

U. PORTO



**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**AVALIAÇÃO DA RETENÇÃO DE ÁLCOOL EM REFEIÇÕES E
PRODUTOS ALIMENTARES INDUSTRIALIZADOS PREPARADOS
COM BEBIDAS ALCOÓLICAS**

Daniela de Bastos Mateus

Porto, 2009

Avaliação da retenção de álcool em refeições e produtos alimentares industrializados preparados com bebidas alcoólicas

Evaluation of alcohol retention in meals and industrialized food products prepared with alcoholic drinks

Tese de mestrado em Alimentação Colectiva

Daniela de Bastos Mateus

Para obtenção do grau de Mestre em Alimentação Colectiva

Sob orientação de:

Profª Doutora Olívia Maria de Castro Pinho

Faculdade de Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Co-orientação de:

Profª Doutora Isabel Maria Pinto Leite Viegas Oliveira Ferreira

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Alimentação Colectiva

Apresentada à Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Aos meus “mais que tudo”

AGRADECIMENTOS

É muito difícil chegar ao fim de uma etapa e ser justo nos louvores e agradecimentos a todos os a quanto tornaram possível, mas aqui vai uma tentativa:

Ao meu Deus por me fazer viver.

Ao meu marido por me ter incentivado, empurrado e patrocinado nesta aventura.

À minha filha por me fazer rir quando chegava a casa sem vontade de fazer nada, e à bebé que entretanto se quis juntar a nós. Obrigada a elas por me fazerem querer lutar e ser uma pessoa melhor.

Aos meus pais pelos valores e incentivos que me transmitiram.

Às minhas tias e irmã que tantas vezes me alimentaram e socorreram como *babysiters*. À Telma por ser “tia e irmã”.

Aos colegas do departamento de bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto por me terem acolhido e estarem sempre prontos para responder às minhas questões. À Catarina e ao Filipe por me terem “acudido na cozinha” na altura dos enjoos.

À Prof^a Doutora Isabel pelos conselhos, revisões, ajudas, e tempo dispensado neste projecto. Obrigada pelo trabalho que faz e pela maneira como afecta os outros.

Um agradecimento muito especial à Prof^a Olívia por me fazer sentir parte de um projecto; por me mostrar que pode haver entusiasmo, inter-ajuda e companheirismo na investigação; e porque com a sua disponibilidade e paciência me mostrou que as pessoas mais ocupadas são aquelas com quem mais podemos contar. A ela um muito obrigada e a mais sincera admiração.

RESUMO

Um vasto número de receitas usam bebidas alcoólicas como ingrediente na preparação de pratos principais, molhos e sobremesas. Apesar das bebidas alcoólicas trazerem alguns benefícios para a saúde, quando consumidas moderadamente, existe uma preocupação em relação à sua ingestão por parte das crianças, indivíduos sensíveis ao álcool e alcoólicos em recuperação, pois também são conhecidos os malefícios do álcool nestes grupos.

Neste trabalho quantificou-se o teor de etanol presente em refeições confeccionadas com bebidas alcoólicas (Caldeirada de peixe, Carne à Jardineira, Coelho à Caçador, Bifes Marinados Grelhados, Pêra Bêbeda e Mexidos do Norte), e em produtos alimentares industrializados que podem ser consumidos por crianças e jovens (Chipicao Delicia, Kinder Delice, Molho Whisky Cocktail); utilizando o método de HS-SPME-GC/MS. A fibra utilizada para o HS-SPME foi a CAR-PDMS e as condições de temperatura de equilíbrio do *headspace* e de exposição da fibra ao etanol foram optimizadas, seleccionando-se o tempo e temperatura de exposição e equilíbrio de 20min a 50°C; a toma da amostra variou entre 1,5-5g, dependendo do alimento, tendo em atenção o volume do *headspace*, que se manteve sempre constante (10ml) em todas as amostras.

Foi estudada a zona de linearidade do método em amostras de Caldeirada e Jardineira obtendo-se valores de concentrações entre 0,003-0,378g de etanol por 100g de alimento, com correlações >0,998 e RSD de 3,5%. O valor de LOD obtido foi de 0,001 g/100 g de alimento cozinhado e de LOQ 0,003 g/100 g de alimento cozinhado.

Os valores de etanol presentes nas refeições estudadas variaram entre 0,004-0,674g etanol/100g alimento. A avaliação sensorial efectuada a amostras de Coelho à caçador e mexidos, confeccionadas com diferentes adições de bebida alcoólica e com substitutos não alcoólicos dessas bebidas, indicou diferenças significativas ($p < 0,05$) em alguns atributos considerados para as amostras.

Palavras-Chave: SPME; refeições; vinho; etanol.

Abstract

A large number of recipes use alcohol as an ingredient in the preparation of main dishes, sauces and desserts. Although alcoholic beverages bring some health benefits when consumed in moderation, there is concern regarding their intake by children, individuals sensitive to alcohol and recovering alcoholics, as alcohol-related harm is known to affect these groups.

This work quantified the concentration of ethanol present in meals prepared with alcohol (Fish stew, Beef bib, Hunter Rabbit, Marinated Grilled Steak, Drunk pear and Scrambled North), and commercial food products that can be consumed by children and young people (Chipicao Delicia, Kinder Delice, Whiskey Cocktail Sauce), using the method of HS-SPME-GC/MS. The fiber used for the HS-SPME was the CAR-PDMS, and the conditions for the equilibrium temperature of the headspace and fiber exposure to ethanol were optimized by selecting the time and temperature of exposure and equilibrium of 20min at 50°C; the analyzed sample ranged from 1,5-5g, depending on the type of food, taking into account the volume of headspace, which has remained constant (10 ml) in all samples.

We studied the linear range of the method on samples of Fish stew and Beef bib, and we obtained values of concentrations between 0,003-0,378 g of ethanol/100g of food, with correlation coefficients $>0,998$ and RSD of 3,5%. The LOD value obtained was 0,001 g/100 g of cooked food and LOQ 0,003 g/100 g of cooked food.

The values of ethanol present in the meals studied ranged 0,004-0,674 g ethanol/100g food. The sensory evaluation carried out on samples of Hunter Rabbit and Scrambled North, made with different additions of alcohol and non-alcoholic substitutes of such beverages, indicated significant differences ($p<0,05$) in some attributes considered for the samples.

Key-words: SPME; meals; wine; ethanol.

Résumée

Un grand nombre de recettes utilise l'alcool comme ingrédient dans la préparation de plats principaux, les sauces et les desserts. Bien que les boissons alcoolisées apportent quelques avantages pour la santé lorsqu'il est consommé avec modération, on s'inquiète de leur consommation par les enfants, les personnes sensibles à l'alcool et les alcooliques dans la récupération, car sont également connus l'alcool dommages liés à ces groupes.

Ce travail a quantifié la concentration d'éthanol présente dans les plats préparés avec de l'alcool (ragoût de poisson, boeuf bib, le lapin chasseur, mariné et grillé Steak, poire ivre et Scrambled Nord), et les produits alimentaires du commerce qui peut être consommée par les enfants et les jeunes (Chipicao Delicia, Kinder Delice, sauce Whiskey cocktail); utilisant la méthode de HS-SPME-GC/MS. La fibre utilisée pour le HS-SPME a été le CAR-PDMS et les conditions de la température d'équilibre de *headspace* et d'exposition de la fibre à l'éthanol ont été optimisés, en sélectionnant le temps et la température de exposition et équilibre des 20min à 50°C; de montant analysé variait entre 1,5-5g, en fonction de l'aliment, en tenant compte du volume de *headspace*, qui est resté constant (10 ml) dans tous les échantillons.

Nous avons étudié la gamme linéaire de la méthode sur des échantillons de ragoût de poisson et boeuf bib, et les valeurs des concentrations entre 0,003-0,378g d'éthanol/100g de aliments cuits, avec des coefficients de corrélation >0,998 et RSD de 3,5%. La valeur de LOD obtenu a été 0,001 g/100 g d'aliments cuits et LOQ 0,003 g/100 g d'aliments cuits.

Les valeurs de l'éthanol présente dans les repas étudiés variaient 0,004-0,674 g d'éthanol /100g d'aliments cuits. L'évaluation sensorielle effectués sur des échantillons du le lapin chasseur et Scrambled Nord, faites avec diverses additions d'alcool et avec des substituts non alcooliques de ces boissons, indiquaient des différences significatives ($p < 0,05$) dans certains attributs considérés pour les échantillons.

Mots-clés: SPME; repas; vin; ethanol.

ÍNDICE

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Résumé	ix
Índice.....	xi
Lista de abreviaturas	xiii
1- Introdução	1
<u>1.1-</u> Propriedades químicas do álcool	7
<u>1.2-</u> Metabolismo do álcool no organismo	7
<u>1.3-</u> Efeitos do álcool na saúde	9
<u>1.4-</u> Quantificação do etanol em alimentos	16
2- Objectivos	23
3- Materiais e Métodos.....	27
<u>3.1-</u> Padrões, Reagentes e Equipamentos.....	28
<u>3.2-</u> Amostragem.....	29
<u>3.3-</u> Preparação da amostra.....	31
<u>3.4-</u> Condições de headspace e SPME.....	31
<u>3.5-</u> Cromatografia gasosa	32
<u>3.6-</u> Análise sensorial	33
<u>3.7-</u> Análise estatística	34
4- Resultados e Discussão.....	35
<u>4.1-</u> Optimização e validação do método de HS-SPME-GC/MS	36
<u>4.1.1-</u> Escolha das condições de HS-SPME	36

___ 4.1.2- Escolha das condições de GC-MS	38
___ 4.1.3- Validação do método	40
___ 4.2- Quantificação de etanol em alimentos processados	42
___ 4.2.1- Caldeirada	42
___ 4.2.2- Carne estufada	44
___ 4.2.3- Carne grelhada marinada	45
___ 4.2.4- Sobremesas contendo bebidas alcoólicas	46
___ 4.2.5- Produtos industrializados	47
___ 4.3- Características sensoriais do Coelho à Caçador e Mexidos do Norte ...	48
___ 4.3.1- Avaliação da análise sensorial do Coelho à Caçador	49
___ 4.3.2- Avaliação da análise sensorial dos Mexidos do norte	50
___ 4.4- Concentração de álcool no sangue após refeição cozinhada com bebidas alcoólicas	51
5- Conclusão	57
6- Referências Bibliográficas	61
Anexos	

Lista de Abreviaturas

CAR-PDMS – Carboxen–polydimethylsiloxane

GC – Cromatografia Gasosa

LOD – Limite de Detecção

LOQ – Limite de Quantificação

MS – Espectrometria de Massa

RSD – Desvio Padrão Relativo

SPME – Micro extracção em Fase Sólida

WHO – Organização Mundial da Saúde

1- INTRODUÇÃO

1.1- Propriedades químicas do álcool

1.2- Metabolismo do álcool no organismo

1.3- Efeitos do álcool na saúde

1.4- Quantificação do etanol em alimento

“A comida e o vinho podem ser deliciosos por si só, mas são ainda mais interessantes quando se misturam na boca associando o seu flavor. O mesmo pode acontecer no tacho, quando a comida e o vinho casam para conceber um prato extraordinário. “

Paulette Mitchell in “The spirited vegetarian: over 100 recipes made lively with wine and spirits”

O álcool potencia o *flavor* e a textura de muitos alimentos. Um vasto número de receitas usam bebidas alcoólicas como ingrediente na preparação de pratos principais, molhos e sobremesas. Nos molhos a substituição de natas e amidos por álcool pode melhorar a sua textura e aroma bem como o seu valor nutricional (Augustin et al.,1992, Mitchell, 2005). As bebidas espirituosas abrem uma nova categoria de sensações no paladar, que podem tornar a culinária mais criativa; o vinho e as bebidas espirituosas podem potenciar o sabor de diversos pratos devido às várias opções que apresentam: macios ou ácidos, frutados ou picantes, com alto ou baixo teor alcoólico, com ou sem gás, fortificados ou não, secos ou doces (Mitchell, 2005).

Além do *flavor*, o álcool é essencial em algumas receitas para provocar reacções químicas desejáveis. A cerveja contém leveduras que levedam pães e polmes; algumas bebidas alcoólicas ajudam a quebrar fibras ao marinar; o vinho e o Kirsch são usados em fondue para baixar o ponto de ebulição do queijo ajudando a prevenir a sua coagulação; ou usado apenas como entretenimento, como o caso dos pratos flamejados (Filippone, 2009).

O uso de bebidas alcoólicas em preparações culinárias pode ser recomendado com o objectivo de reduzir outros ingredientes com efeitos prejudiciais ao nosso organismo. O livro “The everything diabetes cookbook” sugere aos diabéticos que para reduzirem a gordura total dos pratos, mas mantendo o seu sabor, que os marinem com bebidas alcoólicas, reduzindo assim a adição de gordura para que esta seja usada, caso necessário, apenas como tempero (Hahn e Media, 2003).

Temperar com vinho tinto pode apresentar benefícios para a saúde na medida em que este contém uma variedade de antioxidantes polifenólicos, como comprova o estudo de López-Vélez e colaboradores (2003). O consumo humano destes compostos tem vários benefícios para a saúde, incluindo protecção das doenças cardiovasculares e cancro.

No entanto, há evidências científicas que referem existir uma relação negativa entre o vinho tinto e a biodisponibilidade de ferro nos alimentos (Lucarini et al., 2000). O consumo de álcool é desaconselhado e até proibido em diversos casos, como por exemplo: crenças religiosas proíbem o consumo de álcool, o uso de alguns medicamentos requer que se evite o álcool (Hahn e Media, 2003), alcoólicos em recuperação têm que se abster de álcool (Maccionia et al., 2007), e ainda não menos importante, a exposição das crianças e jovens ao álcool, uma vez que estes grupos etários apresentam células em formação (Chudler, 2007).

É fácil de monitorizar o consumo de álcool em bebidas, o que não é possível, para o consumidor geral, é avaliar o teor de álcool ainda presente nas refeições preparadas com bebidas alcoólicas.

- Será que o álcool evapora quando cozinhamos com bebidas alcoólicas?
- Será que posso cozinhar com bebidas alcoólicas quando a refeição vai ser servida a crianças? E servida a alcoólicos em recuperação? E a pessoas com alergia/ intolerância ao etanol? E a grávidas/mães a amamentar?

O conhecimento geral leva-nos a assumir que o álcool que adicionamos na preparação de uma refeição é totalmente evaporado. O mesmo assumimos,

verificando que o valor do ponto de ebulição do álcool (etanol) é mais baixo do que o da água (78,5°C vs 100°C). No entanto há teorias que contradizem este pressuposto.

Robert L. Wolke, no seu livro “What Einstein Told His Cook”, 2002, refere que embora apresentem diferentes pontos de ebulição, não significa que se comportem independentemente quando misturados, cada um afecta a temperatura de ebulição do outro; uma mistura de álcool e água evaporará a uma temperatura entre os 78,5°C e os 100°C – mais perto dos 100°C se maioritariamente água, e mais perto dos 78,5°C se maioritariamente álcool.

Segundo vários autores, o etanol e a água formam uma mistura azeotrópica. Numa mistura azeotrópica os dois líquidos fervem a uma composição constante, de modo a que a composição do vapor é a mesma da do líquido (Bender, 2006). A água e o etanol formam um azeotropo de mínimo, isto é, a mistura ferve a uma temperatura menor do que a dos componentes, mas quando a mistura atinge a composição azeotrópica (96% de etanol e água em massa), a mesma não se separa mais (Clugston e Flemming, 2000, Armarega e Chai, 2009).

Augustin, e colaboradores (1992), estudaram a retenção de etanol em várias preparações culinárias para avaliar se o álcool adicionado na preparação de refeições contribuía ou não para o seu valor energético. Na tabela 1, apresentam-se os resultados obtidos no seu estudo.

Tabela 1 - Tabela de retenção do Álcool desenvolvida por Augustin e colaboradores (1992)

Método de preparação	Percentagem de álcool retida
Álcool adicionado ao líquido em ebulição e retirado do calor	85%
Álcool flamejado	75%
Sem calor, armazenado durante a noite	70%
Cozido, 25 minutos, sem envolver o álcool na mistura	45%
Pratos cozinhados com o álcool envolvido na mistura:	
15 minutos de tempo confecção	40%
30 minutos de tempo confecção	35%
1 hora de tempo confecção	25%
1,5 hora de tempo confecção	20%
2 hora de tempo confecção	10%
2,5 hora de tempo confecção	5%

Estes resultados originaram a tabela - USDA Table of Nutrient Retention Factors – com a informação do teor de álcool retido na refeição por diferentes métodos. É importante salientar que os valores referidos nesta tabela são meramente indicativos, uma vez que não contemplam todos os métodos culinários, interacção entre alimentos e outros ingredientes, quantidade de água adicionada, entre outros.

Na perspectiva da saúde pública, existem várias preocupações para melhorar a saúde das crianças e adolescentes, para além dos cuidados de imunização, controlo de doenças infecciosas, nutrição pré-natal e infantil; é de salientar a preocupação no controlo do consumo de drogas, tabaco e álcool (Armstrong et al., 2002). Excepto em casos de envenenamento, existe pouca informação sobre o efeito do álcool em crianças. Além disso, a interpretação dos dados existentes é dificultada pelo conflito de informação na cinética do etanol

nas crianças. Por exemplo, apesar de alguns estudos indicarem que a actividade da álcool desidrogenase não atinge níveis de adulto até aos 5 anos de idade, estudos farmacológicos em intoxicação de crianças mostram que a eliminação do etanol é mais rápida do que a referida para os adultos. Por outro lado, a concentração de etanol que produz efeitos no Sistema nervoso Central ou morte em crianças permanece controverso.

1.1- Propriedades químicas do álcool

O álcool presente nas bebidas alcoólicas que usamos para cozinhar, é o etanol. Segundo o Index Merck (2001), o etanol apresenta a fórmula empírica C_2H_5OH ; é produzido por fermentação do amido, açúcar e outros carboidratos e pelo etileno, acetileno, desperdício de licores de sulfito, e síntese gasosa ($CO + H$); é um líquido límpido, sem cor, volátil, inflamável, tóxico, com aroma agradável e sabor pungente; absorve água rapidamente do ar; tem de densidade 0,789, e entra em ebulição a $78,5^{\circ}C$; é solúvel em água e na maior parte dos líquidos orgânicos.

1.2- Metabolismo do álcool no organismo

Estudos revelam que o consumo de bebidas alcoólicas e seus efeitos é influenciado ou pelas variações no metabolismo do álcool de cada indivíduo, ou pela forma como o álcool é decomposto e eliminado no organismo. O metabolismo do álcool é controlado por factores genéticos, como as variações nas enzimas que metabolizam o álcool; e por factores ambientais, como a quantidade de álcool e de alimentos que um indivíduo consumiu. Estas diferenças podem colocar algumas pessoas em maior risco, enquanto que outras podem

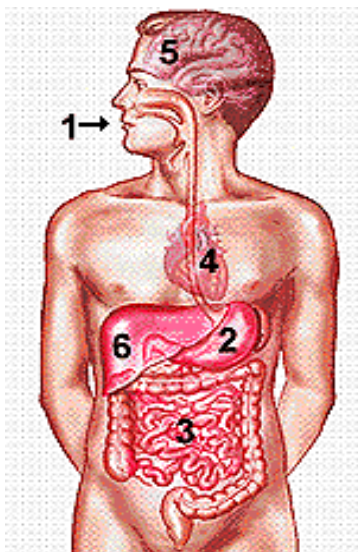
estar como que protegidas dos efeitos prejudiciais do álcool (U.S. Department of Health and Human Services, 2007).

O álcool é metabolizado por diferentes processos. O mais comum envolve duas enzimas – álcool desidrogenase (ADH) e aldeído desidrogenase (ALDH). Estas enzimas ajudam a converter a molécula de álcool, tornando possível a sua eliminação do corpo. Primeiro, a ADH metaboliza o álcool em acetaldeído, uma substância altamente tóxica e um conhecido carcinogénio. Posteriormente, o acetaldeído é metabolizado para uma substância menos activa, o acetato, que é então convertido em água e dióxido de carbono tornando a eliminação fácil (U.S. Department of Health and Human Services, 2007).

Como o álcool é uma molécula muito pequena é solúvel tanto em soluções aquosas como em lípidos. Esta propriedade faz com que o álcool entre facilmente na corrente sanguínea e também atravesse a barreira do cérebro (Chudler, 2007).

A Figura 1 mostra-nos a trajectória do álcool no organismo. Podemos observar que o álcool chega por várias vias à corrente sanguínea e conseqüentemente ao

cérebro:



1. Boca: o álcool entra no corpo.
2. Estômago: algum álcool entra na corrente sanguínea no estômago, mas a maior parte vai para o intestino delgado.
3. Intestino Delgado: o álcool entra na corrente sanguínea através das paredes do intestino delgado.
4. Coração: bombeia o álcool para do corpo.
5. Cérebro: o álcool chega ao cérebro.
6. Fígado: o álcool é oxidado pelo fígado a uma taxa de 14g por hora
7. O álcool é convertido em água, dióxido de carbono e energia.

Figura1 – Trajectória do álcool no organismo

1.3- Efeitos do álcool na Saúde

A Organização Mundial da Saúde, no Global Status Report on Alcohol 2004, refere que o álcool é a única substância que conhecemos que é tóxica para todas as células do corpo.

Os efeitos do consumo de álcool nos humanos é diverso e pode-se dividir as consequências em: efeitos devido ao consumo moderado/baixo e efeitos devido ao consumo excessivo de álcool.

Efeitos devido ao consumo moderado e baixo de álcool:

- Efeito na grávida e feto

Segundo Livy e colaboradores, 2004, o crescimento e o desenvolvimento fetal podem ser afectados pelo consumo de álcool mesmo antes do tempo de concepção, e como tal deve ser um facto a ter em consideração pelas mulheres que planeiam engravidar. A exposição pré-natal ao álcool pode trazer diversas consequências, e quanto maior a dose tomada maior o risco. Uma deficiente alimentação da mãe pode também causar uma lenta metabolização do álcool, expondo assim o feto a níveis de álcool maiores e por um período mais longo de tempo (U.S. Department of Health and Human Services, 2007, WHO, 2006). A consequência mais grave para crianças que estiveram expostas no útero ao álcool é o desenvolvimento da síndrome alcoólica fetal (WHO, 2006). Esta síndrome causa uma dismorfologia facial que inclui diminuição das fendas palpebrais, olhos em epicanto, apagamento do sulco naso-labial, estreitamento do lábio superior, e anomalias auriculares menores (WHO, 2006). O sistema imunológico é também afectado, estando estas crianças mais expostas a incidentes de

infecções bacteriológicas e a um menor número de leucócitos (Arjona et al., 2006). Ocorrem também outros efeitos que podem revelar-se mesmo que a criança não apresente a síndrome. Estes efeitos podem ser: atrasos mentais, de desenvolvimento e de linguagem, problemas de memória, défice de atenção, alterações no sistema nervoso central, problemas no comportamento social, entre outros (WHO, 2006, Commission of the European Communities, 2006). Mas embora as consequências sejam dependentes da dose a Organização Mundial de Saúde que diz uma bebida por dia, em média, pode ser suficiente para resultar em distúrbios neurológicos nas crianças expostas (WHO, 2006).

- Efeito no sistema nervoso

A quantidade de álcool ingerido provoca algumas mudanças comportamentais: estimulação psíquica se a quantidade é inferior a 0,5g/l, e depressão psíquica em doses superiores. A estimulação psíquica está associada com a desinibição - as tarefas cognitivas são feitas mais rapidamente, com um sentimento de facilidade mas com um aumento da taxa de erro (Letenneur, 2004).

A American Academy of pediatrics, committee on drugs, inclui, além das mudanças comportamentais, os efeitos de decréscimo no tempo de reacção e descoordenação muscular. Em crianças estes efeitos são sentidos em concentrações de etanol presentes no sangue, de apenas 100mg/100ml, no entanto existem casos descritos em que os efeitos são visíveis em concentrações de 1mg/100ml (American Academy of pediatrics, committee on drug, 1984).

- Efeito na concentração

O Department of Forensic Medicine, Australia, levou a cabo um estudo em que usou uma ferramenta de investigação para testar os efeitos de doses muito baixas de álcool através da proposta de uma tarefa desconhecida que requeria uma concentração considerável, reacção rápida, velocidade e precisão. Este estudo mostrou que doses muito baixas de álcool ingerido causa aos participantes uma maior lentidão de adaptação e aprendizagem às novas tarefas, e aumenta em três vezes o erro comparando com os participantes que não ingeriram álcool. O grupo que ingeriu álcool tinha em média uma percentagem de álcool no sangue de 0,075% (Ogden et al., 1995).

- Efeito alergénico

As bebidas alcoólicas causam uma vasta gama de alergias e reacções alérgicas, incluindo rinites, comichões, inchaço facial, dores de cabeça, tosse e asma. Existe um número limitado de estudos epidemiológicos que sugerem sensibilidade a bebidas alcoólicas, incluindo cerveja, vinho e bebidas espirituosas. A sensibilidade ao etanol, por si só, pode representar um papel importante na causa destas respostas adversas, devido principalmente à redução na capacidade de metabolizar o acetaldeído (Vally e Thompson, 2003).

- Efeito nos alcoólicos em recuperação

Maccionia e colaboradores, 2007, referem que nas últimas evidências científicas, através de observações clínicas, que o odor e o sabor das bebidas alcoólicas é suficiente para desencadear imediatamente o síndrome de abstinência nos alcoólicos em recuperação.

Efeitos devido ao consumo excessivo de álcool:

- Efeito carcinogénico

Estudos epidemiológicos mostraram que o cancro da boca, esófago e laringe estão associados a um consumo de álcool e que o risco aumenta com a dose (Gurr, 1996). O Department of Health and Human Services, dos Estados Unidos, no número de Abril de 2007 da revista Alcohol Alert, alerta para outros tipos de cancro (fígado, cólon, recto e mama) que podem ser devidos aos efeitos tóxicos do acetaldeído.

O álcool não é um carcinogénio mas, estudos em animais de experiência mostram que este pode, em algumas circunstâncias, comportar-se como um co-carcinogénio - o álcool pode potenciar o processo carcinogénico sem ter a capacidade de iniciação (Gurr, 1996).

- Efeito no fígado

O consumo excessivo de álcool aumenta o risco do desenvolvimento de esteatose, hepatite e cirrose. Suspeita-se que outras doenças de fígado possam estar relacionadas, mas como o efeito só é notado quando o fígado está demasiado afectado, as conclusões tornam-se difíceis (U.S. Department of Health and Human Services, 2007, Gurr, 1996).

- Efeito no sistema cardiovascular

Estudos epidemiológicos encontraram uma forte associação entre o consumo de álcool, a hipertensão e o risco de ataque cardíaco. O consumo excessivo aumenta o risco, enquanto que o consumo moderado protege do risco das doenças cardiovasculares (International Center for Alcohol Policies, 2007, Gurr, 1996).

Os efeitos benéficos do vinho são desde há muito conhecidos. Há quase 2000 anos atrás na Bíblia existe uma recomendação ao uso moderado do vinho. Na 1ª Epístola de Paulo a Timóteo, capítulo 5 e versículo 23, diz: “Não bebas mais água só, mas usa um pouco de vinho, por causa do teu estômago e das tuas frequentes enfermidades.”

Muitos destes benefícios não são devidos ao etanol, mas a outros compostos presentes no vinho ou em outras bebidas alcoólicas (Truelsen et al., 2002).

Estudos concluem que: o consumo mensal ou semanal de vinho está associado a um menor risco de demência (Truelsen et al., 2002); uma dose baixa de consumo de álcool aumenta a insulina hepática (Serrero et al., 2007); o consumo moderado de álcool protege de ataque isquémico transitório (Sacco et al., 1999) e baixa o risco das doenças cardíacas (International Center for Alcohol Policies, 2007).

Em Portugal, segundo a National Council on Food and Nutrition, são consumidos diariamente 1-2 unidades de vinho (14-28g de etanol) pelas mulheres e 2-3 unidades de vinho (28-42 g etanol) pelos homens (International Center for Alcohol Policies, 2007).

Não existem limites universais de consumo “seguro” de álcool, cada país definiu os seus limites aconselháveis e existem mesmo países que não os têm. Na tabela - International Drinking Guidelines - do International Center for Alcohol Policies, de 2007, podemos consultar esses limites. Por exemplo na Austrália a quantidade aceitável de ingestão é de 2 bebidas por dia (20g de etanol); no

Canadá de 1 bebida por dia (10g de etanol); na Itália é de 0,6g de etanol por quilo de peso corporal e por dia; apesar destas divergências, todos os países recomendam abstinência de álcool a grávidas/mães a amamentar.

As dúvidas surgem quando começamos a procurar limites seguros de ingestão de álcool em crianças. Na “Declaração sobre os Jovens e o Álcool” (Adoptada em Estocolmo a 21 de Fevereiro de 2001), do Centro Regional de Alcoologia do Sul, podemos ler - *Segundo uma perspectiva de saúde pública, a mensagem é clara: não há provas científicas de um limite seguro para o consumo de álcool, especialmente para as crianças e os adolescentes, que são os grupos mais vulneráveis.*

A informação existente vem sobre a forma de dose letal - 3g/Kg/peso, podendo mesmo ocorrer com doses inferiores; e sobre a forma de recomendação à FDA para que as preparações medicamentosas líquidas destinadas a crianças não excedam o limite máximo de 5% v/v de etanol, sugere mesmo a exclusão do etanol nestas preparações (American Academy of pediatrics, committee on drugs, 1984).

Como o álcool é inadequadamente metabolizado em crianças e jovens, alguns estados membros recomendam uma reavaliação da idade mínima do consumo de bebidas alcoólicas, para idade superior a 18 anos, e também a introdução de um limite zero de álcool no sangue para os jovens que conduzem (Commission of the European Communities, 2006). A recomendação de limite zero é também aplicada a condutores inexperientes, condutores de transportes públicos e de veículos comerciais.

Apesar dos limites não estarem universalmente definidos, as comissões responsáveis têm reunido esforços para proteger os consumidores.

Para a Commission of the European Communities, Bruxelas 2006, uma das preocupações é direccionada para a informação ao consumidor. No ponto 5.4. da comunicação podemos ler: os cidadãos têm o direito de obter informação relevante sobre o impacto na saúde, e em particular dos riscos e consequências nocivas e perigosas relacionadas com o consumo de álcool, e de obter informação mais detalhada sobre os aditivos alcoólicos que podem ser nocivos para certos grupos de consumidores. Para tal, é seu objectivo desenvolver acções para melhorar a informação aos consumidores nos pontos de venda e nos produtos, sobre o impacto do abuso de álcool na saúde e desempenho profissional. Como parte da informação ao consumidor, alguns estados membros introduziram, ou estão a considerar introduzir, rotulagem para proteger mulheres grávidas e seus futuros bebés.

Um dos cinco princípios básicos da “Declaração sobre os Jovens e o Álcool” (Adoptada em Estocolmo a 21 de Fevereiro de 2001), diz: *Todas as pessoas que não desejem consumir álcool ou que não o possam fazer por motivo de saúde ou outros, têm o direito de ser salvaguardadas das pressões para beber e serem apoiadas no seu comportamento de não consumidoras.* Esta declaração incentiva também à criação de grupos de apoio, grupos estes responsáveis por - criar oportunidades em que alternativas à cultura de beber álcool sejam encorajadas e protegidas; desenvolver e encorajar o papel da família na promoção da saúde e do bem-estar dos jovens; garantir que as escolas e, quando possível, outras instituições educativas sejam ambientes livres de álcool.

Devido à incerteza da quantidade de álcool que permanece nas refeições preparadas com bebidas alcoólicas e por quererem proteger os alunos, existem casos de autarquias que proibiram o uso de álcool na preparação das refeições destinadas ao 1º, 2º e 3º ciclo e secundário.

É o caso da Câmara Municipal de São João da Madeira, que no seu caderno de encargos proíbe o uso de bebidas alcoólicas para cozinhar. Segundo o responsável pela educação, a razão pela qual decidiram pela proibição foi aquando da pesquisa sobre o assunto em sites da internet e na literatura haver diferença nas opiniões, enquanto uns diziam que o álcool evaporava na totalidade outros diziam que não; e para não correrem riscos optaram pela proibição.

É pertinente conhecer o teor de álcool retido na refeição preparada com bebidas alcoólicas, para esclarecer os responsáveis pela alimentação escolar; e minimizar os efeitos nocivos do álcool que afectam a capacidade enzimática das células do sistema nervoso, a transmissão de impulsos nervosos e a integridade celular em crianças e jovens.

1.4- Quantificação do etanol em alimentos

O álcool presente nas bebidas alcoólicas que usamos para cozinhar é o etanol. Este composto orgânico de baixo peso molecular, solúvel em água e em lípidos, volátil a 78,5°C.

Um dos métodos mais usados para a determinação do teor de etanol em alimentos é a cromatografia gasosa (GC). Holley e colaboradores (1995), chamam ao GC a técnica chave para a indústria alimentar, pois permite separar e

identificar substâncias orgânicas simples e complexas de uma forma rápida e económica.

Tradicionalmente, a preparação das amostras de alimentos para serem analisados por GC envolve os seguintes passos: extracção, ajuste de pH, precipitação/centrifugação, limpeza ou evaporação/concentracção. Embora o mecanismo seja simples, as várias etapas são morosas e dispendiosas. A micro-extracção em fase sólida (SPME) é uma técnica de extracção alternativa que é rápida, simples e económica (Cardeal et al., 2005).

Rodrigues e colaboradores (2008), analisaram os compostos voláteis e semi-voláteis orgânicos que contribuem para o aroma das bebidas alcoólicas, extraíndo-os seguindo diferentes metodologias, como, extracção líquido-líquido (LLE), destilação-extracção simultânea (SDE), extracção fluído supercrítico (SFE), extracção fase-sólida (SPE) e extracção ultrasom. A conclusão a que chegaram foi que a maior parte destas técnicas apresentam diversas desvantagens, incluindo equipamento, quantidades significativas de solventes dispendiosos e prejudiciais ao meio ambiente, várias etapas de manuseamento que aumentam o erro, e a necessidade de concentraçção do analito alvo para atingir níveis detectáveis. Como alternativa a estes métodos clássicos, e como forma de ultrapassar as suas desvantagens, sugerem o uso de SPME e Extracção Sorptiva em Barra de Agitação (SBSE) (técnica que usa uma barra de vidro de agitação na qual é ligada uma fase de adsorçção), no entanto, extraiu os compostos voláteis através da técnica de HS-SPME.

No estudo de compostos aromáticos voláteis de feijões franceses, Barra e colaboradores (2007), fizeram um estudo comparativo usando as técnicas de

extracção de HS-SPME e SDE, obtendo melhores resultados com a técnica SPME. No caso específico da molécula de etanol, esta não foi detectada quando extraída por SDE sendo detectada com SPME.

O método SPME foi desenvolvido durante 1989-1992, por Pawliszyn e seus colaboradores, para a análise rápida de voláteis e semi-voláteis de poluentes ambientais em água. O SPME pode ser usado para obter uma amostra em “headspace” ou a fibra pode ser imersa na solução do analito para uma extracção directa (Brunton et al., 2001).

Para analisar compostos orgânicos é necessário separar, purificar e concentrar o analito da matriz. O SPME é uma técnica de preparação da amostra, que usa uma fibra de sílica fundida revestida com uma fase estacionária adequada aos compostos que se pretende analisar. Estes são directamente extraídos e concentrados no revestimento da fibra que actua como uma “esponja”, concentrando na sua superfície as espécies a analisar durante a adsorção. O esquema desta extracção apresenta-se na Figura 2.

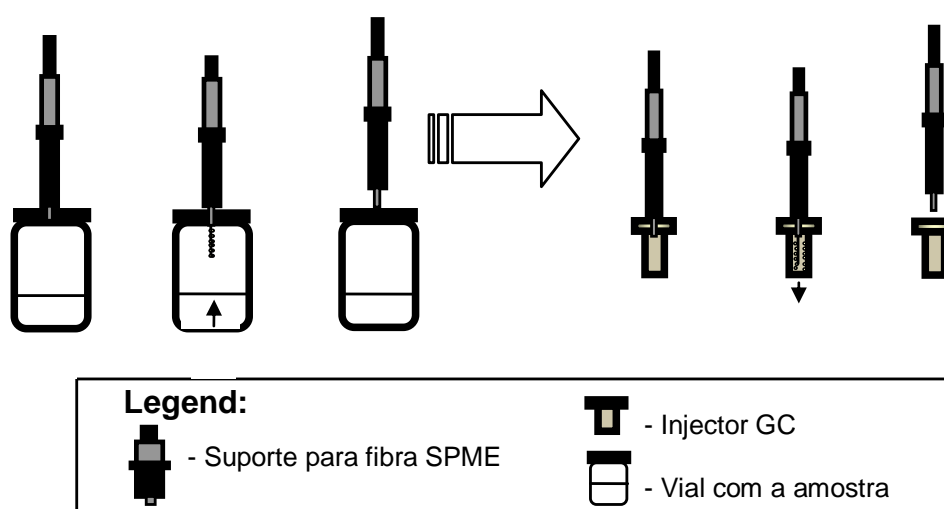


Figura2: Esquema do processo de extracção e purificação de compostos voláteis por HS-SPME e GC.

A parte crucial do dispositivo de SPME é o revestimento da fibra. Há, diferentes revestimentos comercialmente disponíveis. Para uma correcta selecção do polímero de revestimento aplica-se o princípio “semelhante dissolve semelhante” (Tong et al., 2001).

O SPME baseia-se num mecanismo de absorção e/ou adsorção, e dependendo do revestimento da fibra, pode ser aplicada com sucesso tanto em compostos polares como nos não-polares, em amostras gasosas, líquidas e sólidas e pode ser facilmente acoplado a com vários instrumentos analíticos como o GC, GC-MS, HPLC e LC-MS. Na extracção de voláteis e semi-voláteis em compostos orgânicos de amostras ambientais, biológicas e alimentares, a técnica de SPME tem sido rotineiramente combinada com GC e GC acoplado a MS com detecção de ião (GC-ITDMS) (Caldeira et al., 2007).

A técnica de SPME em headspace tem sido utilizada na extracção de inúmeros compostos aromáticos, nomeadamente o etanol, em alimentos como podemos observar na Tabela 2, onde se encontra resumidas as fibras aplicadas, as condições de extracção e detecção.

O método de SPME tem várias vantagens quando comparado com as técnicas tradicionais: elimina o uso de solventes orgânicos tóxicos; permite a quantificação de um grande número de moléculas com um limite de detecção baixo e boa linearidade sobre uma gama considerável; integra num passo só a amostragem, extracção e concentração; requer pouca ou nenhuma manipulação/preparação da amostra; diminui substancialmente o tempo de análise; e além disso, é uma técnica simples e rápida, e cobre uma vasta gama de técnicas de amostragem, incluindo terreno, in situ e amostragem de ar (Rodrigues et al., 2008).

Os investigadores de flavour em alimentos privilegiam a sensibilidade e facilidade de uso desta técnica, no modo headspace aplicando-a directamente no alimento a analisar, incluindo maçãs, tomates, queijo, carne, cerveja e vinho, entre outros (Brunton et al., 2001).

Tabela2 – Resumo das condições cromatográficas de extracção e separação de etanol em diferentes alimentos por GC

Referência	Amostra	Fibra SPME	Coluna de GC	Deteccção
Nunes et al., 2008	Ameixa confitada	CW/DVB	Coluna capilar de sílica fundida DB-FFAP; 30 m×0.32 mm	GC-MS
Pinho et al., 2006	cerveja	CAR-PDMS	Coluna capilar SPB-5; 60m×0.32mm×1.0µm	GC-MS
Barra et al., 2007	Feijões congelados	DVB/CAR/PDMS	Duas colunas capilares de sílica fundida HP-1 (PDMS) 50m×0.2mm×0.33µm	GC-MS
Cardeal et al., 2005	Frutas brasileiras e sumos	PDMS	Coluna HP-5 (5% phenylmethylsilicone); 25m×0.20mm×0.33µm	GC-MS
Iglesias e Medina, 2008	Peixe	CAR-PDMS	Coluna capilar de sílica fundida DB-1701; 30m×0.32mm×1µm	GC-MS
Pinho et al., 2003	Queijo	CAR-PDMS	Coluna capilar SPB-5; 60m×0.32mm×1.0µm	GC-MS
Marco et al., 2007	Salsichas secas fermentadas	CAR/PDMS SF	Coluna capilar DB-624; 30m×0.25 mm×1.4µm	GC-MS
Caldeira et al., 2007	whiskeys	CAR/PDMS e CW/DVB	Coluna capilar de sílica fundida DB-Waxetr; 30m×0.25mm×0.5µm	GC-MS

As desvantagens geralmente aceites são relativas à extrema sensibilidade a solventes orgânicos e apresentar uma gama limitada de fases estacionárias disponíveis no mercado (Rodrigues et al., 2008).

2- OBJETIVOS

É do conhecimento geral que a natureza da alimentação disponível durante as fases de crescimento e na maturação biológica assume grande importância para a saúde e bem-estar de crianças e adolescentes e para os adultos que eles virão a ser.

O álcool interfere na actividade do sistema nervoso em escalões sucessivos, de acordo com o tempo de actuação, com os níveis sanguíneos atingidos e dependendo da quantidade ingerida.

Será que o etanol das bebidas alcoólicas adicionadas numa preparação culinária, para melhorar as características organolépticas do prato, permanece?

Para dar resposta a esta questão foram estabelecidos os seguintes objectivos:

- (i) Estudar a aplicabilidade da técnica de micro extracção em fase sólida na análise de etanol em refeições cozinhadas com bebidas alcoólicas;
- (ii) Optimizar as condições de extracção, tempo de equilíbrio e tempo de exposição da fibra;
- (iii) Avaliar o teor de etanol em refeições preparadas com quantidades conhecidas de etanol;
- (iv) Conhecer o teor de etanol presente em produtos alimentares industrializados podem ser consumidos por crianças e jovens;
- (v) Usar um painel de provadores para comparar o perfil sensorial de refeições confeccionados com e sem adição álcool.

- (vi) Estimar o teor de álcool no sangue de crianças e jovens, após ingestão de refeições preparadas com quantidades conhecidas de etanol e produtos industrializados;

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Padrões, Reagentes e Equipamentos

3.2- Amostragem

3.3- Preparação da amostra

3.4- Condições de headspace e SPME

3.5- Cromatografia gasosa

3.6- Análise sensorial

3.7- Análise estatística

Para a realização do presente trabalho foi quantificado o etanol presente em várias refeições cozinhadas com bebidas alcoólicas, e outros produtos alimentares que na sua composição referem a presença de etanol.

3.1- Padrões, Reagentes e Equipamentos

Para a preparação das soluções padrão de etanol utilizou-se etanol puro adquirido à Merck (Darmstadt, Alemanha) e água ultrapura. Na preparação das amostras cozinhadas foi utilizado vinho tinto do Douro, Vinho Branco do Douro, vinho do Porto Tinto e cerveja branca com os teores alcoólicos, de 13,5% alc./vol; 13% alc./vol; 20% alc./vol e 5% alc./vol, respectivamente . Nas amostras preparadas com substituto de Vinho usamos sumo de arando (sem teor alcoólico) e vinho tinto desalcoholizado (teor alcoólico inferior a 5%).

Os equipamentos usados neste estudo foram: o agitador de vortex (modelo Vortex Mixers VV3 da (VWR) na homogeneização das amostras; manta de aquecimento e agitação; “vials” de 15ml, septo de PTFE/silicone, suporte para fibra de SPME, e fibra de micro extracção Carboxen–polydimethylsiloxane (CAR–PDMS 75µm), todos da Supelco,Belefonte, PA, EUA; sistema de GC Hewlett Packard (HP) modelo 6890, acoplado com um injector splitless adequado para análise SPME, e um sistema de MS Agilent 5973; coluna capilar SPB-5 (60m x 0,32mm, espessura de 1,0µm) da Supelco. O hélio foi o gás de arraste usado na separação.

3.2- Amostragem

Este estudo foi aplicado a pratos confeccionados no laboratório de gastrotecnia da Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto - Caldeirada de peixe, Carne à Jardineira, Coelho à Caçador, Bifes Marinados Grelhados, Pêra Bêbeda, Mexidos do Norte; e a produtos alimentares industrializados que podem ser consumidos por crianças e jovens – Chipicao Delicia, Kinder Delice, Molho Whisky Cocktail.

Os alimentos usados nas preparações culinárias e os produtos alimentares industrializados foram adquiridos em supermercados da área metropolitana do Porto.

Os pratos foram confeccionados seguindo as receitas em anexo; apresentamos na tabela 3 as amostras confeccionadas com bebidas alcoólicas, as quantidades e tipo de bebida alcoólica adicionada e a respectiva concentração de etanol nos ingredientes (tendo em conta a quantidade de bebida alcoólica adicionada e o peso total dos ingredientes).

As amostras confeccionadas e adquiridas foram refrigeradas e analisadas seguidamente.

Tabela3- Refeições confeccionadas com bebidas alcoólicas, e correspondente concentração de etanol presente nos ingredientes

Refeição	Tipo de bebida alcoólica usada	Peso total dos ingredientes (g)	Quantidade de bebida alcoólica adicionada (ml)	Concentração de etanol nos ingredientes (expressa em g / 100g de ingredientes)
Caldeirada de Peixe	Vinho Branco 13% alc./vol	760	0	0
			50	0,67
			100	1,34
			150	2,01
Carne à Jardineira	Vinho Tinto 13,5% alc./vol	1150	0	0
			50	0,46
			100	0,92
			150	1,38
Coelho à Caçador	Vinho Tinto 13,5% alc./vol	1600	750	4,9
	Vinho tinto desalcoholizado <0,5% alc./vol		750	Desconhecido
Bife Grelhado Marinado com Cerveja	Cerveja 5% alc./vol	-----	-----	-----
Bife Grelhado Marinado com Vinho	Vinho Tinto 13,5% alc./vol	-----	-----	-----
Mexidos do Norte	Vinho do Porto 20% alc./vol	950	25	0,42
			37,5	0,62
	Sumo de arando		25	0
Pêra Bêbeda	Vinho Tinto 13,5% alc./vol	1200	400	3,55

3.3- Preparação da amostra

As amostras foram trituradas com o auxílio de uma varinha mágica ou, no caso dos bifes marinados, uma picadora, e armazenados a uma temperatura de 5°C e analisados num intervalo de dois dias subsequentes.

Aquando da análise, as amostras que apresentavam textura que permitisse a agitação durante o período de equilíbrio e adsorção foram pesadas, adicionado 0.5ml de água ultra-pura ou 0,5ml de padrão, e imediatamente seladas; as que não continham, além dos 0,5ml de água ultra-pura/padrão, foi-lhes adicionada água-ultra pura em quantidade suficiente para tornar possível a agitação. A quantidade de toma variou de amostra para amostra respeitando sempre o volume do *headspace* no *vial*.

3.4- Condições de headspace e SPME

Os *vials* com a toma estiverem em equilíbrio por 20 min a 50°C, em agitação e numa sala controlada termicamente. Subsequentemente, a agulha da seringa que contem a fibra foi empurrada através do septo do *vial*, e o êmbolo pressionado descendo a fibra para ficar em exposição no *headspace* por 20 min a 50°C e em agitação. A fibra foi então recolhida na agulha, o suporte da fibra de SPME removido do *vial* e inserido no septo do injector do GC para dedsorção térmica. Durante o processo de injeção a fibra foi mantida no modo *splitless* por 10 min.

3.5- Cromatografia gasosa

O programa de temperatura do forno foi de 5 min a 45°C, e após este tempo aumentado de 2 em 2 minutos até atingir os 220°C, sendo o tempo total do programa de 42 min. A temperatura do injetor foi de 250°C. A detecção foi por espectrometria de massa aos iões totais e a corrente obtida por impacto de electrão a 70eV.

Foi feita análise por ião para o cálculo das áreas dos picos, expressos em unidades de área arbitrárias.

Efectuou-se a quantificação do etanol pelo método de adição padrão, que consiste na adição de quantidades conhecidas de etanol a quantidades conhecidas de amostra. As áreas dos picos cromatográficos obtidos são representadas em função das concentrações de etanol adicionadas às amostras, construindo-se uma curva de calibração. O ponto onde a curva corta o eixo das ordenadas corresponde à área do pico na amostra sem adição de padrão. A extrapolação das leituras forneceu o valor da concentração de etanol nas amostras (Figura 3).

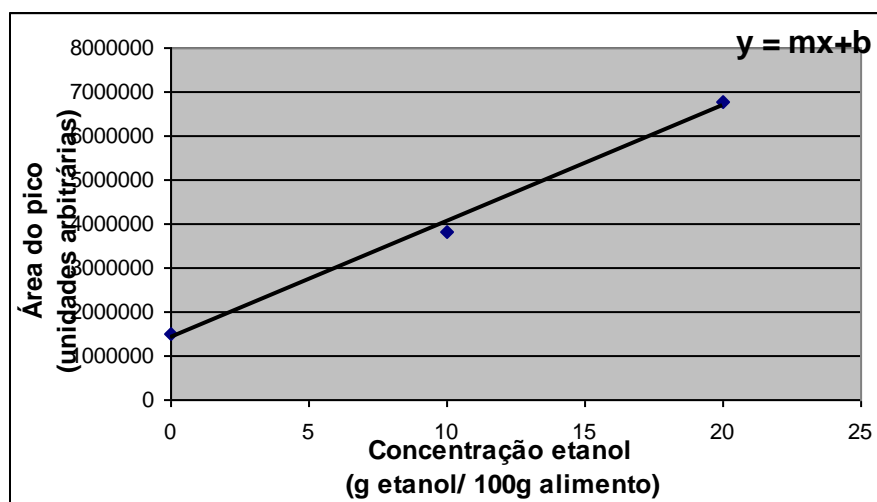


Figura3- Recta obtida pelo método da adição padrão para o etanol.

3.6- Análise sensorial

A análise sensorial descritiva foi efectuada por um painel de 8 provadores, treinado, em várias sessões, segundo as orientações da norma ISO 6564:1985, para metodologias de *flavour*.

Na 1ª sessão de treino foi dado ao painel de provadores amostras de Coelho à caçador e Mexidos do norte, confeccionados com as quantidades de bebida alcoólica descritas na receita para avaliação da aparência, textura e sabor específicos, sendo-lhes pedido para registar os termos que lhes pareceram mais adequados àquelas características.

Na 2ª sessão foram removidos os termos redundantes obtidos na sessão anterior, sendo provadas amostras que exibiam atributos específicos como odor e sabor a vinho e a etanol.

Na 3ª sessão foi estabelecida a grelha de prova com todos os atributos e seus sinónimos e respectiva escala, que variou de 1 a 7, onde 1 representava a menor intensidade e 7 a maior intensidade, para todos os atributos.

Na 4ª sessão foi feito um teste à grelha de prova utilizando-se amostras de Coelho à Caçador confeccionadas com vinho e com vinho desalcoholizado, referido como um substituto não alcoólico do vinho tinto; e Mexidos do Norte confeccionadas com vinho do Porto em duas concentrações diferentes (25ml e 37,5ml) e com sumo de arando vermelho, referido como um substituto não alcoólico de vinho do Porto. As amostras foram codificadas com 3 dígitos e servidas de forma aleatória. Cada provador avaliou individualmente cada atributo. Aos dados obtidos foi efectuada uma análise de variância (ANOVA), sendo analisados os desvios obtidos para se determinar a eventual necessidade de se efectuar alguma sessão de treino adicional.

Na sessão de prova foram avaliadas as mesmas amostras distribuídas de forma aleatória aos provadores. Os dados foram reunidos e analisados por análise de variância (ANOVA).

3.7- Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi realizado usando o SPSS para o Windows, versão 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Otimização e validação do método de HS-SPME-GC/MS

4.1.1- Escolha das condições de HS-SPME

4.1.2- Escolha das condições de GC-MS

4.1.3- Validação do método

4.2- Quantificação de etanol em alimentos processados

4.2.1- Caldeirada

4.2.2- Carne estufada

4.2.3- Carne grelhada marinada

4.2.4- Sobremesas contendo bebidas alcoólicas

4.2.5- Produtos industrializados

4.3 - Características sensoriais do Coelho à Caçador e Mexidos do Norte

4.3.1 – Avaliação da análise sensorial do Coelho à Caçador

4.3.2 - Avaliação da análise sensorial dos Mexidos do norte

4.4 – Concentração de álcool no sangue após refeição cozinhada com bebidas alcoólicas

4.1- Otimização e validação do método de HS-SPME-GC/MS

4.1.1- Escolha das condições de HS-SPME

As características de adsorção dos revestimentos da fibra, o método de extração, o tempo de extração, a temperatura, o *headspace* da amostra, a temperatura de desorção, o tempo de desorção, a composição da matriz e vários outros factores influenciam a eficiência da extração por SPME. A escolha do revestimento da fibra é essencial. Neste trabalho utilizou-se uma fibra de SPME de Carboxen–polydimethylsiloxane 75 mm (CAR–PDMS) devido à grande afinidade que esta fibra apresenta para o etanol como mostra o estudo realizado por Pinho e colaboradores (2003). Estes autores estudaram o perfil de voláteis de queijo e compararam o comportamento de diferentes fibras: polydimethylsiloxane (PDMS), polydimethylsiloxane–divinylbenzene (PDMS-DVB), polyacrylate (PA), Carboxen–polydimethylsiloxane (CAR–PDMS), Carbowax–divinylbenzene (CW-DVB), and StableFlex divinylbenzene–carboxen–polydimethylsiloxane (DVB–CAR–PDMS); das seis fibras testadas obtiveram melhores resultados na quantificação do etanol com a Carboxen–polydimethylsiloxane 75 mm (CAR–PDMS). Outro estudo comparativo de fibras, este realizado na caracterização de voláteis em peixe, os autores demonstraram que a fibra CAR-PDMS detectou uma maior gama de compostos e produzia maior intensidade de sinal que a CAR-PDMS-DVB, PDMS-DVB e CW-DVB, especialmente para compostos de baixo peso molecular, como é o caso do etanol (Iglesias e Medina, 2008). Na escolha das condições do SPME, foi testado a temperatura de equilíbrio do *headspace* e de exposição da fibra ao composto volátil etanol.

A toma da amostra variou entre 1,5g – 5g, dependendo do alimento, tendo em atenção o volume do *headspace*, que se manteve sempre constante (10ml) em todas as amostras, uma vez que este estudo se determinou o etanol em alimentos com diferentes densidades.

Diversos autores estudaram o tempo de equilíbrio e as condições de extracção de compostos voláteis, incluindo etanol, em matrizes de salsichas, peixe, queijo e fruta, por HS-SPME, seleccionaram tempos de equilíbrio de 60 min, 30 min, 20 min e 20 min, respectivamente (Marco et al., 2007, Iglesias e Medina, 2008, Pinho et al., 2003, Cardeal et al., 2005). De acordo com os resultados apresentados por estes autores, quanto mais simples for o perfil de voláteis a extrair e mais volátil o composto em estudo, menor tempo de equilíbrio será necessário para obter reprodutibilidade, elevada sensibilidade e menor tempo de análise. Optamos por utilizar um tempo de equilíbrio de 20 min atendendo à elevada volatilidade do etanol.

A temperatura de equilíbrio do *headspace* foi estudada para as temperaturas de 40, 50, 79°C, em jardineira cozinhada com 100ml de vinho.

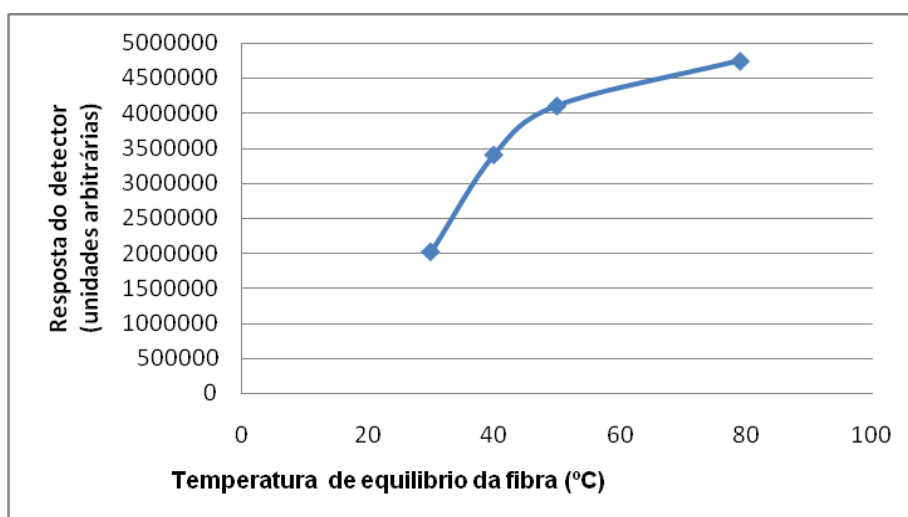


Figura4 – Efeito da temperatura de equilíbrio na extracção do etanol com a fibra CAR_PDMS, na amostra de jardineira

Os resultados obtidos apresentam-se na figura 4, como podemos verificar obteve-se maior extração do etanol da matriz com as temperaturas de 50 e 79°C, entre estas temperaturas as diferenças não foram notórias, ao contrário do que se observou com as temperaturas de 30, 40 e 50°C. Optamos pela temperatura de 50°C, pela maior facilidade em manter o equilíbrio nessas condições e por ser a temperatura que se assemelha à temperatura de servir as refeições.

As condições de extração (tempo e temperatura) pela fibra CAR-PDMS, foram as mesmas das do equilíbrio, tendo em consideração obter uma boa relação entre elevada sensibilidade e menor tempo de análise.

4.1.2- Escolha das condições de GC-MS

As condições cromatográficas foram adequadas ao composto em análise, enquanto que, para determinados perfis de compostos voláteis a maior parte dos autores referem condições de temperatura de forno através de uma rampa de temperaturas com início, a 40°C durante 5min, usando estas condições obtivemos uma má resolução de pico cromatográfico, como se pode observar na figura-5a. Para melhorar a resolução do pico do etanol, foram testadas três temperaturas iniciais da rampa (40, 45 e 50°C) durante 5 min, e posterior aumento de 2 em 2 minutos até atingir os 220°C, sendo o tempo total do programa de 42 min, e verificamos que a temperatura de 45°C foi a que permitiu obter uma melhor resolução do pico de etanol, como se pode observar na figura-5c.

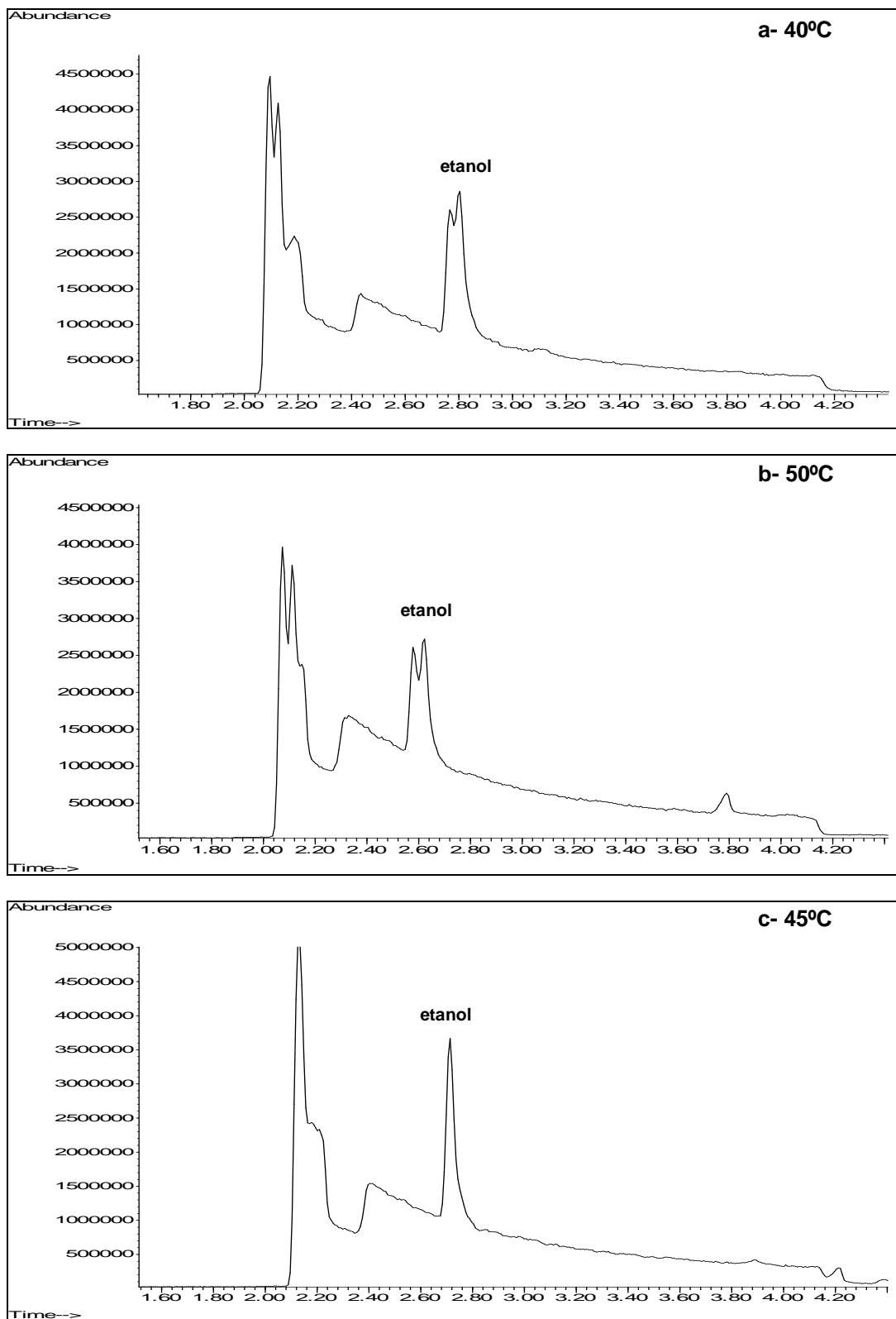


Figura 5- Cromatogramas obtidos para seleccionar a rampa de temperaturas no forno do GC

O GC/MS providencia uma análise quantitativa inequívoca do etanol através dos seus fragmentos de massa $m/z31$ (pico de base), $m/z45$ e $m/z46$ (iões moleculares) (Karch, 2008). Destes iões, seleccionamos a área do ião 45 para quantificar o etanol, por este ião apresentar menos fenómenos de tailing e fronting nas matrizes estudadas.

4.1.3- Validação do método

Após seleccionadas as condições de HS-SPME e GC/MS, fomos estudar a zona de linearidade do método para quantificar o etanol. Este estudo foi realizado em jardineira e em caldeirada cozinhadas sem adição de bebida alcoólica. À amostra triturada de caldeirada de peixe foram adicionados e homogeneizado uma gama de padrões de forma a obter concentrações de 0,0030; 0,0061; 0,0123; 0,0242; 0,0983; 0,1953; 0,2601 e 0,3780 g de etanol por 100g de alimento cozinhado. A linearidade apresentou uma correlação de 0,998 para o etanol presente nesta matriz, como podemos verificar na figura 6.

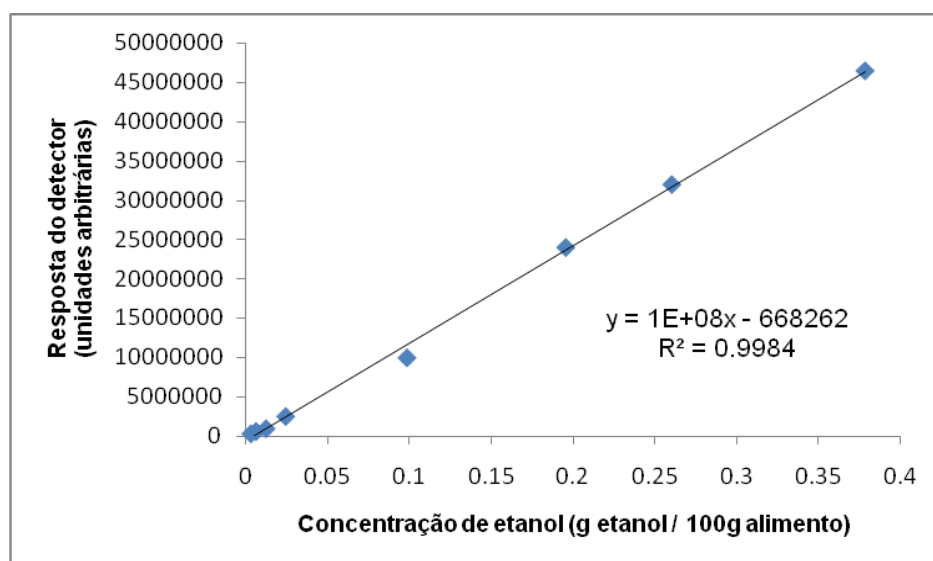


Figura6 – Regressão linear obtida para o etanol na Caldeirada de peixe

Para a amostra de jardineira foram adicionados e homogeneizado uma gama de padrões de forma a obter concentrações de 0,0245; 0,0488; 0,0982 e 0,1960 g de etanol por 100g de alimento cozinhado. A linearidade apresentou uma correlação de 0,999 para o etanol presente nesta matriz, como podemos verificar na figura 7.

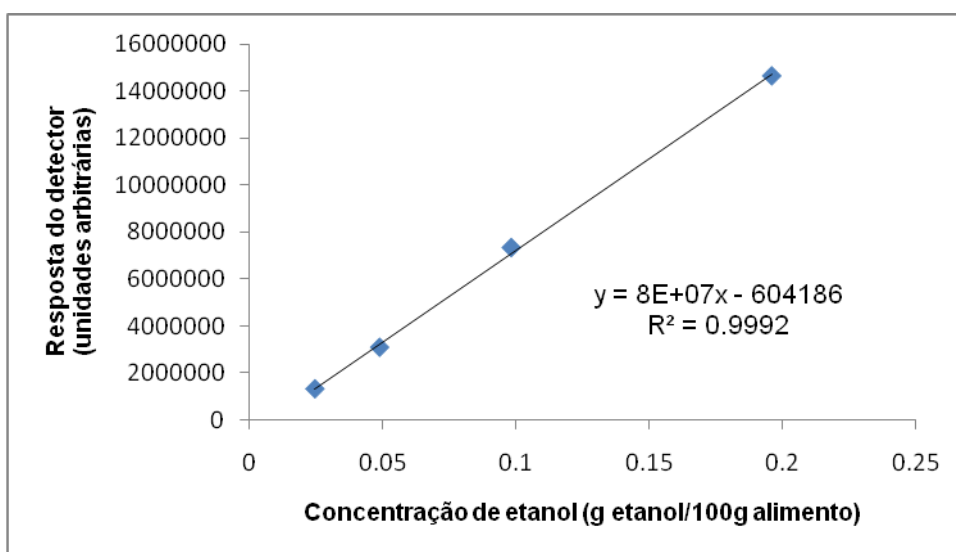


Figura7 – Regressão linear obtida para o etanol na Carne à jardineira

O estudo da linearidade demonstrou que existe uma correlação linear entre a concentração e a área detectada, e podemos trabalhar com segurança nestas gamas de concentrações.

A reprodutibilidade do método otimizado foi avaliada pelo desvio padrão relativo (RSD) obtido em 8 análises da mesma amostra de jardineira (jardineira cozinhada com 100ml de vinho). Obtiveram-se valores médios de RSD de 3,5%. Esta reprodutibilidade foi considerada adequada tendo em conta a natureza sólida da matriz e a determinação das concentrações de etanol serem realizadas no *headspace*. Outros autores (Pinho et al., 2003) referem valores de RSD entre 2,7

e 12,4% para a reprodutibilidade dos álcoois em amostra de queijo. Em amostras de peixe estão descritos valores de RSD entre 4,5 e 6,9 % para álcoois (Iglesias e Medina, 2008).

O limite de detecção (LOD) foi avaliado em amostras reais, tendo em consideração uma razão sinal:ruído de 3:1. Esta avaliação foi realizada com adição de teores muito baixos de etanol a amostras cozinhadas sem adição de vinho e nas quais este composto não tinham sido detectado. O valor de LOD obtido foi de 1 mg/100 g de alimento cozinhado. No que respeita ao limite de quantificação (LOQ), definido para um razão sinal:ruído de 10:1, o valor obtido foi 3 mg/100 g de alimento cozinhado.

4.2- Quantificação de etanol em alimentos processados

O nosso estudo de quantificação do etanol em alimentos processados foi dividido em duas fases. Na primeira estudamos a correlação entre a quantidade inicial de etanol presente nos ingredientes e a concentração final de etanol na refeição, usando o modelo estatístico de regressão, modelo este que permite concluir se existe uma relação, ou não, entre as concentrações iniciais e finais, e prevê qual o comportamento dessa variação. Na segunda fase usamos o método da adição padrão, explicado anteriormente, para a quantificação do etanol.

4.2.1- Caldeirada

Caldeirada é um prato que é preparado com a disposição de diferentes camadas de peixes, cebola, tomate, e ervas aromáticas. Para a realização deste

estudo confeccionou-se caldeirada de peixe com diferentes quantidades adicionadas de vinho branco (13%, alc./vol) segundo receitas em anexo (a1).

Na tabela 4 apresenta-se os valores da concentração inicial de etanol presente nos ingredientes antes do tratamento térmico, e os valores da concentração de etanol presentes na refeição (após tratamento térmico), para a Caldeirada de peixe.

Tabela4 – Concentração de etanol nos ingredientes da Caldeirada de peixe e na refeição

Amostra	Concentração inicial etanol presente nos ingredientes (g etanol/100g alimento)	Concentração média de etanol presente na refeição ± SD (g etanol/100g alimento)
Caldeirada	0,67	0,257 ± 0,005 ^a
	1,34	0,377 ± 0,002 ^b
	2,01	0,674 ± 0,008 ^c

Os índices a, b e c indicam diferenças significativas p<0.05 no teste de Duncan

Os valores de concentração de etanol presentes na Caldeirada após tratamento térmico obtidos variam entre 0,257-0,674g de etanol por 100g de alimento. Constatou-se, por meio da análise de regressão, que essas médias têm uma associação linear positiva e estatisticamente significativa (p<0,001), isto é, quanto maior a concentração inicial de etanol adicionado, maior será a sua concentração final na refeição; com um coeficiente de correlação ajustado de 92,9%. Através do teste de Duncan podemos concluir que existem diferenças significativas para diferentes adições de bebida alcoólica.

Em termos médios, para as diferentes concentrações, verificou-se uma perda de etanol na caldeirada de cerca de 66,6%±4,5. Tendo em conta a tabela de retenção de nutrientes da USDA (tabela1, anteriormente referida), para pratos

cozinhados por 45min, estes valores de perdas de etanol estão dentro dos valores referidos.

4.2.2- Carne estufada

O termo estufar significa – cozinhar um alimento lentamente numa panela tapada, e na sua própria gordura e seu próprio suco. Na realização deste estudo confeccionou-se dois pratos distintos, Carne à Jardineira (com diferentes quantidades adicionadas de vinho tinto, 13,5% alc./vol) e Coelho à caçador (com vinho tinto, 13,5% alc./vol e com vinho desalcoholizado, <5% alc./vol), conforme receitas em anexo (a2, a3).

Na tabela 5 apresenta-se os valores da concentração inicial de etanol presente nos ingredientes antes do tratamento térmico, e os valores da concentração de etanol presentes na refeição (após tratamento térmico), para a Carne à jardineira e o Coelho à caçador.

Tabela5 – Concentração de etanol nos ingredientes da Carne à jardineira e do Coelho à caçador e nas refeições confeccionadas

Amostra	Concentração inicial etanol presente nos ingredientes (g etanol/100g alimento)	Concentração média de etanol presente na refeição ± SD (g etanol/100g alimento)
Jardineira	0,46	0,0275 ± 0,001 ^a
	0,92	0,0524 ± 0,0004 ^b
	1,38	0,0603 ± 0,004 ^c
Coelho à caçador	4,9	0,251 ± 0,002 ^d
	Desconhecida	0,005

Os índices a, b, c e d indicam diferenças significativas p<0.05 no teste de Duncan

Os valores de concentração de etanol presentes na Carne à jardineira após tratamento térmico obtidos variam entre 0,0275-0,0603g de etanol por 100g de alimento, e para o Coelho à caçador entre 0,005-0,251g de etanol por 100g de alimento. Pela análise de regressão constatamos que as médias da Carne à jardineira e do Coelho à caçador têm uma associação linear positiva e estatisticamente significativa ($p < 0,001$) e com um valor do coeficiente de correlação ajustado de 98,7%, isto é, o aumento da concentração de etanol na refeição é determinado em 98,7% pelo aumento na concentração inicial de etanol nos ingredientes. Com o teste de Duncan confirmamos que existem diferenças significativas para diferentes adições de bebida alcoólica.

Em termos médios, para as diferentes concentrações, verificou-se uma perda de etanol na Carne à jardineira e Coelho à caçador de cerca de $94,8\% \pm 0,5$. Tendo em conta a tabela de retenção de nutrientes da USDA (tabela1, anteriormente referida), estes valores de perdas de etanol estão muito abaixo dos valores referidos (75% de perda para pratos cozinhados durante 1 hora). Estas diferenças podem deve-se ao método de confecção, no qual o vinho é adicionado refogado a ferver.

4.2.3- Carne grelhada marinada

Grelhar é colocar alimentos para cozinhar sobre a grelha posta sobre brasas, ou sobre o fogão. As amostras de bifes grelhados marinados em vinho tinto (13,5% alc./vol) e em cerveja (5% alc./vol) para este estudo foram confeccionadas segundo receita em anexo (a4).

A quantificação do etanol presente nos bifes marinados após grelhar, foi efectuada pelo método da adição de padrões, com dois níveis de adição diferentes. As curvas de calibração obtidas apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,996. Na tabela 6 apresenta-se os valores das concentrações de etanol presentes nas amostras de carne grelhada após marinada com cerveja e com vinho. A concentração de álcool retido na amostra é variável dependendo da concentração inicial de álcool na marinada.

Tabela6 – Concentração de etanol presente nas amostras de bifes grelhados marinados com cerveja e com vinho

Amostra	Concentração média de etanol presente na carne grelhada \pm SD (g etanol/100g alimento)
Bife marinado cerveja	0,0800 \pm 0,0004
Bife marinado vinho	0,153 \pm 0,0043

4.2.4- Sobremesas contendo bebidas alcoólicas

Para a realização deste estudo foram confeccionadas duas sobremesas: Mexidos do norte (com diferentes quantidades adicionadas de Vinho do Porto 20% alc./vol) e Pêra bêbeda (vinho tinto 13,5% alc./vol); conforme receitas em anexo (a5, a6).

A quantificação do etanol presente nas sobremesas, foi efectuada pelo método da adição de padrões, com dois níveis de adição diferentes, e as curvas de calibração obtidas apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,971. Na tabela 7 apresenta-se os valores da concentração de etanol presentes

na refeição (após tratamento térmico), para os Mexidos do norte e para a Pêra bêbeda. Nos Mexidos no norte não se verificaram diferenças significativas na concentração de etanol nas amostras preparadas com diferentes quantidades adicionadas de vinho do Porto, provavelmente, porque este é adicionado aos ingredientes quentes e em recipiente aberto até adquirir a consistência adequada. Na pêra bêbeda embora a quantidade inicial de vinho seja grande, ferve durante um longo período em recipiente aberto.

Tabela7 – Concentração de etanol presente nas amostras de Mexidos do norte e Pêra bêbeda

Amostra	Concentração inicial etanol presente nos ingredientes (g etanol/100g alimento)	Concentração média de etanol presente nas sobremesas \pm SD (g etanol/100g alimento)
Mexidos do Norte	0,42	0,0246 \pm 0,0005 ^a
	0,62	0,0247 \pm 0,0004 ^a
Pêra bêbeda	3,55	0,0566 \pm 0,0015

Os índices a indica que não se observaram diferenças significativas $p > 0.05$ no teste de Duncan

4.2.5- Produtos industrializados

Para a análise da concentração de etanol presente em produtos industrializados, adquirimos os seguintes produtos: Kinder delice (não refere etanol na lista de ingredientes), Chipicao delicia (inclui etanol como ingrediente) e Molho whisky (whisky na lista de ingredientes). Os ingredientes destes respectivos produtos encontram-se em anexo (a7).

Efectuamos o método da adição de padrões para a quantificação do etanol presente nestes produtos e obtivemos curvas de calibração com coeficientes de correlação superiores a 0,990.

Na tabela 8 apresenta-se os valores da concentração de etanol presentes nos produtos Kinder delice, Chipicao delicia e Molho whisky.

Tabela8 – Concentração de etanol presente em Kinder delice, Chipicao delicia e Molho whisky

Amostra	Concentração média de etanol presente na refeição \pm SD (g etanol/100g alimento)
Kinder delice	0,124 \pm 0,0005
Chipicao Delicia	0,0724 \pm 0,004
Molho whisky	0,0039 \pm 0,00002

4.3 - Características sensoriais do Coelho à Caçador e Mexidos do Norte

A análise sensorial, segundo o IFT (Institute of Food Technology), é uma medida científica usada para invocar, medir, analisar e interpretar as reacções características dos alimentos que são percebidas pelos sentidos da visão, da audição, do olfacto, do gosto e do tacto. Com o intuito de testar a sensibilidade dos consumidores para essas características, quando confeccionamos receitas em que incluem a adição de etanol (incluído na bebida alcoólica), realizamos testes sensoriais a um painel treinado (referido no ponto 3.6) dando a provar: duas refeições de Coelho à caçador – uma com adição de vinho tinto conforme receita, e outra com adição de um vinho tinto desalcoholizado, referido como um substituto não alcoólico do vinho tinto; e três sobremesas de Mexidos do norte - uma com adição de Vinho do Porto conforme receita, outra com maior quantidade de vinho e outra com adição de sumo de arando vermelho, referido como um substituto não alcoólico de vinho do Porto.

4.3.1 – Avaliação da análise sensorial do Coelho à Caçador

Em geral, os dados obtidos para cada atributo apresentaram distribuição simétrica e mesocúrtica, deste modo, efectuou-se o tratamento estatístico dos resultados pelo teste-t que indicou diferenças significativas ($p < 0,05$) para alguns atributos nas amostras de Coelho à caçador confeccionado com vinho e com o substituto.

No que se refere às características sensoriais, odor a vinho, aroma a vinho, sabor a vinho, sabor a álcool, sabor amargo e apreciação global, verificaram-se diferenças significativas. Contudo, não foram notadas diferenças significativas para todos os outros atributos (cor a vinho, textura, odor intenso, odor a coelho, aroma intenso, aroma persistente, aroma a coelho, equilíbrio no aroma, sabor doce). Os resultados médios, obtidos a partir do painel para os 15 atributos sensoriais, nas amostras em análise estão representados na Figura 8.

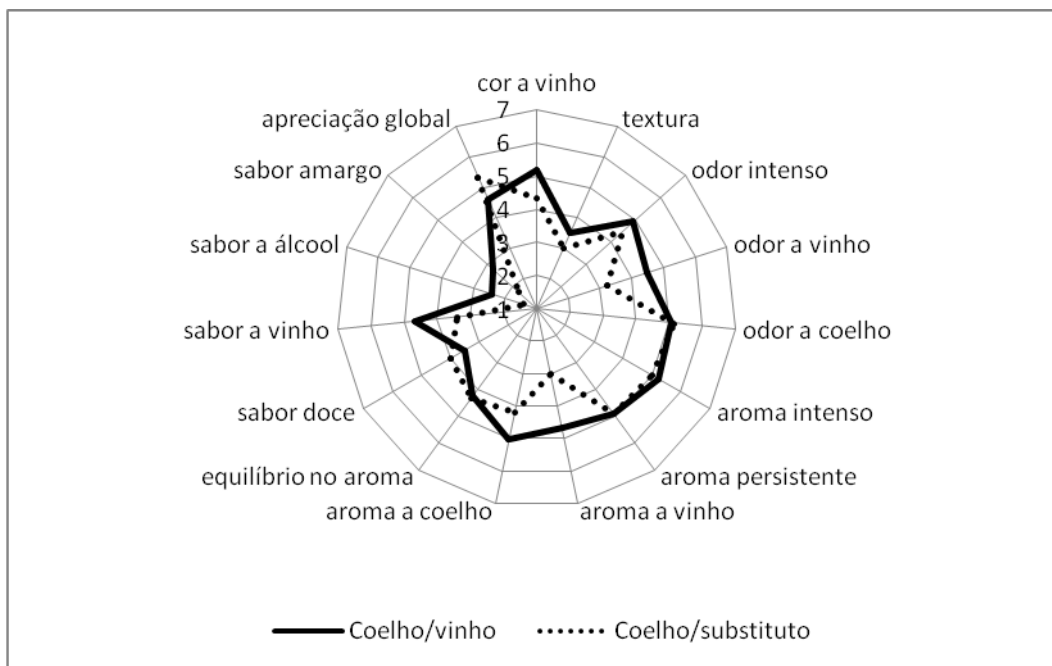


Figura8: Resultados médios para os 15 atributos sensoriais nas amostras coelho à caçador (confeccionado com vinho tinto e com substituto não alcoólico)

4.3.2 - Avaliação da análise sensorial dos Mexidos do norte

A análise da variância aplicada aos Mexidos do norte, apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em alguns dos atributos definidos para as amostras de Mexidos confeccionadas com diferentes quantidades de Vinho do Porto adicionado e com substituto do Vinho do Porto. Os dados obtidos para os diferentes atributos avaliados apresentaram distribuição simétrica e mesocúrtica.

No que se refere à característica sensorial do aspecto geral – cor – verificaram-se diferenças significativas nas três amostras. Relativamente às características aparência, sabor doce, sabor a mel e sabor a vinho do porto o painel encontrou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os mexidos com maior quantidade de vinho do Porto adicionada, mas não encontrou diferenças significativas quer entre os mexidos com menor quantidade de vinho do Porto quer com os mexidos confeccionadas com substituto. Não foram detectadas diferenças significativas para todos os outros atributos (brilho, odor intenso, odor a mel, odor a vinho, aroma intenso, aroma persistente, aroma a mel, equilíbrio no aroma, sabor adstringente, apreciação global). Os resultados médios, obtidos a partir do painel para os 15 atributos sensoriais, nas amostras em análise estão representados na Figura 9.

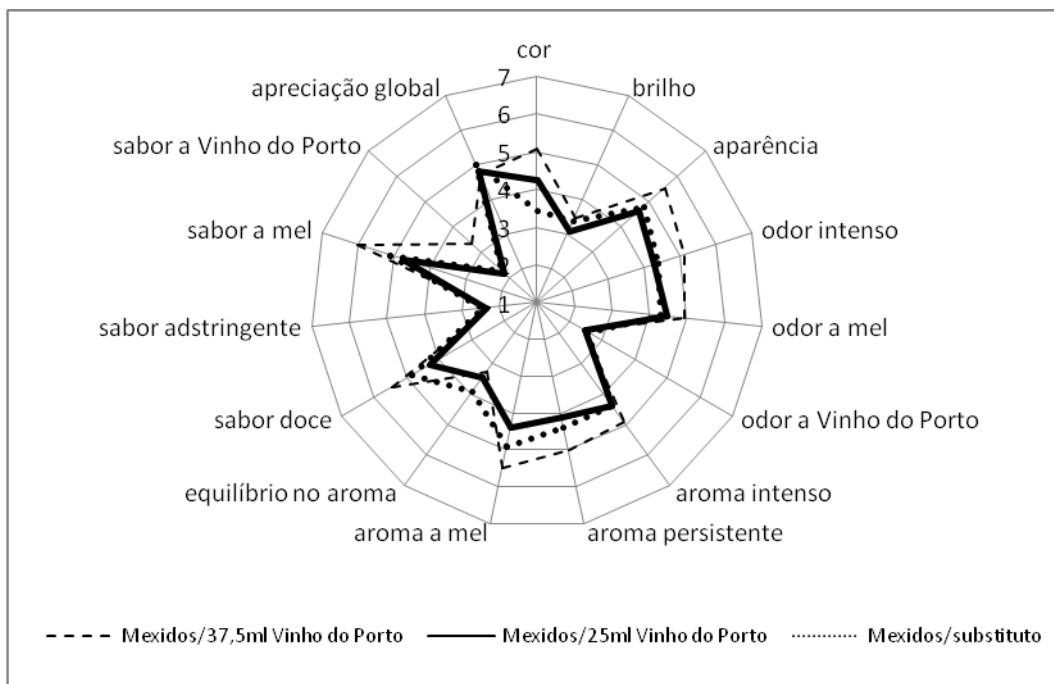


Figura9: Resultados médios para os 15 atributos sensoriais nas amostras de mexidos do norte (confeccionado com 25ml de vinho do Porto, 37,5ml de vinho do Porto e com substituto não alcoólico)

4.4 – Concentração de álcool no sangue após refeição cozinhada com bebidas alcoólicas

Muitas das recomendações e limites de consumo de etanol propostos na literatura estão sob a forma de concentração de álcool no sangue. Para transpor a quantidade de álcool que ingerimos numa refeição cozinhada com bebidas alcoólicas, em concentração de álcool no sangue (BAC) aplicamos uma expressão matemática proposta por Winek, no jornal Forensic Sciences em 1984 (expressão adaptada às unidades de peso portuguesas):

$$BAC = \left(\frac{68.04}{\text{peso corporal (kg)}} \right) \left(\frac{\% \text{ etanol}}{50} \right) \left(\frac{\text{quantidade consumida (g)}}{28.35} \right) (0.025)$$

Na aplicação desta fórmula aos pratos confeccionados para este estudo, e para a quantificação do BAC para diferentes faixas etárias, são necessários dados de peso corporal e peso dos alimentos consumidos. Para os valores do peso corporal, utilizamos os dados do Boletim de saúde infantil e juvenil, do Ministério da Saúde, tendo em conta o percentil 50. Atendendo a que não há valores padronizados de peso de uma refeição, estimamos o seu valor utilizando o Manual de quantificação de alimentos (Marques et al., 1996), e a opinião de crianças e jovens das idades pretendidas. Não foi incluído na tabela o Molho de whisky, por este se limitar a apenas 1-2 colheres de quantidade ingerida. Os dados estão apresentados na tabela 9.

Refeição	Idade	Quantidade ingerida (g)	Peso corporal meninas (Kg)	Peso corporal rapazes (Kg)	BAC Meninas (mg/Kg de peso corporal)	BAC Meninas (mg/100ml de sangue)	BAC Rapazes (mg/Kg de peso corporal)	BAC Rapazes (mg/100ml de sangue)
Caldeirada de Peixe (0,377 g etanol/100g alimento)	5	150-170	18	18	3,77-4,27	4,71-5,34	3,77-4,27	4,71-5,34
	10	250-280	32	32	3,53-3,96	4,42-4,95	3,53-3,96	4,42-4,95
	15	400-430	52	55	3,48-3,74	4,35-4,68	3,29-3,54	4,11-4,42
	18	480-510	56	67	3,88-4,12	4,85-5,15	3,24-3,44	4,05-4,30
Carne à Jardineira (0,052 g etanol/100g alimento)	5	150-170	18	18	0,52-0,59	0,66-0,74	0,52-0,59	0,66-0,74
	10	250-280	32	32	0,49-0,55	0,61-0,69	0,49-0,55	0,61-0,69
	15	400-430	52	55	0,48-0,52	0,61-0,65	0,46-0,49	0,57-0,61
	18	500-510	56	67	0,56-0,57	0,70-0,72	0,47-0,48	0,59-0,60
Coelho à Caçador / sem acompanhamento (0,251 g etanol/100g alimento)	5	80-100	18	18	1,34-1,67	1,67-2,09	1,34-1,67	1,67-2,09
	10	120-140	32	32	1,13-1,32	1,41-1,65	1,13-1,32	1,41-1,65
	15	170-190	52	55	0,99-1,10	1,23-1,38	0,93-1,04	1,16-1,30
	18	250-270	56	67	1,35-1,45	1,68-1,82	1,12-1,21	1,40-1,52
Bife grelhado Marinado com Cerveja (0,025 g etanol/100g alimento)	5	60-70	18	18	0,32-0,37	0,40-0,47	0,32-0,37	0,40-0,47
	10	100-120	32	32	0,30-0,36	0,38-0,45	0,30-0,36	0,33-0,37
	15	150-170	52	55	0,28-0,31	0,35-0,39	0,26-0,30	0,33-0,37
	18	190-200	56	67	0,33-0,34	0,41-0,43	0,27-0,29	0,34-0,36
Bife grelhado Marinado com Vinho (0,025 g etanol/100g alimento)	5	60-70	18	18	0,61-0,71	0,77-0,89	0,61-0,71	0,77-0,89
	10	100-120	32	32	0,58-0,69	0,71-0,86	0,57-0,69	0,72-0,86
	15	150-170	52	55	0,53-0,60	0,66-0,75	0,50-0,57	0,63-0,71
	18	190-200	56	67	0,62-0,66	0,78-0,82	0,52-0,55	0,65-0,69

Refeição	Idade	Quantidade ingerida (g)	Peso corporal meninas (Kg)	Peso corporal rapazes (Kg)	BAC Meninas (mg/Kg de peso corporal)	BAC Meninas (mg/100ml de sangue)	BAC Rapazes (mg/Kg de peso corporal)	BAC Rapazes (mg/100ml de sangue)
Mexidos do Norte (0,025 g etanol/100g alimento)	5	50-60	18	18	0,08-0,10	0,10-0,12	0,08-0,10	0,10-0,12
	10	90-100	32	32	0,08-0,09	0,10-0,12	0,08-0,09	0,10-0,11
	15	120-140	52	55	0,07-0,08	0,09-0,10	0,06-0,08	0,08-0,09
	18	150-180	56	67	0,08-0,10	0,10-0,12	0,07-0,08	0,08-0,10
Pêra bêbeda (0,025 g etanol/100g alimento)	5	50-60	18	18	0,19-0,23	0,24-0,28	0,19-0,23	0,24-0,28
	10	90-100	32	32	0,19-0,21	0,24-0,27	0,19-0,21	0,24-0,27
	15	120-140	52	55	0,16-0,18	0,20-0,23	0,15-0,17	0,19-0,22
	18	150-180	56	67	0,18-0,22	0,23-0,27	0,15-0,18	0,19-0,23
Chipicao Delicia (0,072 g etanol/100g alimento)	5	30	18	18	0,14	0,18	0,14	0,18
	10	30	32	32	0,08	0,10	0,08	0,10
	15	30	52	55	0,05	0,06	0,05	0,06
	18	30	56	67	0,05	0,06	0,05	0,05
Kinder Delice (0,125 g etanol/100g alimento)	5	42	18	18	0,35	0,44	0,35	0,44
	10	42	32	32	0,20	0,25	0,20	0,25
	15	42	52	55	0,12	0,15	0,12	0,14
	18	42	56	67	0,11	0,14	0,11	0,12

Os cálculos na tabela apresentam-se em mg/Kg peso corporal, no entanto para comparar com a literatura é mais adequado converter em mg/100ml de sangue, considerando que cada Kg corporal tem cerca de 8% de sangue (Faller e Schuenke 2004). Desta forma, apresentando os cálculos para a ingestão dos pratos confeccionados com bebidas alcoólicas, o teor de álcool no sangue da criança/jovem encontram-se entre os 4,05-5,34 mg/100ml de sangue para a caldeirada de peixe, 0,57-0,74 mg/100ml de sangue para a carne à jardineira, 1,16-2,09 mg/100ml de sangue para o coelho à caçador, 0,33-0,47 mg/100ml de sangue para o bife grelhado marinado com cerveja, 0,63-0,89 mg/100ml de sangue para o bife grelhado marinado com vinho, 0,12-0,08 mg/100ml de sangue para os mexidos do norte, 0,28-0,19 mg/100ml de sangue para pêra bêbeda, 0,05-0,18 mg/100ml de sangue para o chipicao delicia, e 0,12-0,44 mg/100ml de sangue para o kinder delice.

Tendo em conta o valor de álcool no sangue que manifesta efeitos no sistema nervoso das crianças, exposto anteriormente no ponto 1.3, nomeadamente nas mudanças comportamentais, nos efeitos de decréscimo no tempo de reacção e descoordenação, em que existem casos descritos de efeitos sentidos em concentrações de etanol presentes no sangue de apenas 1mg/100ml (American Academy of pediatrics, committee on drug, 1984); e tendo em conta os valores de álcool no sangue ao ingerir as refeições em estudo, seria desaconselhada a ingestão de apenas dois dos pratos: a caldeirada de peixe e o coelho à caçador. Não estão definidos limites mínimos de concentração de álcool no sangue para os indivíduos com alergia/intolerância ao etanol (Vally e Thompson, 2003), e uma vez que os efeitos podem ser sentidos com os valores

presentes nas refeições estudadas, é necessária uma precaução com este grupo. Em relação aos alcoólicos em recuperação, os efeitos do síndrome de abstinência são desencadeados através do odor e do sabor das bebidas alcoólicas (Maccionia et al., 2004), e como podemos observar através do estudo sensorial, os mesmos são sentidos nas refeições confeccionadas com bebidas alcoólicas, pelo que estas são desaconselhadas.

5- CONCLUSÃO

Na realização deste trabalho foi desenvolvido e otimizado um método analítico para quantificar o etanol em refeições e produtos alimentares industrializados preparadas com bebidas alcoólicas / etanol. A metodologia utilizada de HS-SPME-GC/MS, revelou-se adequada para dosear o etanol em refeições.

- As condições seleccionadas para HS-SPME-GC/MS demonstraram que a técnica apresenta linearidade e elevada reprodutibilidade. Os resultados obtidos evidenciam que o método é fiável, tendo em consideração tratar-se de uma amostra com matriz sólida e a espécie a analisar ser determinada em headspace.
- Neste trabalho foi possível quantificar o teor de etanol em todos os pratos confeccionados com bebida alcoólica (Caldeirada de peixe, Carne à Jardineira, Coelho à Caçador, Bifes Marinados Grelhados, Pêra Bêbeda e Mexidos do Norte) e produtos alimentares industrializados que referem adição de bebida alcoólica / etanol na sua composição (Chipicao Delicia, Kinder Delice, Molho Whisky Cocktail).
- Nas refeições cozinhadas com diferentes quantidades adicionadas de bebida alcoólica (caldeirada de peixe, jardineira de carne e coelho à caçador), verificou-se que quanto maior a concentração de etanol inicial adicionado, maior a sua concentração final. Observou-se também, que existe uma maior perda no teor de etanol quando a bebida alcoólica é adicionada ao refogado a ferver.
- Nas sobremesas confeccionadas (Mexidos no norte e pêra bêbada) pudemos constatar que a perda de etanol é elevada, ao cozinhar em

recipiente aberto e durante um longo período até diminuir a humidade e adquirir a consistência adequada.

- A avaliação da análise sensorial encontrou diferenças significativas entre pratos cozinhados com adição de vinho quando comparado com o mesmo prato cozinhado com o seu substituto não alcoólico. Na análise sensorial do coelho à caçador encontraram-se diferenças significativas em alguns atributos sensoriais relacionados com o vinho bem como a apreciação global, onde evidenciam uma preferência pelo prato cozinhado com o substituto (vinho desalcoholizado). Na análise sensorial dos mexidos do norte encontraram-se diferenças significativas em alguns atributos sensoriais relacionados com o Vinho do Porto, não se verificando diferenças na apreciação global. Podemos assim inferir que em termos de características organolépticas, os substitutos documentados na literatura, são uma alternativa na preparação dos alimentos para crianças, alguns grupos de risco e alcoólicos em recuperação.
- Ao analisar o teor de etanol presentes nas refeições, e transpondo para concentração de etanol presente no sangue, verificamos que, em crianças, esta concentração é superior a 1mg/100 ml de sangue com a ingestão de caldeirada de peixe e coelho á caçador, o que pode lhes provocar mudanças comportamentais, decréscimo no tempo de reacção e coordenação. No que se refere a indivíduos com alergia/intolerância ao etanol bem como alcoólicos em recuperação, os efeitos adversos podem ser sentidos com quantidades abaixo das refeições estudadas. Assim, parece desaconselhável o uso de bebidas alcoólicas na confecção de alguns pratos.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Academy of pediatrics, committee on drugs. Ethanol in liquid preparations intended for children, *Pediatrics* 1984. 73(3):405-407.

Arjona A, Boyadjieva N, Kuhn P, Sarkar DK. Fetal Ethanol Exposure Disrupts the Daily Rhythms of Splenic Granzyme B, IFN-c, and NK Cell Cytotoxicity in Adulthood. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2006. 30(6).

Armarega WLF, Chai CLL. *Purification Laboratory Chemicals: sixth edition.* Butterworth-Heinemann; 2009.

Armstrong TW, Zaleski RT, Konkel WJ, Parkerton TJ. A tiered approach to assessing children's exposure: a review of methods and data. *Toxicology Letters* 2002.127:111–119.

Augustin J, Augustine E, Cutrufelli RL, Hagen SR, Teitzel C. Alcohol retention in food preparation. *Journal of the American Dietetic Association* 1992. 92(4):486:488.

Barra A, Baldovini N, Loiseau AM, Albino L, Leseq C, Lizzani LC. Chemical analysis of French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation/extraction (SDE). *Food Chemistry* 2007. 101:1279–1284.

Bender DA. *Bender's dictionary of nutrition and food technology: Eighth edition.* CRC Press; 2006.

Bíblia Sagrada: edição revista e corrigida. Sociedades Bíblicas Unidas. Portugal, 1989.

Brunton NP, Cronin DA, Monahan FJ. The effects of temperature and pressure on the performance of Carboxen/PDMS fibres during solid phase microextraction (SPME) of headspace volatiles from cooked and raw turkey breast. *Flavour and fragrance Journal* 2001; 16:294–302.

Caldeira M, Rodrigues F, Perestrelo R, Marques JC, Câmara JS. Comparison of two extraction methods for evaluation of volatile constituents patterns in commercial whiskeys: Elucidation of the main odour-active compounds. *Talanta* 2007. 74:78–90.

Cardeal ZL, Moreira EMG, Parreira FV. Analysis of volatile compounds in some typical Brazilian fruits and juices by SPME-GC method. *Food Additives and Contaminants*, June 2005. 22(6): 508–513.

Centro Regional de Alcoologia do Sul. Declaração sobre os Jovens e o Álcool (Adoptada em Estocolmo a 21 de Fevereiro de 2001). 2001

Chudler EH. *Neuroscience for kids: Alcohol*. Washington Faculty; 2007 [citado em 2009 Jul 23]. Disponível em:

<http://faculty.washington.edu/chudler/alco.html>

Clugston M, Flemming R. *Advanced Chemistry*. Oxford university press; 2000.

Commission of the European Communities. Communication from the commission to the council, the European parliament, the European economic and social committee and the committee of the regions. Brussels; 2006.

Faller A, Schuenke M. *The human body: An introduction to structure and function*. Germany: Thieme, 2004.

Filippone PT. Alcohol substitutions and cooking tips: Why use alcohol in recipes? About.com; 2009 [citado em 2009 Jul 23]. Disponível em: <http://homecooking.about.com/od/alcohol/a/alcoholsub.htm>

Gurr M. Alcohol: Health Issues Related to Alcohol Consumption. ILSI Europe. Belgium, 1996.

Hahn PR. The everything diabetes cookbook. Adams Media, 2003.

He L, Serrero G, Simmen FA, Ronis MJ, Badger TM. Dose dependent effects of alcohol on insulin signaling: Partial explanation for biphasic alcohol impact on human health. *Molecular Endocrinology* 2007. 21(10):2541-2550.

Holley K, Pennington M, Phillips P. Gas chromatography in food analysis: an introduction. *Nutrition & Food Science* 1995. 95(5):10-12.

Iglesias J, Medina I. Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds associated to oxidation of fish muscle. *Journal of Chromatography A* 2008. 1192:9–16.

International Center for Alcohol Policies. Table: International Drinking Guidelines. ICAP 2007 [citado em 2009 Jul 8]. Disponível em: <http://www.icap.org/PolicyIssues/DrinkingGuidelines/StandardUnitsTable/tabid/253/Default.aspx>

Karch SB. Forencis issues in alcohol testing. CRC Press, 2008.

Letenneur L, Risk of Dementia and Alcohol and Wine Consumption: a Review of Recent Results, *Biologic Research* 2004; 37:189-193.

Livy DJ, Maier SE, West JR. Long-Term Alcohol Exposure Prior to Conception Results in Lower Fetal Body Weights. *Birth Defects Research* 2004. 71:135–141.

López-Vélez M, Martínez-Martínez F, Del Valle-Ribes C. The Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2003. 43(3): 233-244.

Lucarini M, Di Lullo G, Cappelloni M, Lombardi-Boccia G. In vitro estimation of iron and zinc dialysability from vegetables and composite dishes commonly consumed in Italy: effect of red wine. *Food Chemistry* 2000. 70:39-44.

Maccionia P, Orrú A, Korkosz A, Gessa GL, Carai MAM, Colomba G, Bienkowski P. Cue-induced reinstatement of ethanol seeking in Sardinian alcohol-preferring rats. *Alcohol* 2007. 41:31-39.

Marco A, Navarro JL, Flores M. Quantitation of Selected Odor-Active Constituents in Dry Fermented Sausages Prepared with Different Curing Salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007. 55:3058-3065.

Marques M, Pinho O, de Almeida MDV. Manual de quantificação dos alimentos. Porto: Edição do Curso de Ciências da Nutrição da Universidade do Porto; 1996.

Mitchell P. *The spirited vegetarian: over 100 recipes made lively with wine and spirits*. Rodale, 2005.

Nunes C, Coimbra MA., Saraiva J, Rocha SM. Study of the volatile components of a candied plum and estimation of their contribution to the aroma. *Food Chemistry* 2008. 111:897–905.

Ogden EJD, Cairns I, Curry E. Impairment of Learning by Low Dose Alcohol: Proceedings of the 13th International Conference on Alcohol, Drugs and Traffic Safety. NHMRC Road Accident Research Institute Adelaide 1995. 2:627-632.

Pinho O, Ferreira IMPLVO, Santos LHMLM. Method optimization by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. *Journal of Chromatography* 2006. 1121:145–153.

Pinho O, Pérès C, Ferreira IMPLVO. Solid-phase microextraction of volatile compounds in “Terrincho” ewe cheese : Comparison of different fibers. *Journal of Chromatography A* 2003. 1011:1–9.

Rodrigues F, Caldeira M, Câmara JS. Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC–qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages. *Analytica Chimica Acta* 2008. 609:82-104.

Sacco RL, Elkind M, Boden-Albala B, Lin IF, Kargman DE, Allen WH, Shea S, Paik MC. The Protective Effect of Moderate Alcohol Consumption on Ischemic Stroke;. *JAMA* 1999. 281(1):53-60.

The Merck Index: thirteenth edition. Merck&Co, Inc; 2001.

Tong Z, Guanghan L, Xin Y. Solid-phase microextraction determination of alcohol using pencil lead. *Analytical Letters* 2001; 34:627–634.

Truelsen T, Thudium D, Grønbæk M. Amount and type of alcohol and risk of dementia. *Neurology* 2002. 59:1313-1319.

U.S. Department of Health and Human Services. Alcohol Alert, number 72, April. NIAAA Publications Distribution Center; 2007.

Vally H, Thompson PJ. Invited review: Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks. *Addiction Biology* 2003. 8:3–11.

WHO: World Health Organization. Environmental Health Criteria 237: Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. 2006

Winek CL. Blood alcohol levels: Factors affecting predictions. Trial: The National Legal Magazine 1983.19:38-47.

Wolke RL. What Einstein Told His Cook. W. W. Norton & Company, 2002.
World Health Organization: Department of Mental Health and Substance Abuse. Global Status Report on Alcohol 2004. Geneva, 2004.

ANEXOS

CALDEIRADA DE PEIXE

Ingredientes:

- Cebola – ½
- Batata – 250g
- Tomate inteiro em lata – 2
- Pimento – 2 tiras
- Alho – 1 dente
- Peixe – 150g (congro, perca, sardinha)
- Salsa
- Sal – 1 colher de sobremesa
- Azeite – 1 colher de sopa
- 150ml de líquido
 - caçarola 1: 150ml de água
 - caçarola 2: 100ml de água + 50ml de vinho branco
 - caçarola 3: 50ml de água + 100ml de vinho branco
 - caçarola 4: 150ml de vinho branco

Preparação:

Descascar, Cortar em pedaços e Colocar os ingredientes em camadas numa caçarola.

Deixar cozinhar tapado em lume médio por 45min.

CARNE À JARDINEIRA

Ingredientes:

- Cebola – 70g
- Alho – 6g
- Cenoura – 40g
- Ervilhas – 40g
- Azeite – 24g
- Salsa – algumas folhas
- Tomate inteiro em lata – 90g + 26g líquido
- Água – 100ml
- Batata – 250g

Preparação:

Descascar, Cortar em pedaços e Colocar os ingredientes em camadas numa caçarola. Refogar por 5min.

Adicionar 100ml água e 156g carne de vaca cortada em cubos e Cozinhar por 20min.

Adicionar 350ml de líquido:

- caçarola 1: 350ml agua
- caçarola 2: 300ml de água + 50ml de vinho tinto
- caçarola 3: 250ml de água + 100ml de vinho tinto
- caçarola 4: 200ml água + 150ml de vinho tinto

Adicionar as batatas e cozinhar por 1 hora.

COELHO À CAÇADOR

Ingredientes

- 1 coelho
- 1 (0,750ml) garrafa de vinho tinto / 1 (0,750ml) garrafa de vinho tinto desalcoholizado
- 2 folhas de louro
- 150g de toucinho
- 2 cebolas grandes
- 1 cabeça de alhos
- 1 dl de azeite
- 2 tomates pelados
- 2 dl de calda de tomate

Preparação

Numa tigela, colocar o coelho, o louro, os dentes de alho esmagados com uma pancada mas conservando a casca e regue tudo com o vinho tinto, que deve cobrir a carne. Deixar marinar por 8 horas.

Num tacho, colocar o azeite e fritar as cebolas cortadas em rodelas finas e o toucinho em tirinhas.

Quando alourarem introduzir os tomates desfeitos grosseiramente e a calda de tomate e por fim a carne com a marinada. Tapar e deixar cozinhar por 1 hora.

BIFE MARINADO (COM CERVEJA E VINHO) GRELHADO

Preparação

Colocar 2 bifés em 2 recipientes. Cobrir totalmente cada bife, um com vinho tinto e outro com cerveja, tapar o recipiente. Marinar os bifés por 6 horas.

Grelhar num grelhador metálico à temperatura de 160 e 180 °C por 8 minutos (4 minutos de cada lado).

MEXIDOS DO NORTE

Ingredientes

- ½ l de água
- ½ casca de limão
- ½ pau de canela
- 0,25 dl de vinho do Porto / 0,375 dl de vinho do Porto / 0,25 dl de sumo de arando vermelho
- 2 dl de mel
- 75g de amêndoa picada
- 25g de sultanas
- 125g de miolo de pão de forma

Preparação

Levar a água ao lume com a casca de limão, o pau de canela, o vinho do Porto e o mel e deixar ferver durante 20 minutos sobre lume brando.

Adicionar as amêndoas picadas e as sultanas. Mexer e deixar ferver mais 10 minutos.

Entretanto, cortar o miolo do pão de forma em bocadinhos e escaldar com um pouco de água quente. Espremer bem e juntar ao preparado anterior. Deixar ferver, mexendo sempre até secar. Deitar num prato fundo ou numa travessa e deixar arrefecer.

PÊRA BÊBEDA

Ingredientes:

6 peras

4 dl de vinho tinto

1/2 chávena de açúcar

1 casca de limão (só a parte amarela)

1 pau de canela

Preparação:

Escolher peras pouco maduras, não muito grandes e tanto quanto possível do mesmo tamanho. Descascar, deixando-as com os pés e inteiras.

Dentro de uma caçarola, levar ao lume o vinho, o açúcar, a casca de limão e o pau de canela. Deixar ferver em lume brando durante 2 ou 3 minutos e colocar as peras em pé na caçarola, numa só camada. Deixar ferver em lume brando durante cerca de 30 minutos. Retirar as peras com cuidado, utilizando uma escumadeira.

Apurar a calda até ficar espessa e retirar os aromas.

CHIPICAO DELICIA

- Produto de pastelaria com recheio de cacau

Ingredientes: recheio de cacau 29% [gordura vegetal parcialmente hidrogenada, açúcar, xarope de milho, água, cacau magro em pó 6%, humidificante (glicerol), leite magro em pó 0.7%, álcool, emulsionante (lecitina de soja), aroma de baunilha], farinha de trigo 18%, xarope de açúcar invertido, ovo 3.7%, açúcar, xarope de milho, humudificantes (sorbitol e glicerol), óleo de semente de algodão, cobertura [açúcar, óleo vegetal parcialmente hidrogenado, leite magro em pó 0.1%, soro de leite em pó, cacau magro em pó 0.1%, emulsionante (lecitina de soja), aroma de baunilha], cacau magro em pó 3%, emulsionantes (mono e diglicéridos de ácidos gordos).

KINDER DELICE

Ingredientes: açúcar, gorduras vegetais não hidrogenadas, leite inteiro 10%, farinha de trigo (8,5%), ovos, xarope de glucose-frutose, leite desnatado em pó (5%), cacau magro (3%), óleo vegetal não hidrogenado, cacau (2%), soro lácteo, aromas, levedantes químicos (carbonato de amónio, hidrogenocarbonato de sódio), sumo de limão, emulsionantes (mono e diglicéridos de ácidos gordos, lecitina de soja), soro de leite concentrado, sal.