÍLICOS
COLUNA : DEGS/CHROMOSSORB-W
GÁS ARRASTE N_2 , 30 ml/min
 $t_c = 105^\circ C$, t_i e $t_d = 250^\circ C$
PERKIN-ELMER (FID)

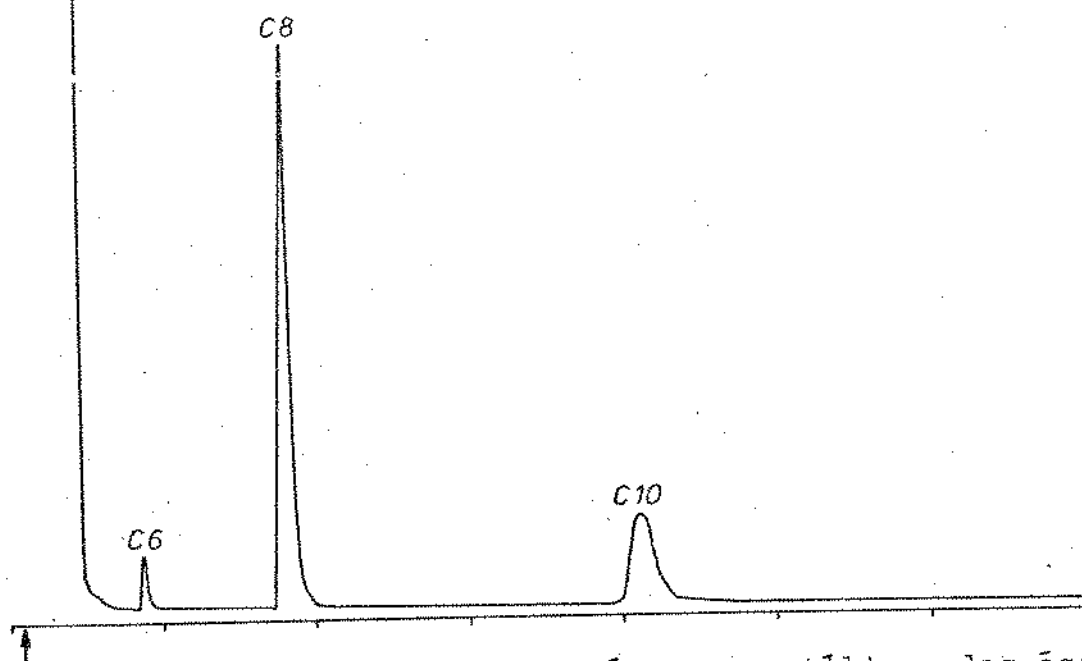


FIGURA 9 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos ácidos graxos do TCM II obtido na planta piloto.

Ensaio Biológicos com Animais

Resultados dos ensaios *in vivo*

As determinações com os ratos de laboratório in cluíram os seguintes itens:

- pesos iniciais, finais, peso do fígado e sobrevivência dos animais, no ensaio preliminar, mantidos em dietas sintéticas com adição de 20% de óleo de milho e 20% de TCM I - Tabela VIII (página 71).
- pesos, sua variação, consumo e eficiência das dietas durante o experimento - Tabela IX (página 72).
- quantidade média dos lipídios ingeridos e excretados, pelos ratos, durante o experimento - Tabela X (página 73).
- análises do plasma e fígado - Tabela XI (página 74).
- composição dos ácidos graxos presentes nas fezes dos ratos experimentais - Tabela XII (página 75) e figuras 10. e 11 (páginas 76 e 77).

TABELA VIII - Dados do ensaio preliminar com ratos mantidos em dieta sintética com
adição de 20% de Óleo de milho e de 20% de TCM I, respectivamente

Dietas	nº de animais	Média dos pesos (g)			peso médio (g)	Duração da experiência (semanas)	Sobrevivência
		Inicial	Final	Ganho (g)			
OM 20%	6	137,2±10,6	167,0±8,6*	35,0	6,1±0,4	4	Total
TCM I 20%	6	136,4±10,1	166,2±15,5*	31,5	6,8±1,3	4	Total

* Nível de significância de 5% (Teste de F de Snedecor)

ELA IX - Pesos dos ratos, sua variação, consumo e eficiência das dietas durante o experimento

Parâmetros	Dietas				
	OM8% ^a	TCMI8%	OM20%	TCMI20%	nº 49 ^b
<u>Peso dos ratos (g)</u>					
inicial	221,5±14,7	215,1±18,2	160,0±15,8	162,0±18,8	159,0±46,0
1ª semana	219,3±23,1	205,0±15,5	171,3±11,6*	171,3±11,6*	168,8±47,0
2ª semana	223,6±10,3	207,3±25,9	176,0±18,8*	176,2±19,4*	178,2±53,9*
3ª semana	234,3±15,5	213,4±23,6	184,3±19,4**	184,5±11,7**	181,5±52,0*
<u>Variação de peso g/rato/dia</u>					
1ª semana	-0,31	-1,44	1,61	1,32	1,40
2ª semana	0,15	0,55	1,14	1,01	1,37
3ª semana	0,61	0,08	1,16	1,07	1,07
<u>Consumo diário de dietas (g)</u>					
1ª semana	11,2	11,9	12,6	11,6	16,4
2ª semana	15,7	14,4	12,8	12,0	19,7
3ª semana	12,4	11,9	11,6	10,8	16,3
<u>Eficiência da dieta^c</u>					
1ª semana	-2,7	-12,0	12,7	11,3	8,4
2ª semana	0,9	-3,8	8,9	8,4	6,9
3ª semana	4,9	-0,6	10,0	9,9	6,5

OM = Óleo de milho (ver Tabela II página 54)

nº 49 = dieta comercial para animais (ver Apêndice 2)

Teste de F de Snedecor = nível de significância de 5%

Teste de F de Snedecor = nível de significância de 1%

$$\text{Eficiência da dieta} = \frac{\text{variação de peso (g)}}{\text{consumo dieta (g)}} \times 100$$

TABELA X - Quantidade média de lipídios ingeridos e excretados pelos ratos experimentais

Dietas	Dosagens nas fezes											
	Quantidade média diária de li-			Lipídios totais (%)			Ácidos graxos (%)			Insaponificáveis		
	pídios totais (g)			semanas			semanas			semanas		
	Ingeridos	Excretados	Absorção (%)	1a.	2a.	3a.	1a.	2a.	3a.	1a.	2a.	3a.
OM 8% ^a	1,05	0,03	96,6	5,5	7,3	5,2	3,9	4,9	3,5	1,6	2,4	1,7
TCM 8%	1,02	0,03	97,4	4,8	5,4	2,4	3,7	4,1	1,8	1,1	1,3	0,6
OM 20%	2,46	0,14	94,4	16,9	18,7	22,1	12,4	14,5	17,9	4,5	4,2	4,2
TCM 20%	2,27	0,07	96,7	11,6	11,7	15,6	10,1	9,9	12,8	1,5	1,8	2,8
nº 49 ^b	0,61	0,19	68,8	4,7	4,1	3,4	3,3	2,8	2,3	1,4	1,3	1,1

^a OM = Óleo de milho (ver Tabela II página 54)

^b nº 49 = dieta comercial para animais (ver Apêndice 2)

TABELA XI - Resultados das análises do plasma e fígado dos ratos experimentais

Dosagens											
Dietas	Plasma						Fígado				
	Lipídios totais		Colesterol		Fósforo		Lipídios totais		Colesterol		média de peso e desvio padrão
	mg/100 ml		mg/100 ml		mg/100 ml		mg/g		mg/100 ml		
	semanas		semanas		semanas		semanas		semanas		
	2a.	3a.	2a.	3a.	2a.	3a.	2a.	3a.	2a.	3a.	(g)
M 8%	200	200	76	71	14,9	13,5	17,8	26,4	13,3	14,6	7,2±0,8
CM 8%	164	127	53	58	14,9	17,6	42,0	20,0	14,3	11,7	6,7±0,8
M 20%	180	255	62	75	17,3	18,3	14,8	27,0	17,1	16,7	6,6±1,2
CM 20%	170	236	76	83	20,3	24,3	39,5	23,0	16,2	14,0	6,8±1,2
Q 49	111	127	43	46	17,6	18,3	18,0	16,0	15,4	13,4	4,6±1,9

TABELA XII - Composição dos ácidos graxos presentes nas fezes dos ratos experimentais

Dietas	Ácidos graxos (%)													
	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₃ iso	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅ iso	C ₁₅	C ₁₆ iso	C ₁₆	C ₁₇	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}
OM 8%	-	0,3	0,9	0,1	0,8	1,9	12,3	8,2	1,3	31,6	2,7	19,0	18,1	2,8
TCM 8%	1,7	0,2	7,3	-	1,7	3,4	23,0	8,1	-	26,4	-	11,8	14,8	1,6
OM 20%	-	-	0,3	-	-	0,3	1,1	1,2	-	41,8	-	34,5	17,4	3,4
TCM 20%	2,5	0,2	26,5	-	-	8,1	6,8	3,2	-	25,7	-	13,7	10,6	2,7
nº 49	1,4	0,5	2,1	1,3	0,9	4,1	5,4	5,8	-	25,8	-	5,5	21,6	25,6

AMOSTRA: ÉSTERES METÍLICOS
COLUNA: 10% FFAP/CHROMOSSORB-W
GÁS ARRASTE: N₂, 30ml/min
tc=190°C, ti e td= 250°C
PERKIN-ELMER (FID)

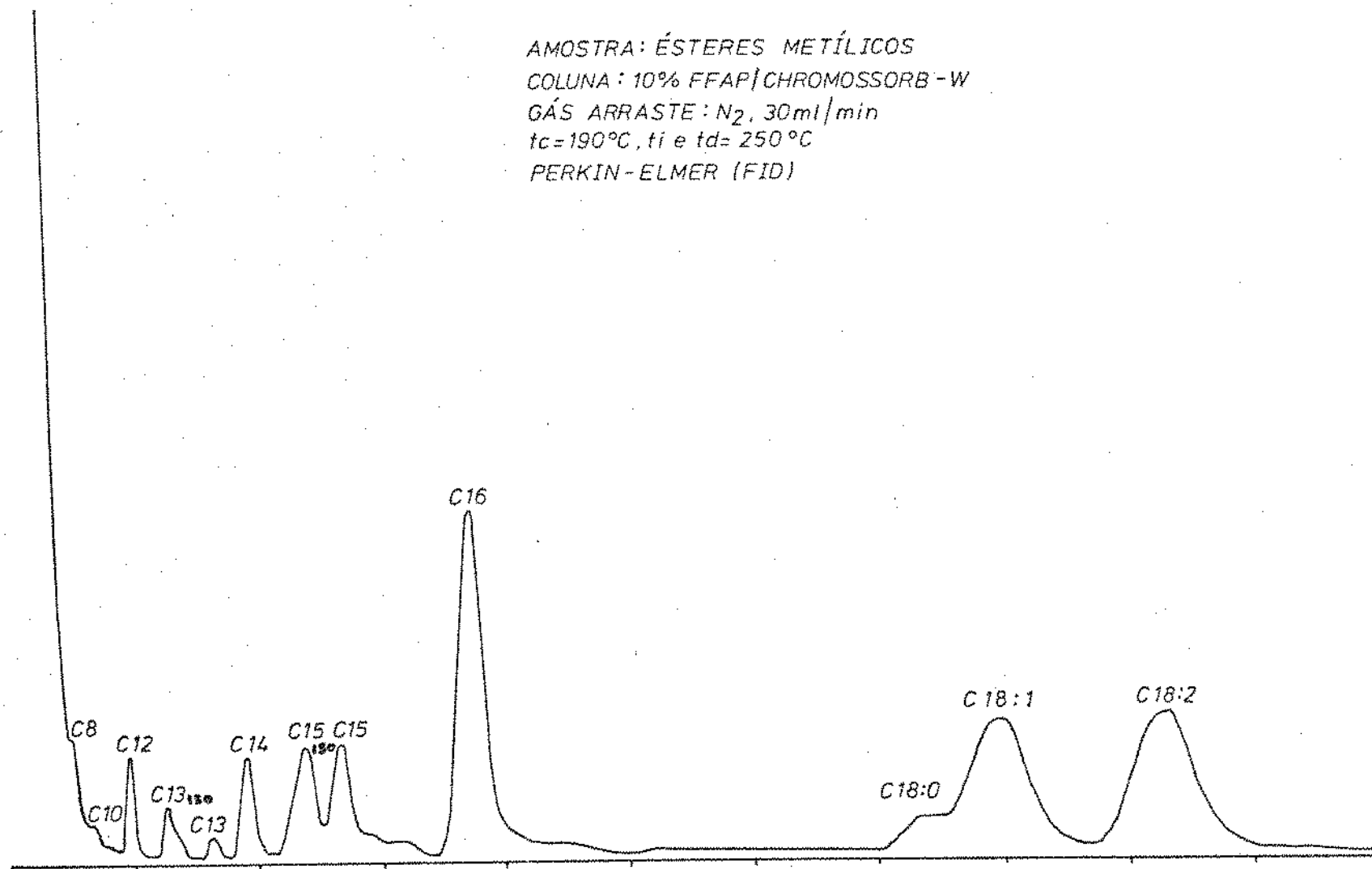


FIGURA 10 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos lipídios fecais dos ratos com dieta n949

AMOSTRA : ÉSTERES METÍLICOS
COLUNA 10% FFAP/CHROMOSSORB - W
GÁS ARRASTE : N₂, 30ml/min
t_c = 190°C, t_i e t_d = 250°C
PERKIN-ELMER (FID)

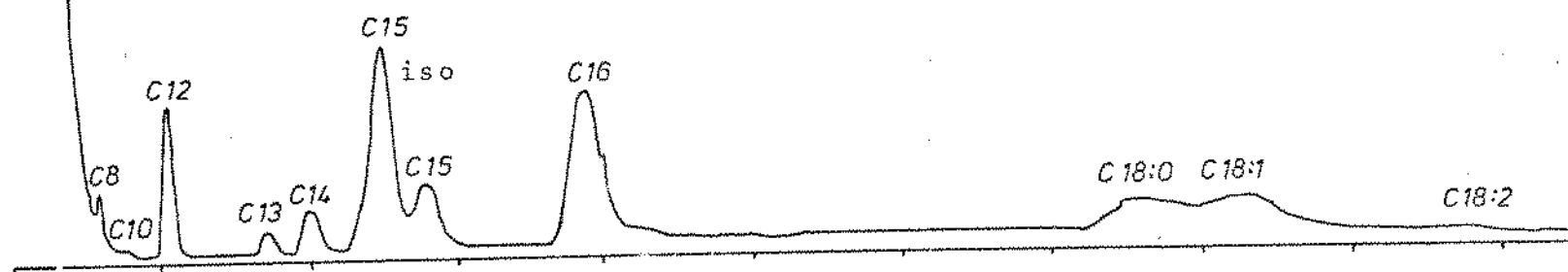


FIGURA 11 - Cromatograma dos ésteres metílicos dos lipídios fecais dos ratos com
dieta contendo 8% TCM.

Resultados dos ensaios *in vitro*

Os resultados da hidrólise de vários substratos, tais como: Captex, TCM II, óleo de milho, mistura de óleo de milho (30%) e TCM II (70%) e TCML, incubados com fragmentos de intestino delgado de rato a 37 °C, durante 2 horas, foram apresentados em µeq de ácidos graxos liberados, e destes valores, foram calculadas as atividades específicas na forma de m µeq de ácidos graxos por minuto e por miligrama de proteína solúvel. Estes dados, acrescidos aos do Índice de Iodo dos ácidos graxos liberados, aparecem na Tabela XIII:

TABELA XIII Ensaios *in vitro* dos diferentes substratos incubados com fragmentos de intestino de rato, a 37 °C, durante 2 horas

Parâmetros	Substratos ^a				
	Captex	TCM II	Óleo de milho	Mistura 30%OM+70%TCMII	"TCML"
µeq de ácidos ^b graxos liberados em duas horas	440	445	17	218	374
Atividade específica m µeq/min/mg de proteína	13,1	13,3	0,5	6,5	11,2
Índice de iodo dos ácidos graxos liberados (gI ₂ /100g)	3,8	1,2	77,8	8,0	11,9

^aCaptex = TCM importado; TCM II = TCM planta piloto (carga II); OM = óleo de milho; "TCML" = triacilgliceróis de cadeias médias e longas

^bValores obtidos depois de descontar os resultados dos ensaios em branco.

Ensaio Biológicos com Pessoas

Indivíduo normal

Os resultados da análise das fezes de um indivíduo normal, submetido, durante o período de uma semana, a cada uma das dietas propostas aparecem na Tabela XIV (página 80).

Pacientes

- Na Tabela XV (página 81) aparecem os resultados das análises de fezes dos pacientes, com fibrose cística do pâncreas, antes e depois da inclusão de TCM I em suas dietas.
- Como exposto na seção de Métodos (página 59) um paciente, após cirurgia gástrica (câncer), foi mantido em dieta enteral (sonda duodenal) contendo 116,9 g de lipídios, dos quais 100 g corresponderam ao TCM I - Tabela XVI (página 82).
- Os resultados da aplicação de TCML e mistura de - TCM II 70% e Óleo de milho 30% - aos pacientes com síndrome de má absorção lipídica, estão mostrados na Tabela XVII (página 83).

TABELA XIV - Análise das fezes do indivíduo normal submetido às diferentes dietas por períodos de 1 semana cada.

	Dosagem dos Lipídios nas Fezes						% de absorção
	Lipídios totais		Ácidos graxos		Insaponificáveis		
	%	g/dia	%	g/dia	%	g/dia	
Padrão	2,1	4,2	1,3	2,6	0,8	1,6	95,8
Comum	3,0	2,7	2,2	1,9	0,8	0,8	97,3
Comum + TCM	2,1	1,8	1,3	1,1	0,8	0,7	98,2
Comum + OM	3,6	2,4	2,4	1,6	1,2	0,8	97,6

Padrão = dieta com 100 g de gordura

Comum = dieta normal

Comum + TCM = dieta normal + 50 g de TCM I

Comum + OM = dieta normal + 50 g de óleo de milho

TABELA XV - Análises das fezes de pacientes com fibrose cística do pâncreas antes e depois da administração de TCM II.

Paciente	Dieta	µeq A.G. 100 g de fezes	Lipídios totais %	Ácidos graxos %	Peso molecular dos ácidos graxos (calculado)
1	Convencional	30,5	9,1	8,3	274
	TCM	13,5	4,1	3,4	252
2	Convencional	35,7	9,7	9,3	261
	TCM	11,5	2,8	2,6	231
3	Convencional	35,3	10,7	10,0	284
	TCM	26,4	6,9	6,6	249

TABELA XVI - Análise das fezes do paciente, após cirurgia gástrica, mantido com dieta enteral por uma semana

Lipídios na dieta		Dosagem de lipídios nas fezes						
Tipo	Quantidade (g)	Lipídios totais %	g/dia	Ác.graxos %	g/dia	Insaponif. %	g/dia	Absorção %
TCM I	100	3,5	6,2	2,3	4,1	1,2	2,1	94,7
Óleo de milho	15							
Outros	1,9							
Total	116,9							

TABELA XVII - Análise dos lipídios fecais dos pacientes com fibrose cística do pâncreas e pancreatite crônica

Dietas	Lipídios totais				Ácidos graxos				Insaponificáveis				Índice de iodo	
	% g/dia		% g/dia		% g/dia		% g/dia		% g/dia		% g/dia		de iodo	
	A		B		A		B		A		B		A	B
Normal+TCM II	4,8	5,3	3,5	15,8	4,3	4,8	3,2	14,3	0,5	0,5	0,5	1,5	44,5	37,6
Normal+TCML	8,9	6,4	8,3	31,8	8,3	5,9	7,7	29,7	0,6	0,5	0,6	2,1	47,5	49,0
Normal+OM+TCM	-	-	7,4	28,4	-	-	7,0	26,6	-	-	0,4	1,8	-	49,6

Paciente A = criança com fibrose cística, dieta com pancreatina

Paciente B = adulto com pancreatite crônica, dieta sem pancreatina

Dieta normal = Paciente A - alimentação usual com adição de 10 g de TCM II e TCML, respectivamente
Paciente B - alimentação usual com adição de 76 g de TCM II TCML e mistura (OM 30% + TCM II 70%), respectivamente

Análise Sensorial

Os resultados das amostras de sorvete submetidas à equipe de provadores, para teste Pareado com Preferência, aparecem na Tabela XVIII e foram analisados estatisticamente, através do teste do χ^2 .

TABELA XVIII - Análise sensorial dos sorvetes preparados com TCM I e gordura hidrogenada, respectivamente

Julgamentos totais	Teste pareado			
	Diferença Julgamentos corretos	Preferência		
		A	B	Nenhuma
22	18**	11 ^{ns}	7	4

Amostra A - sorvete com TCM

Amostra B - sorvete com gordura hidrogenada

ns = não significativo

** = nível de significância de 1%

Os resultados obtidos pelo método da Magnitude com amostras de monoacilgliceróis de ácidos graxos com 8, 10 e 12 átomos de carbono, para detectar a intensidade de gosto amargo, estão apresentados nas Tabelas XIX e XX. Na primeira, constam valores médios aritméticos, para os quais aplicou-se o procedimento estatístico de análise de variância e teste de "t" (student) para determinar significância estatística entre duas médias.

Na Tabela XX constam as médias geométricas e as medianas, que são valores médios de 40 determinação (10 provadores e 4 repetições). Aplicou-se o procedimento estatístico de análise da variância e o teste de F (Snedecor) para determinar a significância dos dados. Foi constatado que a ordem ascendente e descendente não diferem significativamente.

A função de poder $S = k C^n$ foi obtida para os monoacilgliceróis C_8 e C_{10} (S - magnitude psicológica e C - magnitude física). Em coordenadas log - log essa relação é expressa pela equação $\log S = n \log C + \log k$, onde o expoente n e a intercepção k foram calculados pelo método dos mínimos quadrados (Tabela XXI).

TABELA XIX - Médias aritméticas e níveis de probabilidade dos testes sensoriais para diferentes concentrações de monoacilgliceróis com ácidos graxos de C_8 , C_{10} e C_{12} ^{a)}

Tratamentos Comparados (g%)	Médias aritméticas e níveis de probabilidade dos monoacilgli ceróis de					
	C_8	P	C_{10}	P	C_{12}	P
0,001x0,05	11,6x13,4	0,05	13,7x14,4	ns	11,7x11,8	ns
0,001x0,1	11,6x19,0	0,01	13,7x29,0	0,01	11,7x19,3	0,05
0,001x0,2	11,6x30,0	0,01	13,7x48,1	0,01	11,7x21,4	0,01
0,05 x0,1	13,4x19,0	0,01	14,4x29,0	0,01	11,8x19,3	0,05
0,05 x0,2	13,4x30,0	0,01	14,4x48,1	0,01	11,8x21,4	0,01
0,1 x0,2	19,0x30,0	0,01	29,0x48,1	0,01	19,3x21,4	ns

a) Médias de 40 determinações

Teste de Student

ns = não significativo

0,05 = nível de significância de 5%

0,01 = nível de significância de 1%

TABELA XX - Médias Geométricas e medianas usando o método da Magnitude para diferentes concentrações de monoacilgliceróis com ácidos graxos de C_8 , C_{10} e C_{12} ^{a)}

Concentrações de Monoacilgli- ceróis (g%).	Ordem de Apresentação					
	Ascendente		Descendente		Totais	
	Mg	Md	Mg	Md	Mg	Md
C_8						
0,001	11,40	10	11,25	10	10,89	10
0,05	11,55	10	13,75	10	11,38	10
0,1	17,60	20	18,40	20	17,13	20
0,2	30,16	30	27,85	25	27,33	20
C_{10}						
0,001	10,35	10	16,50	10	11,74	10
0,05	11,45	10	15,25	15	12,64	10
0,1	24,70	20	27,25	20	23,40	20
0,2	42,10	30	46,00	30	38,02	30
C_{12}						
0,001	10,90	10	13,50	10	10,92	10
0,05	10,04	10	12,27	10	10,61	10
0,1	17,35	20	16,97	20	15,42	20
0,2	18,45	20	18,75	25	16,62	30

a) Totais - Médias de 40 determinações
Ascendente e descendente - médias de 20 determinações.

MG - média geométrica

Md - mediana

TABELA XXI - Parâmetros da função de potência para gosto amargo em monoacilgliceróis com C_8 , C_{10} e C_{12} (horário da tarde).

Monoacilgliceróis	k	n	r
C_8	25,71	0,66	0,99
C_{10}	47,85	0,77	1,00
C_{12}	22,61	0,11	0,48

k - interceção

n - expoente

k e n foram calculados pelo método dos mínimos quadrados, utilizando-se os valores atribuídos para as concentrações 0,05, 0,1 e 0,2%.

r - valores obtidos para os coeficientes de correlação.

DISCUSSÃO

Preparo de TCM e "TCML"

Inicialmente tivemos a disposição uma fração leve de ácidos graxos de óleo de babaçu, produzida na área de Campinas-SP. Este material foi obtido por hidrólise e subsequente destilação dos ácidos graxos, sem fracionamento, e, portanto, continha alto teor de ácido láurico. Posteriormente, foi conseguido material, obtido pelo fracionamento destes ácidos, composto principalmente de ácidos de C_8 e C_{10} , com pequena quantidade de C_6 e traços de C_{12} .

Ensaaios preliminares no laboratório mostraram que a reesterificação destes ácidos com glicerol, sob as condições da Planta Piloto da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, isto é, temperatura máxima de 145°C e pressão absoluta de 120 torr, seria possível se fosse empregado ácido fosfórico como catalisador. FRANZKE *et al.* (7) recomendaram o uso de ácido fosforoso ou caprilato de zinco, como catalisadores mais eficientes, porém, o ácido fosforoso é um reagente relativamente caro, enquanto que o caprilato de zinco, necessitaria a subsequente remoção do Zn^{++} . Portanto, usou-se, como catalisador, ácido fosfórico, cuja eficiência foi provada nos ensaios de laboratório, e cuja presença residual, no produto acabado, não

traria efeitos negativos.

Em vista de que os ensaios com pacientes exigiram quantidades maiores do que as que podem ser obtidas em escala de laboratório, foram preparadas duas cargas denominadas TCM I e TCM II de acordo com o procedimento exposto nas Tabelas IV e V (páginas 64 e 65).

Uma parte das experiências, relatadas neste trabalho, foram efetuadas com o material proveniente da carga I, com alto conteúdo de ácido láurico (56,3%), que embora produzindo, em geral, resultados satisfatórios, não correspondeu a composição de TCM comercial. Portanto, tendo em vista o interesse demonstrado por parte de médicos e de algumas indústrias, preparou-se a carga II (TCM II) com composição equivalente às amostras obtidas do exterior.

É óbvio que a produção industrial do TCM, no País, seria efetuada com equipamentos muito mais adequados, mas os princípios do processo seriam, provavelmente, análogos aos utilizados.

Ambas as cargas foram produzidas empregando-se quantidades de ácidos graxos, em excesso de 10%, sobre a quantidade estequiométrica, em relação ao glicerol, para reduzir o tempo de reesterificação e a quantidade de monoacilgliceróis, os quais são indesejáveis, como vai ser exposto posteriormente. Na prática industrial este excesso de ácidos graxos será natu -

ralmente removido antes da refinação, e utilizado no preparo da próxima carga.

A reesterificação da carga II foi acompanhada pelo notável escurecimento do produto, provavelmente, devido à prolongada reação dos ácidos graxos leves com glicerol. Em virtude da falta de equipamento adequado, para a clarificação do produto com terras branqueadores, normalmente empregadas na refinação de óleos comestíveis, o branqueamento foi efetuado com adição de água oxigenada, em vista de se tratar, exclusivamente, de ácidos graxos saturados, o que produziu bons resultados, sem exercer efeitos indesejáveis sobre a qualidade e gosto.

As características dos produtos aparecem na Tabela V (página 65) e pode-se observar, que apesar das limitações decorrentes da planta piloto, conseguiu-se obter um produto com baixo conteúdo de ácidos graxos livres e de monoacilgliceróis, e de cor satisfatória.

Tendo em vista que uma dieta baseada no emprego do TCM, ainda que acompanhada de pequena adição de óleos vegetais, como o de milho, apresenta deficiências sob o ponto de vista nutricional, procedeu-se a preparação, em escala de laboratório, de um óleo com um teor de cerca de 30% de ácidos graxos de cadeia longa.

O uso de óleo "sintético" preparado por interesterificação de tricaprilina e azeite de oliva foi relatado por

Fernandes *et al.* (24) que demonstraram ter havido um bom desempenho deste produto.

Em nosso caso, o procedimento consistiu no preparo inicial, de uma mistura de mono, di e triacilgliceróis e de glicerol livre, por glicerólise do óleo de milho e, subsequente esterificação, com ácidos graxos leves, o que apresentaria vantagens sob o ponto de vista tecnológico e econômico.

As Tabelas VI e VII mostram o procedimento adotado e as características do produto denominado "TCML", para salientar seu conteúdo em ácidos graxos de cadeia média e longa.

Ensaaios com animais

Ensaaios *In Vivo*

Os ensaios com animais de laboratório precederam à aplicação de triacilgliceróis de cadeia média TCM I, TCM II e TCML aos pacientes, para comprovar que estes produtos não exercem efeitos tóxicos ou deletérios. Estes ensaios forneceram dados sobre o grau de absorção dos óleos testados, e possibilitaram a análise de órgãos, que seria impraticável em pacientes. Além disso, permitiram um rígido controle das condições e amostragem, nem sempre possível, no caso de seres humanos.

O ensaio preliminar conduzido com dois grupos de ratos Wistar (♀), mantidos, durante quatro semanas em dieta sintética, com adição de 20% de óleo de milho (20% OM) e 20% de TCM I, respectivamente, demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos, quanto a aumento de peso, peso do fígado e sobrevivência, como evidenciado na Tabela VIII (página 71).

Em seguida, procedeu-se o teste do desempenho do TCM I, usando-se cinco grupos de ratos Wistar ♀, compostos por nove ratos cada, mantidos em dieta sintética suplementada com diferentes níveis de óleo de milho e TCM I. Para comparação, usou-se dieta especial nº49 - para animais de laboratório.

Os resultados da Tabela IX, confirmaram aqueles do ensaio preliminar, quanto a variação do peso final dos vários grupos, embora houvesse um leve decréscimo do peso, no caso dos ratos alimentados com 8% de TCM. A sobrevivência foi total.

A Tabela X (página 73) demonstra que não houve grande diferença entre o grau de absorção do óleo de milho e TCM, mas sim, entre as dietas sintéticas e a dieta nº49, provavelmente devido a composição desta dieta. O mesmo se aplica à dosagem de colesterol e fósforo no plasma, e lipídios totais e colesterol, no fígado, como evidenciado na Tabela XI (página 74). A única diferença encontra-se nos níveis de lipídios to

tais no plasma dos ratos mantidos com 8% de óleo de milho e 8% de TCM I, ou seja 200 mg/100 ml e 127 mg/100 ml, respectivamente.

A composição dos ácidos graxos fecais, estabelecida por cromatografia gasosa, demonstrou, como esperado, a presença de apreciáveis quantidades dos ácidos graxos C_8 até C_{12} , ou seja 29,2%, em ratos alimentados com TCM I, especialmente no grupo com 20% deste óleo, como mostrado na Tabela XII (página 75).

De acordo com DEMARNE *et al.* (18), os lipídios fecais, de todos os cinco grupos, continham certa quantidade de ácidos graxos ímpares, ramificados ou ambos, as maiores quantidades sendo representadas pelos ácidos C_{15} iso e C_{15} . No grupo alimentado com TCM 8% a quantidade C_{15} iso apresentou 23,0% sendo assim, o segundo maior componente lipídico.

Ensaio *In Vitro*

O grau de hidrólise de vários substratos incubados com fragmentos de intestino delgado de rato (duodeno e jejuno) foi expressa em μ eq de ácidos graxos liberados e, também, na forma de atividade específica, para relacionar a hidrólise com a ação enzimática intestinal.

Como emulsificante, nesta experiência, usou-se saponina, de cujo emprego não se encontrou referência na literatura.

ra consultada, em quantidade de 0,5% em relação ao volume total do tampão. A sua utilização, em vez de emulsificantes usuais, tais como monoacilgliceróis, Tweens e produtos afins, foi para evitar que sua possível hidrólise interfira nos resultados. A Tabela XIII (página 78) demonstra que no caso de TCML, o grau de hidrólise foi praticamente igual àquele obtido com Captex e TCM II e, quase duas vezes maior, do que o grau de hidrólise obtido com mistura equivalente, de TCM II e óleo de milho. A atividade específica, relacionada ao grau de hidrólise, foi no caso do óleo de milho puro muito menor do que no caso de Captex e TCMII, ou seja 0,5, 13,1, e 13,3, respectivamente.

Ensaio com Pacientes

Para a aplicação de TCM em dietas humanas foi utilizada, em experiências iniciais, a carga I, tendo em vista de que a carga II foi obtida como mencionado, posteriormente. Esta administração foi possibilitada graças a colaboração da Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Apresentou, contudo, várias dificuldades considerando que a maioria dos pacientes tratados, não estava hospitalizada, e portanto, o controle da dieta trouxe problemas.

O desempenho do TCM empregado nas dietas foi avaliado, exclusivamente, por dosagem de lipídios nas fezes, efetuada conforme mencionado em Métodos (página 51).

Enquanto que os ensaios preliminares, empregando TCM foram realizados com animais, a aplicação em humanos, foi precedida de estudo em indivíduo normal, cuja única peculiaridade foi seu peso insolitamente baixo (40 kg a 1,58 m de altura). A pessoa, em questão, recebeu quatro tipos de dieta, e a percentagem de absorção, das gorduras administradas, aparece na Tabela XIV (página 80). Pode-se ver que a utilização de TCM, longe de apresentar qualquer problema, resultou em melhor índice de absorção. Com base neste resultado, não houve hesitação em aplicar nosso produto aos pacientes, com problemas de absorção de gorduras.

Dentre os pacientes testados, escolheram-se três indivíduos com fibrose cística do pâncreas, e os resultados das dietas aplicadas aparecem na Tabela XV (página 81). O ponto mais característico desta série de experimentos é o fato de que todos os três indivíduos (dois do sexo feminino e um do sexo masculino), que sofriam de esteatorrêia, apresentaram notável decréscimo no conteúdo de ácidos graxos de suas excretas. Além disso, os dados desta Tabela, demonstraram, que o método desenvolvido neste trabalho, permite determinar o peso molecular destes ácidos, e assim, tirar conclusões sobre a presença de ácidos graxos de peso molecular médio nas fezes.

As experiências com fragmentos de intestino de rato, *in vitro*, que apresentaram alta atividade específica a

respeito do "TCML", e muito menor, em relação a mistura de óleo de milho e TCM II, como mencionado na página , conduzi ram a testes para estudar o desempenho do "TCML" em dietas humanas. Este teste foi aplicado em dois pacientes e seus resultados aparecem na Tabela XVII (página 83). A ausência de dados para mistura de TCM II e óleo de milho, no caso da paciente A, se deve ao fato de que a criança não suportou quantidades adicionais deste óleo vegetal na dieta. A avaliação dos resultados baseou-se na percentagem de ácidos graxos nas fezes, na quantidade de ácidos graxos eliminados por dia, e no grau de insaturação dos ácidos graxos fecais. De acordo com estes dados houve diferença entre o desempenho do TCM comparado com aquele do TCML e mistura de TCM II e óleo de milho, mas muito pouca, entre TCML e a mistura mencionada.

A inclusão do "TCML" e da mistura de óleo de milho e TCM II na dieta, aumentou a porcentagem dos ácidos graxos nas fezes, e a quantidade total de ácidos graxos excretados por dia, comparado com TCM II. No caso da paciente B, a insaturação dos ácidos graxos excretados, correspondente a quantidade de ácidos graxos insaturados, nas fezes, foi praticamente igual para TCML e mistura de OM e TCM II e, significativamente maior, do que com a aplicação do TCM II. Isto comprova o fato de que experiências com uma espécie, *in vitro*, não justificam conclusões quanto ao comportamento de outras espécies, *in vivo*. Por

outro lado, os dados obtidos correspondem ao resultado de experiência realizada em dois pacientes, não hospitalizados, o que impediu um controle adequado. Uma vez que estes resultados não podem ser considerados como definitivos, experiências futuras, parecem indicadas para estabelecer o valor de "TCML" na dieta.

Análises Sensoriais

A análise sensorial de sorvetes preparados com TCM I e com gordura vegetal hidrogenada, respectivamente, de monstrou, que enquanto não houve dificuldade em distinguir os dois produtos, o teste de preferência não apresentou resultados estatisticamente significativos. Assim dos 22 julgamentos, 18 apontaram diferença, enquanto que 11 expressaram preferência pelo produto com TCM I, 7 foram em favor da amostra com gordura - hidrogenada e 4 não expressaram preferência alguma (Tabela XVIII página 84).

Comentários de alguns provadores em relação ao sabor dos sorvetes instigaram a condução de experiências, para testar o efeito da presença de monoacilgliceróis de ácidos graxos de C_8 a C_{12} , sobre a palatabilidade do produto. Os resultados destes testes apresentados nas Tabelas XIX, XX e XXI (páginas 86, 87 e 88) indicaram que existe maior percepção da presença de monoacilgliceróis de C_8 e C_{10} do que de C_{12} , o que está de acordo com o esperado.

Pode-se observar, na Tabela XX, que as médias geométricas, dos valores totais atribuídos às diferentes concentrações 0,05, 0,1 e 0,2, correspondem para C_8 a 1, 2 e 3 vezes o padrão, para C_{10} a 1, 2 e 4 vezes o padrão, enquanto que, para C_{12} a 1, 1,5 e 1,6 vezes o valor atribuído ao padrão.

Foi possível obter uma função de poder $S = K C^n$ para os monoacilgliceróis C_8 e C_{10} relacionando S , a magnitude psicológica e C , a magnitude física. Usando essa função obtiveram-se dados que aparecem na Tabela XXI e que confirmam os resultados da Tabela XX.

Em qualquer caso, a presença de monoacilgliceróis de ácidos graxos de peso molecular médio deve ser meticulosa_{mente} evitada, o que está de acordo com o trabalho de WIESKE e MENZ (85).

CONCLUSÕES

1. As experiências conduzidas na Planta Piloto da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola FEAA/UNICAMP, provaram a viabilidade de produzir um triacilglicerol com ácidos graxos de cadeia média (TCM), de razoável qualidade, ainda que sob condições um tanto precárias. Deste modo, não existiria dificuldade em preparar um produto igual aos importados, com uma aparelhagem mais adequada.
2. Ensaio biológicos com ratos não revelaram efeitos deletérios do TCM, possibilitando a substituição da gordura comum por este produto.
3. A aplicação de TCM aos pacientes portadores de síndromes de má absorção lipídica resultou, na maioria dos casos, em considerável melhora de sua condição.
4. Um óleo obtido por esterificação de monoacilgliceróis de óleo de milho com ácidos graxos de peso molecular médio, foi hidrolizado *in vitro* com fragmentos de duodeno e jejuno de ratos, com maior facilidade do que a mistura equivalente de óleo de milho e TCM. Isto não foi verificado no caso de pa

cientes, contudo devido aos poucos dados, tornam-se necessárias investigações adicionais.

5. A análise sensorial de sorvetes preparados com 10% de gordura hidrogenada e 10% de TCM I, respectivamente, demonstrou que há diferença detectável entre aqueles produtos apresentando, contudo, igual aceitabilidade.
6. Foi comprovada, através da análise sensorial, a necessidade de se evitar a presença, no TCM, de monoacilgliceróis dos ácidos C_8 e C_{10} que exibem um gosto amargo.

BIBLIOGRAFIA

1. CLÉMENT, J. 1976. Digestion et absorption des triglycérides alimentaires. J. Physiol. (PARIS) 72(2):137-70.
2. WANNMACHER, C.M.D. & DIAS, R.D. 1977. Bioquímica Fundamental - 4a. ed. Ed. KEOPS. Porto Alegre - R.S.
3. MONTGOMERY, R.; DRYER, R.L.; CONWAY, T.W. & SPECTOR, A. A. 1974. Biochemistry - a case oriented approach. C.V. Mosby Company Saint Louis.
4. SENIOR, J.R. 1968. Introductory remarks by the chairman. In: Medium-chain Triglycerides, p. 3-7. Ed. by J. R. Senior, University of Pennsylvania Press., Philadelphia.
5. BABAYAN, V.K. 1974. Early history and preparation of MCT. Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, Suppl. 17:1-8.
6. BABAYAN, V.K. 1968. Medium-chain triglycerides - their composition, preparation, and application. J. Amer. Oil Chemists' Soc. 45:23-25.
7. FRANZKE, C.; GRUNERT, K.S.; ZAPFF, G.; FRIEDRICH, U. & SCHLIEMANN, J. 1977. Preparation of medium-chain triglycerides. Lebensm. Ind. 24(2):64-8. In: Chem. Abs. 87, 66838g (1977).

8. SWERN, O. 1964. Composition and characteristics of individual fats and oils. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 3rd. ed., p. 176-180. Interscience Publ. Inc. N.Y.
9. FRANZKE, C. & KROLL, J. 1977. Studies on the glyceride structure of fats. 9. Composition of elm seed fat. NAHRUNG, 21(2):177-8.
10. WILHELMS, C. 1964. Babaçu - Riqueza inexplorada. Trad. por Tamara, R., Ed. pela CACEX - Banco do Brasil S/A. e Instituto Nacional de Óleos.
11. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1978. 39:383. IBGE. R.J.
12. KAUNITZ, H.; SLANETZ, C.A. & JOHNSON, R.E. 1958. Nutritional Properties of the Triglycerides of Saturated Fatty Acids of Medium Chain Length J. Amer. Oil Chemists' Soc. 35:10-13.
13. HERMUS, R.J.J. 1975. Experimental atherosclerosis in rabbits on diets with milk fat and different proteins. Agric. Res. Rep. 838. Wageningen Netherlands.
14. BLOOM, B.; CHAIKOFF, I.L. & REINHARDT, W.O. 1951. Intestinal lymph as pathway for transport of absorbed fatty acids of different chain lengths. Amer. J. Physiol. 166:451-455.

15. HARKINS, R.W. & SARETT, H.P. 1968. Nutritional Evaluation of Medium-Chain Triglycerides in the Rat. J. Amer. Oil Chemists' Soc. 45:26-30.
16. LEVEILLE, G.A.; PARDINI, R.S. & TILLOTSON, J. A. 1967. Influence of Medium-Chain Triglycerides on Lipid Metabolism in the Rat. Lipids 2(4):287-294.
17. MALMROS, H.; WIGAND, G. & FORSSMAN, L. 1964. Dietary fat in the genesis of atherosclerosis. In: Hermus, R.J.J. 1975. Agric. Res. Rep. 838. Wageningen Netherlands.
18. DEMARNE, Y.; SACQUET, E.; LECOURTIER, M.J. & FLANZY, J. 1979. Comparative study of endogenous fecal fatty acids in germ-free and conventional rats. Am. J. Clin. Nutr. 32:2027-2032.
19. BEVERIDGE, J. M.R.; CONNELL, W.T.; HAUST, H.L. & MAYER, G.A. 1959. Dietary cholesterol and plasma cholesterol levels in man. Can. J. Biochem. Physiol. 37:575. In: Hermus, R.J.J. 1975. Agric. Res. Rep. 838. Wageningen Netherlands.
20. KEYS, A.; ANDERSON, J.T. & GRANDE, F. 1965. Serum cholesterol response to changes in the diet: IV particular saturated fatty acids in the diet. Metabolism 14:776. In: Hermus, R.J.J. 1975. Agric. Res. Rep. 838 Wageningen Netherlands.

21. HEGSTED, D.M.; MCGANDY, R.B.; MYERS, M.I. & STARE, F.J. 1965.
Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol
in man. Am. J. Clin. Nutr. 17:281. In: Hermus, R.J.J.
1975 Agric. Res. Rep. 838. Wageningen Netherlands.
22. MCGANDY, R.B. HEGSTED, D.M. & MYERS, M.L. 1970. Use of
semisynthetic fats in determining effects of specific
dietary fatty acids on serum lipids in man. Am. J. Clin.
Nutr. 23:1288. In: Hermus, R.J.J. 1975. Agric. Res.
Rep. 838. Wageningen Netherlands.
23. FURMAN, R.H. 1968. Effects of medium chain length triglyceri
des on serum lipids. In: J.R. Senior (Ed): Medium
chain triglycerides. Univ. Pennsylvania Press, Philadel-
phia.
24. FERNANDES, J.; VAN de KAMER, J.H. & WEIJERS, H.A. 1955. The
absorption of fats studied in a child with chylothorax.
J. Clin. Invest. 34(7):1026-1036.
25. ELEWAUT, A.; WEERDT, G.A. & BARBIER, F. 1976. Physiopatho-
logy of fat digestion and absorption. Acta. Clin. Belg.
31(1):16-20.
26. BORGSTROM, B.; DAHLQUIST, A.; LUNDH, G. & SJÖVALL, J. 1957.
Studies of Intestinal Digestion in the Human. J. Clin.
Invest. 36:1521. In: Borgström, B. 1977. Digestion and
Absorption of Lipids. Int. Rev. Physiol. 12:305-23.

27. BORGSTRÖM, B. 1977. Digestion and Absorption of Lipids. Int. Rev. Physiol. 12:305-23.
28. VOLHARD, F. 1900. Über Resorption und Fettspaltung im Magen. München Med. Wschr., 47:141-146. In: Clément, J. 1976. Digestion and Absorption of dietary triglycerides J. Physiol. (Paris) 72(2)137-70.
29. COHEN, M.; MORGAN, R.G.H. & HOFMANN, A.F. 1974. Lipolytic activity of human gastric duodenal juice against medium and long chain triglycerides. Gastroenterology 60(1) 1-15.
30. HAMOSH, M.; KLAEVEMAN, H.L.; WOLF, R.O. & SCOW, R.O. 1975. Pharyngeal lipase and digestion of dietary triglycerides in man. J. Clin. Invest. 55:908. In: Borgström, B. 1977. Int. Rev. Physiol. 12:305-23.
31. BECKER, IDEL. 1978. - Nomenclatura Histológica da Língua Portuguesa. Ed. HAMBURG LTDA. S.P.
32. ENTRESSANGLES, B.; SAVARY, P.; CONSTANTIN, M.J. & DESNUELLE, P. 1964. Comportement *in vitro* et *in vivo* des Chaines Courtes Situeés en Position Interne das les Triglycérides. Biochim. Biophys. Acta, 84:140-148.
33. SERRERO, G.; NÉGREL, R. & AILHAUD, G. 1975. Characterization and partial purification of an intestinal lipase. Biochem. Biophys. Res. Comm. 65(1):89-99.

34. FERNANDEZ-LOPEZ, V.; SERRERO, G.; NÉGREL, R. & AILHAUD, G.
1976. Esterolytic activities of rat intestinal mucosa. 2.
Purification and properties of a glycerol-ester hydrolase.
Eur. J. Biochem. 71:259-270.
35. NÉGREL, R.; SERRERO, G.; AILHAUD, G.; REY, J.F. & DELMONT,
J. 1977. Glycerol- Ester Hydrolase from Human small in-
testine and its possible role in the degradation of neutral
lipids. Digestion 16:146-159.
36. BEST & TAYLOR'S - 1976. As bases Fisiológicas da Prática Mé-
dica. Ed. J. R. Brobeck - 9a. ed. Guanabara - Koogan.
S.A. R.J.
37. BORGSTRÖM, B. 1953. On the mechanism of the intestinal fat
absorption. V. The effect of bile diversion on fat ab-
sorption in the rat. Acta Med. Scand. 196:1-10. In:
Masoro, E.J. 1977. Lipids and lipid metabolism. Ann.
Rev. Physiol. 39:301-21.
38. WILSON, F.A.; SALLEE, V.L. & DIETSCHY, J. 1971. Unstirred
water layers in intestine: Rate determinant of fatty acid
absorption from micellar solution. Science 174:1031-33.
39. MASORO, E.J. 1977. Lipids and lipid metabolism. Ann. Rev.
Physiol. 39:301-21.

40. BORGSTRÖM, B. 1974. Bile salts - their physiological functions in the gastrointestinal tract. *Acta. Med. Scand.* 196:1-10. In: Masoro, E.J. 1977. Lipids and lipid metabolism. *Ann. Rev. Physiol.* 39:301-21.
41. SALLEE, V.L. & DIETSCHY, J.M. 1973. Determinants of intestinal mucosal uptake of short - and medium - chain fatty acids and alcohols. *J. Lipid Res.* 14:475-84.
42. MISHKIN, S.; YALOVSKY, M. & KESSLER, J.I. 1975. Uptake and compartmental distribution of fatty acid by rat small intestine *in vivo*. *Am. J. Physiol.* 228:1409-14.
43. OCKNER, R.K., PITTMAN, J.P. & YAGER, J.L. 1972. Differences in the intestinal absorption of saturated and insaturated long chain fatty acids. *Gastroenterology* 62:981-92.
44. BUENSOD, M. & FAVAGER, P. 1956. Observations sur la digestibilité des acides palmitique et stéarique et de leurs esteres glycériques chez le rat. *Helv. physiol. pharmacol. Acta*, 14,229-303.
45. BERNHARD, K. 1948. Zur Beeinflussung der Fetteresorption durch höhere gesättigte fette Säuren. *Helv. physiol. pharmacol. Acta.* 6:826-835. In: Clément, J. 1976. *J. Physiol.* 72(2):137-70.

46. FAVARGER, P. 1960. Absorption des lipides alimentaires. *Gastroenterologia* 2:4-27. In: Clément, J. 1976. *J. Physiol.* 72(2):137-70.
47. OSHIMA, Y. 1977. An Electron microscope study of the intestinal absorption of medium chain and long chain triglycerides in the rat. *Arch. histol. jap.* 40(2):153.
48. OSHIMA, Y. 1977. An Electron microscope study of the intestinal absorption of medium chain and long chain triglycerides in the rat. *Arch. histol. jap.* 40(2):153-169.
49. SENIOR, J.R. & ISSELBACHER, K.J. 1960. Activation of long chain fatty acids by rat-gut mucosa. *Biochim. biophys. acta.* 44:399-400. In: Oshima, Y. 1977. *Arch. histol. jap.* 40(2):153-169.
50. _____ & _____. 1962. Direct esterification of monoglyceride with palmityl coenzyme A by intestinal epithelial subcellular fractions. *J. Biol. Chem.* 237:1454-1459.
51. DAWSON, A.M. & ISSELBACHER, K.J. 1960. The esterification of palmitate - 1 - C₁₄ by homogenates of intestinal mucosa. *J. Clin. Invest.* 39:150-160.
52. SJÖSTRAND, F.S. & BORGSTRÖM, B. 1967. The lipid components of the smooth-surface membrane bounded vesicles of the columnar cells during fat absorption. *J. Ultrastr. Res.* 20:140-160. In: Oshima, Y. 1977. *Arch. hist. jap.* 40(2) 153-169.

53. GELB, A.M. & KESSLER, J.I. 1963. Effect of fatty acid structure on esterification by the small intestine *in vitro*. Amer. J. Physiol. 204:821-824.
54. GREENBERGER, N.J.; FRANKS, J.J & ISSELBACHER, K.J. 1965. Metabolism of 1-C₁₄ octanoic and 1-C₁₄ palmitic acid by rat intestinal slices. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120:468-472.
55. GREENBERGER, N.J.; RODGERS, J.B. & ISSELBACHER, K.J. 1966. Absorption of medium and long chain triglycerides: Factors influencing their hydrolysis and transport. J. Clin Invest. 45:217-227.
56. BRINDLEY, D.N. & HÜBSCHER, G. 1966. The effect of chain length on the activation and subsequent incorporation of fatty acids into glycerides by the small intestinal mucosa. Biochim. Biophys. Acta. 125:92-105.
57. MCKAY, D.G.; KAUNITZ, H.; CSAVOSSY, I & JOHNSON, R.E. 1967. Electron microscope studies of the absorption of lipids. II. Medium chain saturated triglycerides. Metabolism. 16:127-136. In: Oshima, Y. 1977. Arch. histol. jap. 40(2):153-169.
58. GANGL, A. 1975. Currents concepts of intestinal fat absorption. Leber Magen Darm. 5(6):265-8.
59. THÉODORE, C. & CERF, M. 1977. La phase entérocytaire de l'absorption des triglycérides - Gastroenterol. Clin. Biol. 1:369-376.

60. OCKNER, R.K.; MANNING, J.A.; POPPENHAUSEN, R.B. & HO, W.K.L.
1972. A binding protein for fatty acids in cytosol of
intestinal mucosa, liver, myocardium and other tissues.
Science 177:56-58.
61. OCKNER, R.K.; & MANNING, J.A. 1973. Intestinal fatty acid
binding protein (FABP): immunochemical quantitation and
effect of diet. *J. Clin. Invest.* 52:61a
62. SLEISENGER, M.H. 1977. Doenças da má absorção. Seção 3.
In: Beeson, P.B. & McDermott, W. *Tratado de Medicina In-
terna*. 14a. ed. Interamericana. R.J.
63. WANNMACHER, C.M.D.; DIAS, R.D. & PERRY, M.L.S. 1978. Bio-
química médica. Ed. KEOPS. Porto Alegre - R.S.
64. FANCONI, G.; LIEHLINGER, E. & KNAVER, C. 1936. *Wien. med.
Wschr.* 86:753. In: Kuo, P.K. & Huang, N.N. 1965. The
effect of medium chain triglyceride upon fat absorption
and plasma lipid and depot fat of children with cystic
fibrosis of the pancreas. *J. Clin. Invest.* 44(11):1924-
1933.
65. ANDERSEN, D.H. 1938. Cystic fibrosis of the pancreas and
its relation to celiac disease. A clinical and pathological
study. *Amer. J. Dis. Child.* 56:344. In: Kuo, P.K. &
Huang, N.N. 1965. *J. Clin. Invest.* 44(11).1924-1933.

66. HASHIM, S.A.; ROHOLT, H.B. & VAN ITALLIE, T.B. 1962. Pancreatogenous steatorrhea treated with medium chain triglyceride. Clin. Res. 10:394. In: Kuo, P.K. & Huang, N.N. 1965. J. Clin. Invest. 44(11):1924-1933.
67. IBER, F.L.; HARDOOW, E. & SANGREE, M.H. 1963. Use of eight and ten carbon fatty acids as neutral fat in the management of steatorrhea (abstract). Clin. Res. 11:185. In: Kuo, P.K. & Huang, N.N. 1965. J. Clin Invest. 44(11):1924-1933.
68. PINTER, K.G.; MCCracken, B.H.; LAMAR, Jr.C. & GOLDSMITH, G.A. 1964. Fat absorption studies in various forms of steatorrhea. Amer. J. Clin. Nutr. 15:293. In: Kuo, P.K. & Huang, N.N. 1965. J. Clin Invest. 44(11):1924-1933.
69. KUO, P.K. & HUANG, N.N. 1965. The effect of medium chain triglyceride upon fat absorption and plasma lipid and depot fat of children with cystic fibrosis of the pancreas. J. Clin. Invest. 44(1):1924-1933.
70. SCHMIDT, H. Clinica e terapia da insuficiência pancreática exócrina. Relatórios científicos. E. Merck, Darmstat. Merck. S.A. - R.J.
71. CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. 1954. Biochemistry. Philadelphia: Saunders.
72. BEST & TAYLOR'S. 1976. As bases fisiológicas da prática médica. Ed. J.R. Brobeck. 9a. ed. Guanabara KOOGAM. S.A. p.250

73. FERNANDES, J.; VAN de KAMER, J.H. & WEIJERS, H.A. 1962.
Differences in absorption of the various fatty acids studied
in child with steatorrhea. J. Clin. Invest. 41(3):488-494.
74. INABA, R. 1908. The determination of fat in the feces and
certain foods by means of the new method of Kumagawa Suto.
Biochem. Z. 8:348. In: Chem. Abs. 2:2594 (1908).
75. FOLIN, O. & WENTWORTH, A.H. 1910. Determination of fat and
fatty acids in feces. J. Biol. Chem. 7:421-426.
76. SAXON, G.J. 1914. Method for the determination of the total
fats of undried feces and other moist masses. J. Biol.
Chem. 17:99-102. In: Chem. Abs. 8:1799 (1914).
77. GEPHART, F.C. & CSONKA, F.A. 1914. Estimation of fat in
feces. Biol. Chem. 19:521-531. In: Chem. Abs. 9:329 (1915).
78. HOLT, L.E.; COURTNEY, A.M. & FALES, H.L. 1919. A method for
the determination of fat in dried feces and its distribu-
tion as soaps, free fatty acids and neutral fat. Am. J.
Dis. Children, 17:38-42. In: Chem. Abs. 13:965 (1919).
79. FOWWEATHER, F.S. 1926. Determination of the amount and de-
composition of fat in feces. Investigation of "wet" method
and comparation with "dry" method. Brit. J. Exptl. Pathol.
7:7-14. In: Chem. Abs. 11:1825 (1926).

80. VAN de KAMER, J.H.; BOKKEL HUININK, H. ten & WEYERS, H.A.
1949. Rapid method for the determination of fat in feces.
J. Biol. Chem. 177:347-355.
81. VAN de KAMER, J.H. 1953. Quantitative determination of the
saturated and unsaturated higher fatty acids in fecal fat.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5:30-36.
82. VAN de KAMER, J.H. 1958. Total fatty acids in stool. Stand.
Methods Clin. Chem. 2:34-39.
83. VAN ITALLIE, T.B. 1968. In: Medium-chain triglycerides, p.
259. Ed. by J.R. Senior. University of Pennsylvania Press,
Philadelphia.
84. Ministères de L'Agriculture, de L'Economie e des Finances, de
la Santé et de la Sécurité Sociale - France. Application
du décret du 24 janvier 1975 sur les produits diététiques
et les régimes. J. Off. 18 sept. 1977, p. 5964-5971.
85. WIESKE, Von Th. & MENZ, H.U. 1972. Mittelkettige Triglyce-
rides als Fettbasis für Margarine. Fette - Seifen - Ans-
trichmittel. 74:133-136.
86. GREENBERGER, N.H. & SKILLMAN, T.G. 1969. Medium-Chain tri-
glycerides. New Eng. J. Med. 280:1045-1058.
87. TANTIBHEDHYANGKUL. P. & HASHIM, S. 1975. Medium-chain Tri-
glycerides feeding in premature infants: Effects on fat
an nitrogen absorption. Pediatrics 55(3)359-370.

88. TRIOSORBON MCT PFRIMMER - 1978 - Published by the Scientific Division of Pfrimmer + CoErlangen GmbH and BDH Pharmaceuticals Ltd. November: 1-15.
89. PORTAGEM-MEAD JOHNSON and Company. In: Medium-chain triglycerides. 1968. p.278. Ed. by J. R. Senior. University of Pennsylvania Press, Philadelphia.
90. HOLT, P.R. 1967. Medium chain triglycerides: useful adjunct in nutritional therapy. Gastroenterology 53:961-966.
91. OSMOLITE - Publ. Ross Laboratories - Division of Abbott Laboratories Columbus, Ohio, USA.
92. WEBSTER, S.P.G.; WILKINSON, E.M. & GOWLAND, F. 1977. A comparison of fat absorption in young and old subjects. Age Ageing 6(12):113-7.
93. SAILER, D. & BERG, G. 1977. Use of parentally applied fat emulsion containing MCT. Fette, Seifen, Anstrichm. 79(4):143-6 (Ger). In: Chem. Abs. 87:51995g (1977).
94. GALLO-TORRES, H.E.; LUDORF, J. & BRIN, M. 1978. The effect of medium-chain triglycerides on the bioavailability of vitamin E. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 48(3):240-9. In: Chem. Abs. 90:4974b (1979).

95. ECKERT, T. & KEMPER, F.H. 1977. Solid and liquid solutions of pharmaceuticals for oral applications. Ger. Offen. 2(700):765. In: Chem. Abs. 89:135864t (1978).
96. THISTLE, J.L.; CARLSON, G.L.; HOFMANN, A.F. & BABAYAN, V.K. 1977. Medium chain glycerides rapidly dissolve cholesterol gallstones *in vitro*. Gastroenterology. 72:1141.
97. MACK, E.A.; SAITO, C.; GOLDFARB, S.; CRUMMY, A.B.; THISTLE, J.L.; CARLSON, G.L.; BABAYAN, V.K. & HOFMANN, A.L. 1978. A new agent for gallstone dissolution: Experimental and clinical evaluation. Surgical Forum - XXIX:438-439 - Chapter. Liver, Biliary Tract and Pancreas. Sixty-Fourth Annual Clinical Congress American College of Surgeons. San Francisco.
98. HARTMAN, L. 1960. Preparation of α -monoglycerides by a modified isopropylideneglycerol method. Chem. & Ind.: 711-712.
99. Free Fatty Acids, Fats and Oils. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society. 3rd. ed., including additions and revisions - 1977. Amer. Oil Chemists' Soc. 508, South Sixth Street, Champaign, Illinois. Method AOCS Cd 5a--40.
100. Saponification Value. Ibid. Method AOCS Cd 3 - 25.

101. Iodine Value (Wijs). Ibid. Method AOCS Ca 1 - 25.
102. Color. Ibid. Method AOCS Cc 13b - 45.
103. HARTMAN, L. & ESTEVES, W. 1976. Determination of monoglycerides in crude oils and fats. J. Amer. Oil Chemists' Soc. 53(9):584-585.
104. HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Lab. Practice 22:475-476.
105. ZÖLLNER, N. & KIRSCH, Z. 1962. Z. ges. exp. med. 135:545.
IN: Rossi, A.L.A.; Strufaldi, B.; Nogueira, D.M. & Hoxter, G. - 1973. Práticas de Bioquímica Clínica - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP-SP.
106. LIEBERMANN - BURCHARD - Método Modificado - Dosagem de colesterol no soro. In: Rossi, A.L.R. *et al.* 1973. Práticas de Bioquímica Clínica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP-SP.
107. HARTMAN, L; ELIAS, M.C.; & ESTEVES; W. 1980. Method for the determination of phosphorus in lipids and lipid-containing materials. Analyst 105:173-176.
108. FOLCH., J.; LEES, M. & STANLEY SLOANE, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226(1):497-509.
109. GORNALL, A.A.; BARDAWILL, C.J. & DAVID, M.M. 1949. Determination of serum protein by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem., 177:751-766, 1949.

110. WARNER, R.G. 1962. Nutrient requirements of the laboratory rat. In NAS/NRC. Nutritional requirements of the laboratory rats. Washington, D.C., NAS/NRC, Publication 990:51-81
111. FRIEDMAN, M. 1975. Protein nutritional quantity of foods and feeds. Marcell Dekker. Inc. N.York 1:1
112. Association of Official Analytical Chemists. 1955, 1970 e 1975. Official methods of analysis. Proc. 43.183. Washington. D.C.
113. MORAES, M.A.C. 1978. Métodos para avaliação sensorial de alimentos. Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia - Campinas. SP.
114. MOSKOWITZ, H.R. 1971. The sweetness and pleasantness of sugars. American Journal of Psychology. 84(3):387-405.
115. _____, _____. 1977. Magnitude estimation: notes on what, how, when, and why to use it. Journal of Food Quality. 3:195-227.
116. STEVENS, S.S. 1960. The psychophysics of sensory function. American scientist 48:226-253.
117. STEVENS, S.S. 1969. Sensory scales of taste intensity. Perceptions & Psychophysics. 6(5):302-308.

ÍNDICE DE AUTORES

- ANDERSEN, D.H. 1938 - Ref. nº65.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL 1978 - Ref. nº11.
- BABAYAN, V.K. 1974 - Ref. nº5.
- BABAYAN, V.K. 1968 - Ref. nº6.
- BECKER, I. 1978 - Ref. nº31.
- BERNHARD, K. 1948 - Ref. nº45.
- BEST & TAYLOR'S 1975 - Ref. nº36 e nº72.
- BEVERIDGE, J.M.R. *et al.* 1959 - Ref. nº19.
- BLOOM, B. *et al.* 1951 - Ref. nº14.
- BORGSTRÖM, B. *et al.* 1957 - Ref. nº26.
- BORGSTRÖM, B. 1977 - Ref. nº27.
- BORGSTRÖM, B. 1953 - Ref. nº37.
- BORGSTRÖM, B. 1974 - Ref. nº40.
- BRINDLEY, D.N. & HÜBSCHER, G. 1966 - Ref. nº56.
- BUENSOD, M. & FAVARGER, P. 1956 - Ref. nº44.
- CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. 1954 - Ref. nº71.
- CLÉMENT, J. 1976 - Ref. nº1.
- COHEN, M. *et al.* 1974 - Ref. nº29.
- DAWSON, A.M. & ISSELBACHER, K.J. 1960 - Ref. nº51.
- DEMARNE, Y. *et al.* 1979 - Ref. nº18.
- ECKERT, T.T. & KEMPER, F.H. 1977 - Ref. nº95.

- ELEWAUT, A. *et al.* 1976 - Ref. n°25.
- ENTRESSANGLES, B. *et al.* 1964 - Ref. n°32.
- FANCONI, G. *et al.* 1936 - Ref. n°64.
- FAVARGER, P. 1960 - Ref. n°46.
- FERNANDES, J. *et al.* 1955 - Ref. n°24.
- FERNANDES, J. *et al.* 1962 - Ref. n°73.
- FERNANDEZ-LOPEZ, V. *et al.* 1976 - Ref. n°34.
- FOLCH, J. *et al.* 1957 - Ref. n°108.
- FOLIN, O. & WENTWORTH, A.H. 1910 - Ref. n°75.
- FOWWEATHER, F.S. 1926 - Ref. n°79.
- FRANZKE, C. *et al.* 1977 - Ref. n°7.
- FRANZKE, C. & KROLL, J. 1977 - Ref. n°9.
- FRIEDMAN, M. 1975 - Ref. n°111.
- FURMAN, R.H. 1963 - Ref. n°23.
- GALLO-TORRES, H.E. *et al.* 1978 - Ref. n°94.
- GANGL, A. 1975 - Ref. n°58.
- GELB, A.M. & KESSLER, J.I. 1963 - Ref. n°53.
- GEPHART, F.C. & CSONKA, F.A. 1914 - Ref. n°77.
- GORNALL, A.A. *et al.* 1949 - Ref. n°109.
- GREENBERGER, N.J. *et al.* 1965 - Ref. n°54.
- GREENBERGER, N.J. *et al.* 1966 - Ref. n°55.
- GREENBERGER, N.J. & SKILLMAN, T.G. 1969 - Ref. n°86.
- HAMOSH, M. *et al.* 1975 - Ref. n°30.
- HARKINS, R.W. & SARETT, H.P. 1968 - Ref. n°15.

- HARTMAN, L. 1960 - Ref. n°98.
- HARTMAN, L. & ESTEVES, W. 1976 - Ref. n°103.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. 1973 - Ref. n°104.
- HARTMAN, L. *et al.* 1980 - Ref. n°107.
- HASHIM, S.A. *et al.* 1962 - Ref. n°66.
- HEGSTED, D.M. *et al.* 1965 - Ref. n°21.
- HERMUS, R.J.J. 1975 - Ref. n°13.
- HOLT, L.E. *et al.* 1919 - Ref. n°78.
- HOLT, P.R. 1967 - Ref. n°90.
- IBER, F.L. *et al.* 1963 - Ref. n°67.
- INABA, R. 1908 - Ref. n°74.
- KAUNITZ, H. *et al.* 1958 - Ref. n°12.
- KEYES, A. *et al.* 1965 - Ref. n°20.
- KUO, P.K. & HUANG, N.N. 1965 - Ref. n°69.
- LEVEILLE, G.A. *et al.* 1967 - Ref. n°16.
- LIEBERMANN-BURCHARD - Ref. n°106.
- MACK, E.A. *et al.* 1978 - Ref. n°97.
- MALMROS, A. *et al.* 1964 - Ref. n°17.
- MASORO, E.J. 1977 - Ref. n°39.
- MCGANDY, R.B. *et al.* 1970 - Ref. n°22.
- MINISTÈRES Del'Agriculture, de l'Economie e des Finances, de la
Santé et la Sécurité Sociale-France 1977 - Ref. n°84.
- MISHKIN, S. *et al.* 1975 - Ref. n°42.
- MONTGOMERY, R. *et al.* 1977 - Ref. n°3

- MORAES, M.A.C. 1978 - Ref. n°113.
- MOSKOWITZ, H.R. 1971 - Ref. n°114.
- MOSKOWITZ, H.R. 1977 - Ref. n°115.
- NÉGREL, R. *et al.* 1977 - Ref. n°35.
- OCKNER, R.K. *et al.* 1972 - Ref. n°43.
- OCKNER, R.K. *et al.* 1972 - Ref. n°60.
- OCKNER, R.K. & MANNING, J.A. 1973 - Ref. n°61.
- OSHIMA, Y. 1977 - Ref. n°47 e 48.
- PINTER, K.G. *et al.* 1964 - Ref. n°68.
- SALLEE, V.L. & DIETSCHY, J.M. 1973 - Ref. n°41.
- SAILER, D. & BERG, G. 1977 - Ref. n°93.
- SAXON, G.J. 1914 - Ref. n°76.
- SCHMIDT, H. - Ref. n°70.
- SENIOR, J.R. 1968 - Ref. n°4.
- SENIOR, J.R. & ISSELBACHER, K.J. 1960 - Ref. n°49.
- SENIOR, J.R. & ISSELBACHER, K.J. 1962 - Ref. n°50.
- SERRERO, G. *et al.* 1975 - Ref. n°33.
- SJÖSTRAND, F.S. & BORGSTRÖM, B. 1967 - Ref. n°52.
- SLEISENGER, M.H. 1977 - Ref. n°62.
- STEVENS, S.S. 1960 - Ref. n°116.
- STEVENS, S.S. 1969 - Ref. n°117.
- SWERN, O. 1964 - Ref. n°8.
- TANTIBHEDHYANGKUL, P. & HASHIM, S.A. 1975 - Ref. n°87.
- THÉODORE, C. & CERF, M. 1977 - Ref. n°59.

- THISTLE, J.L. *et al.* 1977 - Ref. n°96.
- VAN de KAMER, J.H. *et al.* 1949 - Ref. n°80.
- VAN de KAMER, J.H. 1953 - Ref. n°81.
- VAN de KAMER, J.H. 1958 - Ref. n°82.
- VAN ITALLIE, T.B. 1968 - Ref. n°83.
- VOLHARD, F. 1900 - Ref. n°28.
- WANNMACHER, C.M.D. & DIAS, R.D. 1977 - Ref. n°3.
- WANNMACHER, C.M.D. *et al.* 1978 - Ref. n°63.
- WARNER, R.G. 1962 - Ref. n°110.
- WEBSTER, S.P.G. *et al.* 1977 - Ref. n°92.
- WIESKE, V.T. & MENZ, H.U. 1972 - Ref. n°85.
- WILHELMS, C. 1964 - Ref. n°10.
- WILSON, F.A. *et al.* - Ref. n°38.
- ZÖLLNER, N. & KIRSCH, Z. 1962 - Ref. n°105.

APÊNDICE Nº1

Determinação de Lipídios em Fezes Humanas Incluindo Ácidos Gra_u
xos e Glicerídios de Cadeia Média

W. Esteves L. Hartman

Leonor A. S. Soares

Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola

Adriana S. Pereira

Faculdade de Ciências Médicas

Universidade Estadual de Campinas, S.P., Brasil

Resumo

Um método de determinação de lipídios fecais é descrito, onde as fezes são saponificadas com hidróxido de potássio etanólico; o etanol é evaporado e o resíduo acidificado, extraído com hexana. Uma alíquota da solução de hexana é titulada com hidróxido de sódio etanólico, os solventes são evaporados e o resíduo, constituído de sabões e matéria insaponificável, é pesado. A matéria insaponificável é extraída com acetona e determinada gravimetricamente. O método permite, então, a

determinação em uma amostra de m-equivalentes de ácidos graxos, lipídios totais e ácidos graxos e é aplicável a fezes contendo ácidos graxos de cadeia média e seus glicerídeos. Resultados obtidos com o procedimento acima e comparados com aqueles produzidos pelo método padrão de VAN de KAMER são apresentados.

Introdução

O método de VAN de KAMER *et al.*¹, para a determinação de ácidos graxos fecais, tem sido usado por muitos anos e parece dar resultados satisfatórios para fezes normais. Contudo, surgem complicações quando a dieta inclui triglicerídeos (triacilgliceróis) de cadeia média (TCM) e SAUNDERS² questionou os resultados obtidos com o procedimento de VAN de KAMER no caso de tais dietas.

O próprio VAN de KAMER admitiu³ que os ácidos graxos com 6 e 8 carbonos não são dosados, quantitativamente, por seu método. Para superar os erros resultantes da maior solubilidade dos ácidos graxos de cadeia média, em etanol aquoso, utilizado no procedimento de VAN de KAMER quando comparado com aquele dos ácidos graxos de cadeia longa, várias modificações do método acima tem sido propostas^{4 5 6 7 8}. Entretanto, o estudo de relevantes publicações têm revelado um número de inconsistências e falsos conceitos discutidos na próxima seção.

Estas deficiências conduziram ao desenvolvimento de um outro procedimento registrado na presente comunicação.

Revisão dos Métodos Existentes

O método de VAN de KAMER *et al.*¹ consiste na saponificação de aproximadamente 5 g de fezes úmidas com hidróxido de potássio etanólico, acidificação com ácido clorídrico, extração com éter de petróleo, evaporação de uma alíquota da solução de éter de petróleo e titulação dos ácidos graxos com solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 N. A percentagem de ácidos graxos nas fezes é calculada pelo emprego do fator 284, correspondente ao peso molecular do ácido esteárico, ou ao fator 265, como posteriormente proposto por VAN de KAMER⁹.

A solubilidade parcial dos ácidos graxos de C_6 - C_{10} em etanol aquoso e a incerteza do fator a ser aplicado no caso das dietas contendo TCM, conduziu, como já foi mencionado, a um número de modificações.

Assim FRIEDNER e MOBERG⁴ acidificam com ácido clorídrico uma amostra de homogeneizado fezes-etanol, extraem a mistura exaustivamente com éter de petróleo e após, evaporando o solvente com lâmpada infravermelha, pesam o resíduo. Eles afirmam que uma recuperação quase teórica foi obtida quando usaram tripalmitina e TCM. Entretanto, via de regra os lipídi-

os fecais contêm proporções consideráveis de ácidos graxos $C_8 - C_{10}$ livres e, enquanto, a volatilidade dos triglicerídios de $C_8 - C_{10}$ é negligenciável, a dos ácidos graxos correspondente, é apreciável. A evaporação do solvente e a secagem do resíduo a temperaturas elevadas resultam, obrigatoriamente, em perda destes ácidos graxos e o princípio do método está, então, aberto a discussão.

Estimação gravimétrica das gorduras fecais foi também proposta por LEYLAND *et al.*⁵. As fezes homogeneizadas com água são saponificadas com hidróxido de potássio etanólico, e uma alíquota correspondente a 1 g de fezes, é acidificada com ácido clorídrico, extraída exaustivamente com éter de petróleo (240 ml), o solvente evaporado a temperatura ambiente, sob corrente de ar, e o resíduo é seco, durante a noite, em dissecador a vácuo. A perda dos ácidos é assim reduzida, mas não eliminada, o método consome tempo e a estimativa gravimétrica de uma quantidade de lipídios correspondente a 1 g de fezes apenas, provavelmente conduza a erros.

BRADDOCK *et al.*⁶ examinaram várias fontes de erro no procedimento de VAN de KAMER no caso de dietas normais e contendo TCM. De acordo com eles estes erros são devidos a presença de 20 - 25% de água no sistema, o que reduz a eficiência de saponificação, a incompleta extração dos ácidos graxos de $C_8 - C_{10}$, devido a sua solubilidade em etanol aquoso e a reten-

ção parcial dos ácidos graxos pelas partículas fecais. Eles sugeriram a redução da quantidade de água durante a saponificação e a remoção do etanol pela destilação fracionada antes da extração, a qual eliminaria, também, o efeito adverso das partículas fecais.

Os postulados de BRADDOCK *et al.* parecem válidos ainda que os sistemas modelo empregados por eles para demonstrarem os erros inerentes ao processo de VAN de KAMER não reproduzam as reais condições deste processo. Contudo, os resultados obtidos por eles com sua técnica modificada levantam sérias dúvidas. Empregando o método original de VAN de KAMER eles obtiveram 1.7 m-eq. de ácidos graxos por 100 g de fezes normais comparados com 6.6 m-eq. obtidos com sua modificação. Isto significaria que o método de VAN de KAMER respondia por meramente um quarto dos ácidos graxos nas fezes normais, o que é contrário às experiências acumuladas durante anos. Além disso, eles afirmam que seu procedimento modificado é aplicável para a análise de triacilgliceróis fecais com uma ampla faixa de peso molecular, mas não explicam como calcular a percentagem de ácidos graxos da titulação, quando seu peso molecular médio não é conhecido.

Recentemente alguns métodos espectrofotométricos ^{7, 8} têm sido propostos para a determinação de lipídios fecais totais. Parece, entretanto, que na presente forma eles não são adequados para a determinação do TCM pelas ra

zões já mencionadas e, também, devido a algumas circunstâncias adicionais. Assim, o método baseado na reação da sulfofosfovanilina⁸ determina somente os ácidos graxos insaturados, e não é portanto aplicável para ácidos graxos C_8 e C_{10} .

Um procedimento modificado do Método de VAN de KAMER aplicável ao TCM.

Considerações como as mencionadas anteriormente, propiciaram o desenvolvimento de um processo, onde os miliequivalentes dos ácidos graxos, lipídios fecais totais e percentagem dos ácidos graxos nas fezes são determinados em uma única amostra e que é aplicável ao TCM.

Materiais e procedimento

Materiais

Amostras de fezes de pessoas sadias e de pacientes portadores de desordens de má absorção foram obtidas de pacientes da Disciplina de Gastroenterologia da UNICAMP.

TCM produzido na planta piloto contendo 3,8 % de ácido C_6 , 68,9% de ácido C_8 e 27,3% de C_{10} , de acordo com a análise em cromatografia gasosa.

Óleo de milho refinado com as características

usuais, adquiridas no comércio, foi usado com propósitos comparativos.

Reagentes

Solução aquosa de hidróxido de potássio 50% m/m.

Solução de ácido clorídrico 25% m/m.

Etanol absoluto.

Solução etanólica de hidróxido de sódio 0,1 N.

Solução indicadora: 0,1 g de fenolftaleína em
200 ml de isopropanol neutralizado.

Hexana comercial, redistilada.

Acetona p.a..

Vidraria e aparelhos

Frascos erlenmeyer de 125 e 250 ml.

Pipetas de 25 e 50 ml.

Condensador de vidro.

Buretas de 10 e 25 ml.

Provetas de 10, 50 e 100 ml.

Placa de aquecimento.

Banho de água.

Estufa termostaticamente controlada, ou estufa a
vâcuo.

Trompa d'água.

Balanças analíticas e semianalíticas.

Procedimento

Coleta e homogeneização das fezes

Fezes coletadas preferencialmente durante 3 dias são estocadas em refrigerador a aproximadamente 2 °C, e bem misturadas, antes da análise.

Amostra

Aproximadamente 5,0 g de fezes são pesadas em frasco erlenmeyer de 250 ml, com precisão de 0,05 g.

Saponificação

5 ml de solução aquosa de KOH 50% e 40 ml de etanol absoluto são adicionados, com proveta, ao frasco, este é colocado em banho de água fervente, e ligado a uma trompa d'água, mas com livre acesso de ar. O etanol é destilado até que o resíduo esteja quase seco, o que requer cerca de 20 minutos.

Acidulação

O resíduo é diluído com 20 ml de água, seguida de adição de 18 ml de HCl 25%, em pequenas porções, com agitação e resfriamento.

Extração

50 ml de hexana redestilada são adicionados com pipeta, e após inserção de rolha de borracha, o frasco é bem agitado por 2 minutos. Caso a separação das fases seja lenta, o

frasco é acoplado a um condensador, e seu conteúdo refluxado por 1 a 2 minutos e resfriado.

Titulação

Cerca de 30 ml da fase clara superior, são decantados para proveta, e 25 ml são pipetados a um erlenmeyer de 125 ml, de paredes grossas, analiticamente pesado. Solução indicadora (5 ml) é adicionada com proveta e o conteúdo titulado, com solução etanólica de hidróxido de sódio 0,1N até leve viragem da fenolftaleína. Após anotar o volume da solução alcalina usada, são adicionadas mais algumas gotas.

Evaporação dos solventes e determinação dos lipídios totais

A maior parte dos solventes é evaporada sobre placa quente ou banho de água, e o resíduo, contendo sabões e matéria insaponificável, é seco até peso constante em estufa a 120 °C ou em estufa a vácuo a 100 °C. Alternativamente, o frasco pode ser conectado a uma trompa d'água, e aquecido em banho de água fervente até que peso constante seja obtido. O uso de vácuo reduz o tempo de secagem para cerca de 30 minutos.

Determinação da matéria insaponificável

Ao resíduo seco são adicionados 10 ml de acetona, o conteúdo é bem misturado, com bastão de vidro e filtrado - em papel de filtro, para erlenmeyer ou bequer pesado. O papel de

filtro é lavado com duas porções de 10 ml de acetona, o solvente evaporado em estufa a 120 °C ou a vácuo a 100 °C, e a matéria insaponificável pesada.

Cálculo

- a) A partir da titulação da solução hexana os miliequivalentes dos ácidos graxos fecais são calculados como segue:

$$\text{m-eq dos ácidos graxos / 100 g de fezes} = \frac{20A}{W}$$

onde,

A = ml de solução etanólica 0,1 N usada

W = peso das fezes em g usadas para análise

$$\text{b) \% de lipídios totais fecais} = 200 \frac{(r - 0,0022A - 0,0025)}{W}$$

onde,

r = peso do resíduo (sabões + matéria insaponificável) em g

W = peso das fezes em g

0,0022A e 0,0025 = correção para os conteúdos de sódio nos sabões e indicador fenolftaleína (A = ml de NaOH etanólico 0,1 N).

$$\text{c) \% dos ácidos graxos fecais} = 200 \frac{(r - \text{insap} - 0,0022A - 0,0025)}{W}$$

onde,

r = peso do resíduo como em b)

insap = peso da matéria insaponificável (g)

W = peso das fezes

0,0022A e 0,0025 = correção como em b)

Resultado e Discussão

O procedimento analítico descrito na seção precedente, foi testado pela determinação dos conteúdos lipídicos de amostras de fezes normais e comparação com os resultados obtidos com o método de VAN de KAMER como é mostrado na Tabela I, deste Apêndice (página 139).

Em concordância com o postulado de BRADDOCK *et al.*⁶, foi verificado que a redução da quantidade de água, e a remoção subsequente de etanol, eram benéficas. A Tabela II, deste Apêndice (página 140), mostra as recuperações obtidas com os procedimentos original e modificado quando quantidades conhecidas de óleo de milho e TCM foram adicionadas às fezes.

No procedimento modificado a quantidade de água é reduzida pelo emprego de 5 ml de solução aquosa de KOH 50% e etanol absoluto em vez de 10 ml de KOH 33% e etanol a 96% no método original.

A evaporação do etanol no procedimento modificado serve para dois propósitos: aumentar a concentração inicial de KOH (1,3 N) aproximadamente 5 vezes, promovendo assim, a saponificação da gordura fecal, e facilitar a extração quantitativa, com hexana, dos ácidos graxos liberados, incluindo ácidos

graxos de cadeia média. A evaporação simples do etanol em vez da morosa remoção pela destilação fracionada, como executado por BADDOCK *et al.*, é mais conveniente e provavelmente mais eficaz. A perda dos ácidos graxos, durante esta operação, é evitada devido a alta concentração e grande excesso de álcali presente.

A Tabela III mostra os resultados da análise de fezes de pacientes, com fibrose cística do pâncreas, mantidos em dietas convencionais e com TCM. Os resultados são expressos em três modos diferentes, como indicado no procedimento analítico, isto é, em miliequivalente de ácidos graxos, em porcentagem de lipídios totais e em porcentagens de ácidos graxos o que permite avaliar a reação dos pacientes às diferentes dietas.

Hexana comercial redestilada foi usada para extração de ácidos graxos, em vez de éter de petróleo como recomendado por VAN de KAMER, devido ao seu baixo custo e menor volatilidade, o que reduz a perda de solvente durante a extração e operações subsequentes.

O uso de hidróxido de sódio etanólico e de 5 ml de solução isopropanólica de fenolfataleína, como indicador, torna possível titulação unifásica dos ácidos graxos dissolvidos em hexana. Embora o indicador de azul de timol recomendado por VAN de KAMER seja mais sensível, resultados inteiramente satisfatórios foram obtidos com fenolfataleína. A conversão de áci

dos graxos em sabões evita sua perda durante a evaporação dos solventes e secagem, o que foi confirmado por teste levado a efeito com ácidos graxos de C_8 e C_{10} . A secagem de sabões a vácuo resulta em considerável economia de tempo. Na extração com acetona da matéria insaponificável do resíduo seco, aproveitase o fato de que os sabões são muito pouco solúveis neste solvente. Qualquer erro devido a esta pequena solubilidade é compensado pela retenção de pequena quantidade de matéria insaponificável nos sabões. Isto foi verificado pela extração com acetona de misturas conhecidas de sabões e colesterol.

A comparação entre o método original de VAN de KAMER e o modificado descrito no presente trabalho tem mostrado que o método original tende a subestimar o conteúdo lipídico das fezes normais enquanto sobrestima a quantidade de TCM adicionada às mesmas. Isto parece confirmar a opinião de CANCIO *et al.*¹⁰ de que os resultados obtidos com o método de VAN de KAMER são aproximadamente corretos devido ao cancelamento dos erros. A perda dos ácidos graxos de cadeia média durante a extração é compensada pelo fator de peso molecular empregado. O método não fornece, porém, indicação quanto a composição dos lipídios fecais, a qual é de interesse quando se aplicam dietas com TCM.

A modificação descrita neste trabalho, além de assegurar maior precisão, permite calcular o peso molecular médio

dio dos ácidos graxos fecais, a partir de seu peso e da quantidade de hidróxido de sódio usada na titulação (cf. Tabela III, deste Apêndice, na página 141). Este fornece indicação da presença dos ácidos graxos de cadeia média nas fezes. Além do mais, o método não é demorado nem laborioso e os reagentes e equipamentos necessários estão disponíveis, na maior parte dos laboratórios clínicos.

REFERÊNCIAS

- 1 - VAN de KAMER, J.H.; Ten BOKKEL HUININK, H.; WEYERS, H.A.
J. Biol. Chem. 1949, 177, 347.
- 2 - VAN de KAMER, J.H.; Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1953,
5, 30.
- 3 - SAUNDERS, D.R. Gastroenterology 1967, 52, 135.
- 4 - FRIEDNER, S.; MOBERG, S. Clin. Chim. Acta 1967, 18, 345.
- 5 - LEYLAND, F.C.; FOSBROOKE, A.S.; LLOYD, J.K.; SEGALL, M.M.;
TAMIR, I.; TOMKINS, R.; WOLFF, O.H. Arch. Dis. Child.
1969, 44, 170.
- 6 - BRADDOCK, L.I.; FLEISHER, D.R.; BARBERO, C.J. Gastroente-
rology 1968, 55, 165.
- 7 - FALES, F.W. Clin. Chem. 1971, 17, 1103.
- 8 - TOMASZEWSKI, L. Clin. Chim. Acta 1975, 61, 113.
- 9 - VAN de KAMER, J.H. Stand. Methods Clin. Chem. 1958, 2, 34.
- 10 - CANCIO, M.; TORRES DE RIVERA, W.; ANSEJO, C.F.; MENÉNDEZ
CORRADA, R. Bol. Assoc. Méd. P.R. 1969, 61, 114.

TABELA I - Análises de fezes normais

Quantidades 100 g de fezes	Amostra (a)		Amostra (b)	
	de KAMER	Método modificado	de KAMER	Método modificado
m-eq ácidos graxos	9,5	11,7	5,3	6,4
lipídios totais (g)	-	4,5	-	2,0
matéria insaponifi cável (g)	-	1,3	-	0,3
ácidos graxos (g)	2,8	3,2	1,5	1,7

TABELA II - Recuperações dos ácidos graxos de 0,5 g de óleo de milho (95,5% ácidos graxos) e 0,5 g de TCM (92,2% - de ácidos graxos), respectivamente, adicionados a 5g de amostras de fezes normais

Parâmetros	Óleo de milho		T C M	
	de KAMER	Método modificado	de KAMER	Método modificado
m-eq A.G./g de óleo adicionado	2,9	3,4	3,4	5,9
% de ácidos graxos encontrados	85,6	92,8	100,4	93,3
recuperação dos ácidos graxos %	89,6	97,1	103,9	101,2

TABELA III - Análises das fezes de pacientes com fibrose cística do pâncreas antes e depois da administração de TCM (procedimento modificaco)

Paciente	Dieta	m-eq A.G. 100 g de fezes	Lipídios Totais	Ácidos Graxos	Peso molecular dos ácidos graxos (calculado)
1	Convencional	30,5	9,1	8,3	274
	TCM	13,5	4,1	3,4	252
2	Convencional	35,7	9,7	9,3	261
	TCM	11,5	2,8	2,6	231
3	Convencional	35,3	10,7	10,0	284
	TCM	26,4	6,9	6,6	249

APÊNDICE Nº2

Composição da Ração granulada para animais de Laboratório nº 49 da Anderson Clayton S.A.

Níveis de garantia	%
Umidade (máxima)	12,00
Proteína bruta (mínimo)	23,00
Extrato etéreo (mínimo)	3,50
Matéria fibrosa (máximo)	10,00
Matéria mineral (máximo)	7,50
Cálcio (Ca) (máximo)	1,40
Fósforo (P) (mínimo)	0,70

Componentes:

Milho moído, farelos de soja tostados, de girassol, de trigo, farinhas de peixe, de carne, de sangue, de ossos, de ostras, carbonato de cálcio, bentonita.

Suplementos e aditivos mínimos por Kg:

Vitamina A - 1.200 U.I.; Vitamina D₃ - 300 U.I.; Vitamina E - 18 mg; Riboflavina - 4,50 mg; Vitamina K - 1,40 mg; Ácido pantotênico - 6,50 mg; Ácido nicotínico - 30,0 mg; Cobalto - 0,10 mg; Iodo - 0,25 mg; Cobre - 5,00 mg; Ferro - 19,00 mg; Zinco - 80,00 mg; Manganês - 40,00 mg.

APÊNDICE Nº3

Composição centesimal da mistura salina usada nas dietas para os ensaios biológicos*

Componentes	Percentagem
Molibdato de amônio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,003
Carbonato de cálcio CaCO_3	29,290
Fosfato de cálcio CaHPO_4	0,430
Sulfato cúprico CuSO_4	0,156
Citrato fêrrico $\text{Fe}^{+3} + (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O})_n$	0,620
Sulfato de magnésio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9,980
Sulfato de manganês $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,121
Iodeto de potássio KI	0,0005
Fosfato de potássio K_2HPO_4	34,310
Cloreto de sódio NaCl	25,060
Selenito de sódio Na_2SeO_3	0,002
Cloreto de zinco ZnCl_2	0,020

Fonte: ROGERS, Q.R. & HARPER, A.E. *J. Nutr.*, 87:267-273, 1965.

*Mistura preparada e gentilmente cedida pelo Laboratório de Bioquímica Nutricional do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da FEA-UNICAMP

APÊNDICE Nº4

Composição centesimal da mistura vitamínica utilizada nas dietas para os ensaios biológicos^{a)}

Componentes (mg) *	Composição da literatura		Composição preparada no laboratório
	Warner**	NBC***	
Vitamina A	10.000	90.000	90.000
Vitamina D	10.000	10.000	10.000
Biotina	0,5	2,0	2,0
Vitamina E	300,0	500,0	500,0
Vitamina K	0,5	225,0	150,0
Vitamina B6	6,0	100,0	50,0
Vitamina B12	0,025	0,135	0,1
Inositol	50,0	500,0	200,0
Niacina	75,0	450,0	200,0
Riboflavina	12,5	100,0	50,0
Cloridrato de tiamina	6,25	100,0	50,0
Ácido fólico	5,0	9,0	7,0
Pantotenato de cálcio	40,0	300,0	200,0
Ácido p-aminobenzóico	50,0	500,0	200,0
Cloridrato de colina	3.750,0	7.500,0	7.500,0
Ácido ascórbico	-	4.500,0	4.500,0
Etoxiquim	-	-	2.000,0
Dextrose, veículo p/100g	95.740,2	85.213,9	-
Sacarose e farinha de mandioca torrada (50%+50%), veículo p/100g	-	-	84.390,9

* Exceto para Vitaminas A e D, que estão em unidades internacionais (U.I.).

**WARNER, R.G. NAS/NRC, publication nº990, p.51-81, 1962.

***Nutritional Biochemicals Corporation, Diet Catalog da INC, Cleveland, Ohio, EUA, p. 24, 1977 e 1978.

a) Mistura preparada e gentilmente cedida pelo Laboratório de Bioquímica Nutricional do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da FEA-UNICAMP.

APÊNDICE Nº5

Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola,
Laboratório de Análise Sensorial.

Método de Diferença

Teste Pareado com Preferência

"MODELO DE FICHA"

Nome: _____ Data: _____

Por favor, prove cada par de amostras, independentemente, e diga se existe alguma diferença entre elas. Em seguida indique a sua preferência.

	Existe Diferença?		Preferência
	Sim	Não	
1a.	_____	_____	_____
2a.	_____	_____	_____
3a.	_____	_____	_____
4a.	_____	_____	_____

Observações: _____

APÊNDICE Nº6

Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola,
Laboratório de Análise Sensorial.

Método de Magnitude

"MODELO DE FICHA"

NOME: _____ DATA: _____

INSTRUÇÕES: Você vai receber uma série de cartões, cada um apresentando linha de diferentes comprimentos. Existe um comprimento tomado como padrão.

Olhando cada cartão registre a magnitude, indicando, quantas vezes o comprimento de cada linha contém o comprimento da linha do padrão. Você pode usar números 1, 2, 5, 10, 20, 50, etc. ou frações $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, etc., ou números e frações $2\frac{1}{2}$, $5\frac{1}{4}$, $20\frac{1}{5}$, etc.

Nº CARTÃO

COMPRIMENTO DA LINHA

