

ARTÍCULO

Presencia de ácidos grasos trans en productos de bollería y de aperitivo

Iciar Astiasarán*, Diana Ansorena, Andrea Echarte, Rebeca Ollé, María Pascual

Departamento de Ciencias de la Alimentación y Fisiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Irunlarrea s/n, 31008 Pamplona, Spain

*e-mail: iastiasa@unav.es

Recibido el 29 de octubre de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 4 (2013), pag. 646-657

RESUMEN

Los productos de bollería y los snacks han sido elaborados tradicionalmente con grasas parcialmente hidrogenadas, implicando altos porcentajes de grasa en dichos alimentos y una alta presencia de ácidos grasos trans (AGT). En este trabajo se analizó el contenido en grasa, AGT y ácidos grasos saturados (AGS) de productos comerciales correspondientes a bollería (8) y snacks (4), adquiridos en los dos últimos años. La cantidad de grasa en estos productos fue alta (20-32%). Sin embargo, la cantidad de AGT no superó la media de 0,2 g/100 g producto. La cantidad de AGS fue de 4-18 g/100 g producto. Se puede concluir que, si bien la cantidad total de grasa y de AGS sigue siendo elevada en este tipo de productos, su contenido en AGT no lo es, y por tanto, no debería emplearse la cantidad de AGT como argumento para su no recomendación.

Palabras clave: Grasas hidrogenadas; Fracción lipídica; Tablas de composición de alimentos.

ABSTRACT

Trans fatty acids in bakery products and snacks

Bakery products and snacks have been traditionally elaborated with partially hydrogenated oils, leading to high fat content and high trans fat (TFA) content in these products. In this paper we analyzed the fat content, TFA and saturated fatty acids (SFA) of commercial products (bakery 8, and snacks 4), purchased during the last two years. The amount of fat in these products was high (20-32%). However, mean values for TFA were always lower than 0.2g/100g product. The amount of SFA was 4-18g/100g product. It can be concluded that, although the total fat and SFA remained still high in these types of products, TFA content was

low, and it can not be used as a reason for not recommending their intake.

Keywords: Hydrogenated fats; Lipid fraction; Food composition tables.

1. INTRODUCCIÓN

La fracción lipídica de los alimentos ha sido estudiada en las últimas décadas con gran profusión, al ir acumulándose evidencias de la importancia de la ingesta de esta fracción en la salud.

Las evidencias científicas existentes en la actualidad no dejan lugar a dudas sobre los efectos negativos de los ácidos grasos trans (AGT) sobre la salud. Tanto estudios observacionales como de intervención nutricional han puesto de manifiesto su efecto adverso en los perfiles plasmáticos de lipoproteínas (incrementan el LDL-colesterol, disminuyen el HDL-colesterol), su efecto proinflamatorio (incrementan el $\text{tnf-}\alpha$, la interleukina-6 y la proteína C reactiva), su capacidad para alterar la función endotelial, o su incidencia negativa sobre la sensibilidad a la insulina (1). Trabajos recientes concluyen que los efectos sobre la salud de los ácidos grasos trans son incluso mayores de lo que cabría esperar atendiendo únicamente a la modificación que ejercen sobre los niveles de lipoproteínas, y apuntan al desconocimiento que aún se tiene de su preciso mecanismo de acción (2). En definitiva, el consumo de ácidos grasos trans procedentes de grasas parcialmente hidrogenadas afecta negativamente a un gran número de factores de riesgo cardiovascular e incrementa el riesgo de eventos coronarios (3-4). Desde el punto de vista del consumidor, pese a que son considerados como compuestos nocivos, se tiene, en general, un escaso conocimiento de este tipo de ácidos grasos y de sus fuentes alimentarias (6).

La formación de ácidos grasos trans durante los procesos industriales tradicionales de hidrogenación y la consecuente acumulación de los mismos en las grasas hidrogenadas y parcialmente hidrogenadas se conoce también desde hace varias décadas. Hay una serie de grupos de alimentos en cuya elaboración se han empleado tradicionalmente grasas hidrogenadas, ricas por tanto en AGT. Se trata, en general, de productos que requieren para su elaboración un ingrediente graso con unas determinadas características de textura y estabilidad frente a la oxidación y los tratamientos térmicos, propiedades que les proporciona este tipo de grasas hidrogenadas, y que además son viables desde un punto de vista económico.

Según datos del año 2009, la mayor fuente de AGT en alimentos comerciales consumidos por la población española eran alimentos tipo fast food, aperitivos, productos de bollería industrial, margarinas y sopas deshidratadas (6). Una revisión de tablas de composición y bases de datos de hace apenas un lustro pone de manifiesto que, efectivamente, el consumo de este tipo de alimentos proporciona cantidades significativas de ácidos grasos trans, siendo éste uno de los

factores, aunque no el único, que se tienen en cuenta en la recomendación del consumo ocasional de estos alimentos por parte de las organizaciones que desarrollan guías alimentarias. En España, la pirámide alimentaria propuesta por la SENC en el 2004 muestra en su cúspide a este tipo de productos, indicando por tanto la no recomendación de dichos alimentos.

Determinar la cantidad de AGT que consume una población es muy difícil usando métodos tradicionales como la evaluación de la dieta o como las tablas de composición de los alimentos (7). Además, en muchas ocasiones los datos del contenido en AGT en las tablas son inexistentes o incompletos (8), e incluso varían para un mismo producto dependiendo de las marcas comerciales analizadas (9). En cualquier caso, las recomendaciones de las sociedades internacionales coinciden en afirmar que el consumo diario de AGT debe ser lo más bajo posible. Tanto la OMS (10), como la AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (11) concretan que el consumo de AGT no debe superar al 1% de la energía total consumida (2000 kcal = 2 g).

De forma paralela a la evidencia científica acumulada sobre los efectos negativos de los AGT, se han ido desencadenando acciones regulatorias encaminadas a informar al consumidor sobre la presencia de AGT a través de las etiquetas, así como a limitar la presencia de estos compuestos en los alimentos. De hecho, la eliminación del empleo de grasas parcialmente hidrogenadas con AGT de los alimentos se ha descrito como una de las intervenciones más directas en salud pública para la mejora de la dieta y la reducción del riesgo de enfermedades no contagiosas (12). La Figura 1 recoge los principales hitos tanto científicos como legislativos que se han producido en este sentido a lo largo de las dos últimas décadas. Todas estas medidas están conduciendo a una significativa modificación en las formulaciones de productos del empleo de grasas en las que tradicionalmente el porcentaje de AGT era alto. Entre las técnicas más habituales se encuentran la reformulación a través de uso de grasas más insaturadas, la transesterificación o modificaciones en la tecnología de hidrogenación de grasas vegetales (13-14). Estudios preliminares apuntan a que estas modificaciones en la composición de los alimentos, con la tendencia a la disminución de AGT, tienen un efecto positivo sobre la disminución de los niveles de AGT en plasma (15-16).

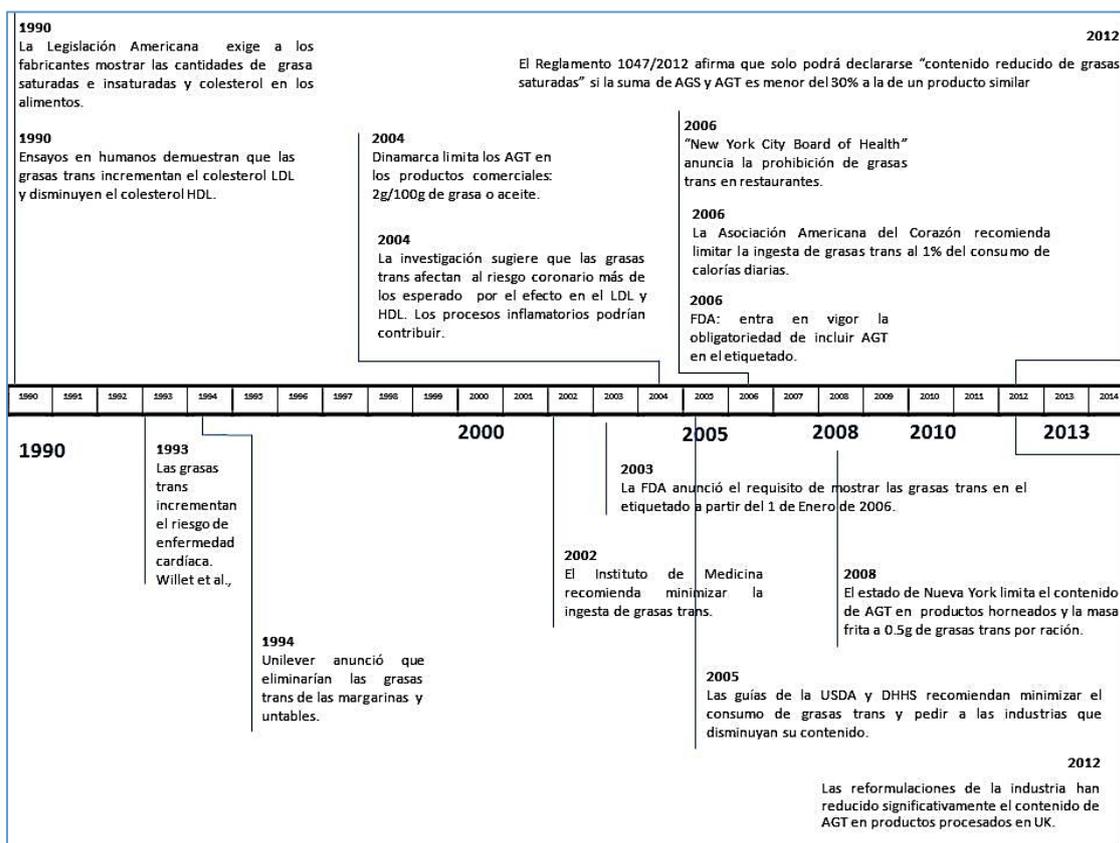


Figura 1.- Cronograma de las recomendaciones y acciones legislativas en relación con la presencia de ácidos grasos trans en alimentos durante los últimos años.

En este trabajo se muestran los resultados obtenidos en el análisis de AGT y AGS en muestras comerciales de productos de bollería y snacks recogidas en los últimos dos años comparándolos con las recomendaciones actuales de ingesta, así como, en algunos casos, con las cantidades máximas establecidas por la legislación vigente de algunos países.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los alimentos analizados se adquirieron en establecimientos comerciales de la zona. Los productos de bollería escogidos fueron ensaimadas, cruasanes, cruasanes de chocolate, palmeras, sobaos, *doughnuts*, *doughnuts* de chocolate, bizcochos, y se incluyó también pan de molde como producto de panadería. Los snacks analizados fueron palomitas para microondas, conos de maíz, patatas fritas de bolsa y crackers. Para cada producto se escogieron tres marcas comerciales (dos marcas blancas y una marca líder), y para cada marca se analizaron tres lotes diferentes por cuadruplicado. Los alimentos pertenecientes a cada lote se homogeneizaron, congelaron y almacenaron a -20 °C hasta su posterior análisis. La determinación del contenido en grasa se realizó por extracción por Soxhlet con éter de petróleo (17), requiriendo una hidrólisis ácida previa (18) en el caso de algunos alimentos. La determinación del perfil lipídico en muestras de grasa extraída por método de Folch (19) se realizó por cromatografía de gases previa

formación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (derivatización) (20). Se utilizó un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Autosystem XL equipado con una columna capilar y detección de ionización de llama. La temperatura del inyector se fijó a 250 °C y la del detector a 260 °C. La temperatura del horno se programó durante 10 minutos a 175 °C hasta que aumentase a 200 °C (10 °C/min), después hasta 220 °C (4 °C/min) y se mantuvo a esta temperatura 15 minutos. Se usó hidrógeno a una presión de 20,5 psi. La identificación de los ésteres metílicos se realizó comparando los tiempos de retención de los picos de la muestra con los picos obtenidos de la inyección previa de estándares. Los patrones individuales metilados de Sigma (St. Louis, MO, USA) se utilizaron para los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados cis y el trans t-Palmitoleico C16:1 Δ9t, Elaídico C18:1 Δ9t, Brasídico C20:1 Δ13t. Para los del ácido linoleico, se utilizó la mezcla de los isómeros del ácido linoleico cis/trans de Sigma (50% de C18:2 Δ9t, 12t; 20% C18:2 Δ9c, 12t y C18:2 Δ9t, 12c; 10% C18:2 Δ9c, 12c). El orden de elución en el caso de la mezcla de los isómeros (isómeros del ácido linoleico cis/trans) también se tuvo en cuenta (SigmaAldrich.com – FAME Application guide), y finalmente, para confirmar la identificación se pinchó la muestra con cada patrón individual. La cuantificación de los ácidos grasos se basa en el método del patrón interno, usando ácido heptadecanoico metilado (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Los resultados mostrados en las gráficas (diagramas de caja) son: los valores (g/100 g producto) máximo y mínimo para cada producto (representados por las barras laterales de las cajas), el cuartil 1 (límite izquierdo de la caja), la mediana (barra vertical en el interior de la caja), el cuartil 3 (límite derecho de la caja) y los valores atípicos (representados como puntos). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el programa StataIC 12, e incluyó, para cada producto, los valores obtenidos de las tres marcas comerciales analizadas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desde el punto de vista cuantitativo se puede afirmar que, en general, los productos de aperitivo analizados y, especialmente de bollería, presentan altos contenidos de grasa (Figuras 2 y 3). En el caso de ensaimadas, palmeras, cruasanes, sobaos, *doughnuts* de chocolate, los valores medios fueron del orden de 25-30% de grasa. En el caso de los aperitivos, los valores medios oscilaron entre un 20-30%, excepción hecha de las palomitas. Una de las marcas comerciales de este producto fue una fórmula sin grasas o aceites añadidos, lo que, obviamente contribuyó a su menor contenido en grasa (únicamente un 3%) y menor valor energético. Así, aunque el valor medio para este producto se situó en 15,2 g grasa/100 g, la mediana fue de 19,7 g/100 g. La alta cantidad de grasa de la mayoría de los alimentos analizados en este trabajo es responsable de su alto valor energético, que constituye uno de los inconvenientes desde el punto de vista nutritivo.

Conviene además no olvidar que existe una elevada evidencia científica de la relación existente entre una alta ingesta de grasa y la incidencia de cáncer. En este sentido, la FDA tiene aprobada una Health claim (declaración de salud) en la que señala que “El desarrollo del cáncer está afectado por diversos factores. Una dieta baja en grasa puede reducir el riesgo de algunos tipos de cáncer”.

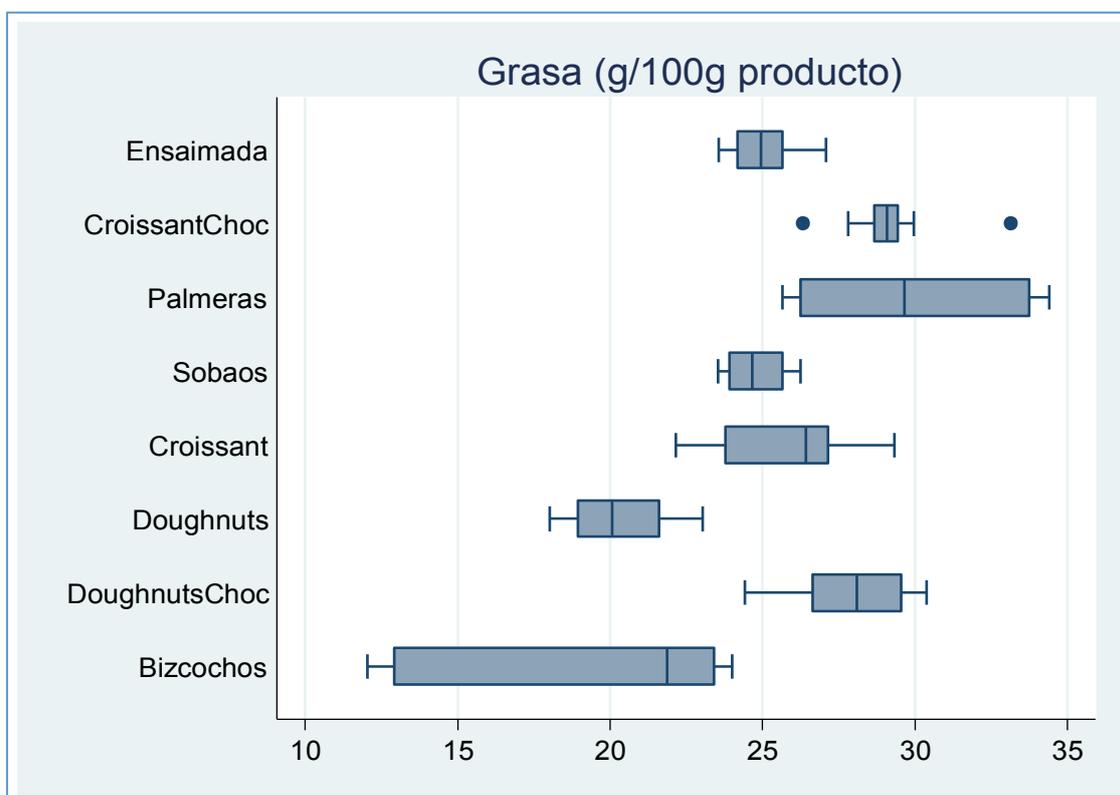


Figura 2.- Contenido en grasa de los productos de bollería (g/100 g).

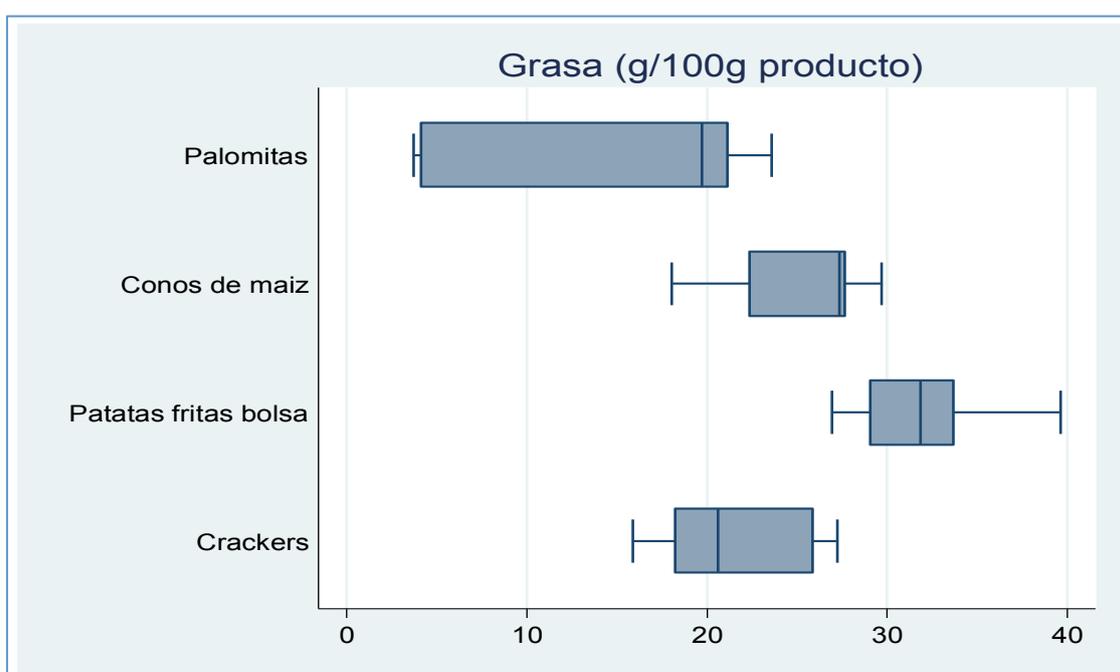


Figura 3.- Contenido en grasa de los aperitivos (g/100 g).

Sin embargo, el contenido en AGT que presentaron los productos analizados no parece, a día de hoy, ser un argumento convincente para la limitación de la ingesta de este tipo de productos. El contenido medio de AGT en los productos de bollería fue inferior 0,2 g/100 g de producto, a excepción de sobaos y bizcochos, donde el valor medio fue de 0,21 g/100 g (Figura 4). En estos dos productos se observó una mayor dispersión de los datos que en el resto, probablemente debido a la mayor diversidad cualitativa y cuantitativa de ingredientes que forman parte de estas formulaciones. En el caso de los sobaos, la mayor o menor presencia de grasas de origen animal (mantequilla) puede afectar al contenido en AGT que, aunque con un perfil de isómeros distinto, aportan AGT a la suma total de esta fracción. En el caso de los bizcochos, aunque la media se situó en 0,21, la mediana fue de 0,12 g/100 g, apuntando a que fue una de las tres marcas analizadas la responsable del mayor valor medio total.

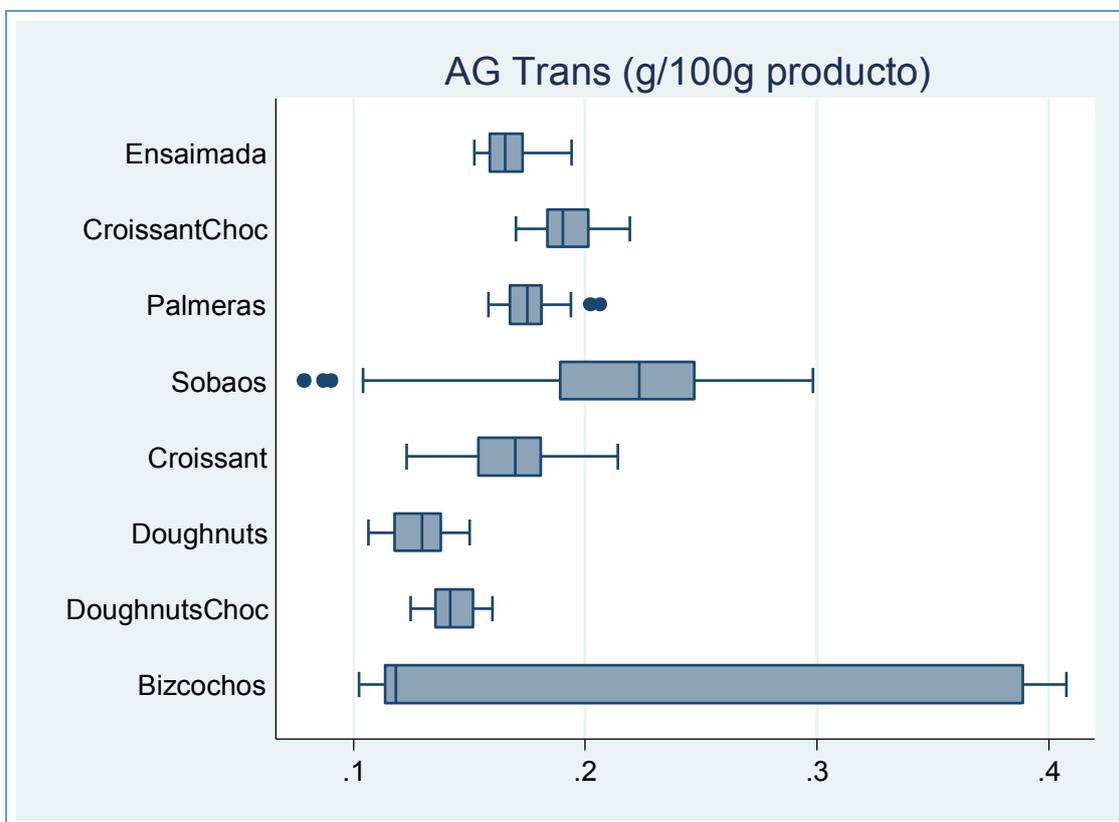


Figura 4.- Contenido en ácidos grasos trans de los productos de bollería (g/100g).

En los snacks, los valores medios oscilaron entre 0,07 g/100 g (palomitas) y 0,19 g/100 g (patatas fritas de bolsa). En este tipo de productos se observó, en general, una baja dispersión de los datos, con valores similares para las medias y medianas de los datos. En el caso de las patatas fritas de bolsa una de las marcas mostró valores atípicos, significativamente superiores a los obtenidos para el tercer cuartil, representados con puntos en el gráfico (Figura 5). En el caso de las palomitas para microondas, la cantidad de AGT de una de las marcas fue menor

(0,02) que en las otras dos (0,09-0,11), debido a que fue elaborada sin grasas añadidas y por tanto su contenido de grasa fue menor.

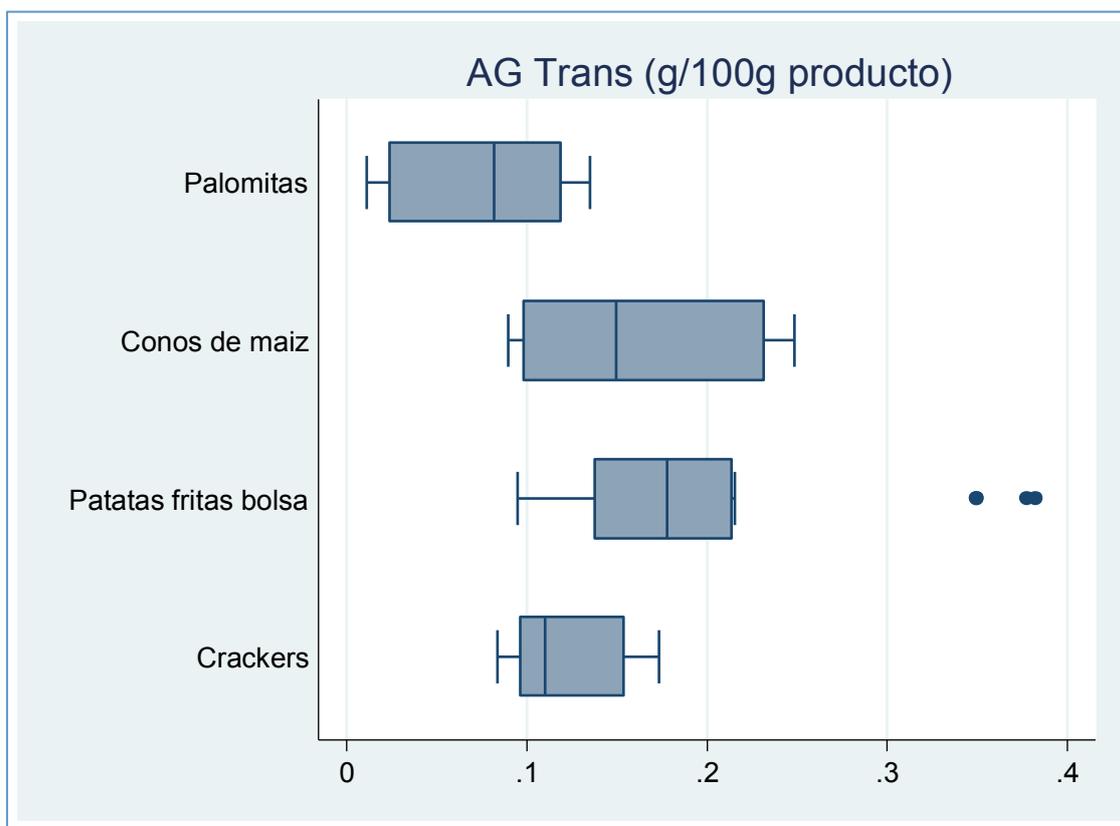


Figura 5.- Contenido en ácidos grasos trans de los aperitivos (g/100 g).

Durante los años 1995-1996 se llevó a cabo en Europa el estudio Transfair Study, cuyo objetivo fue el de valorar el consumo de AGT en catorce países europeos (21).

En España, la ingesta de AGT se estimó en 2,1 g/día, semejante al resto de países mediterráneos y significativamente inferior a países como Islandia (5,4 g/día), Holanda (4,3 g/día) o Bélgica (4,1 g/día). En relación con productos analizados en este trabajo, el Transfair mostró valores de hasta un 15-32 % (AGT sobre grasa total) en productos de bollería como cruasanes o *doughtnuts* (22) o valores de hasta un 27-34% en palomitas (23). En Estados Unidos, las ingestas diarias estimadas mediante un cuestionario de frecuencias de consumo fueron de 3-4 g/día (24).

Estudios posteriores han puesto de manifiesto la disminución de estas cifras, situándolas en un consumo de 1,3 g/persona/día (25). En Europa, todavía hay, a día de hoy, países donde la ingesta de este tipo de grasa está en valores capaces de incrementar significativamente el riesgo cardiovascular (26).

Entre 2002 y 2003 se llevó a cabo una investigación con 253 muestras de distintos alimentos altos en grasa comercializados en Dinamarca (27). Este país fue el primero en legislar el contenido máximo de AGT en los alimentos, estableciendo

un valor límite de un 2% de AGT sobre el contenido de grasa total del alimento. A pesar de haber entrado ya en vigor la norma, 64 muestras contenían más del 2% de AGT (5 de los 19 productos de patata, 3 de las 4 patatas fritas, al igual que 2 de las 17 muestras de palomitas de microondas). Otro trabajo del año 2006 con muestras de 26 países puso de manifiesto que un 40% de los productos de bollería y un 57% de las muestras de palomitas superaron el valor del 2% AGT sobre el contenido en grasa (28). De hecho, en el año 2008 aún se encontraron valores un 23,2% para palomitas (29). En nuestro trabajo, prácticamente todos los productos mostraron valores medios inferiores a 0,7% de AGT (referido a 100 g de grasa), salvo los sobaos (0,9%) y los bizcochos (1,37%). En el caso de este último producto, una de las marcas superó el 2%, llegando a un máximo de 3,15%. Sería el único caso entre todas las marcas y productos analizados que superaría el 2% de AGT (referido a 100 g de grasa) establecido por la legislación danesa como límite máximo para este valor.

Una de las preocupaciones en relación con la reformulación de productos para reducir su contenido en AGT es el potencial incremento en la fracción de ácidos grasos saturados (AGS), cuyo efecto sobre el incremento de los valores de LDL colesterol es ampliamente conocido. En este sentido, Mozaffarian et al. (30) analizaron un gran número de alimentos comercializados en supermercados y de venta en restaurantes, concluyendo que no se detectó una significativa mayor presencia de AGS tras las recomendaciones o prohibiciones de disminución de AGT en alimentos en Estados Unidos.

En este trabajo los valores más altos para el contenido en AGS en los productos de bollería fueron para los *doughnuts* con chocolate (18,02 g/100 g producto) y las palmeras (16,76 g/100 g), estando el resto por debajo de 15 g/100 g (Figura 6). Estos valores supusieron un aporte de AGS en los productos de bollería comprendido entre un 21 y un 33% del valor energético total en estos alimentos. En el caso de los aperitivos (Figura 7), todos los valores medios fueron inferiores a 9,5 g AGS/100 g, siendo especialmente bajos los detectados en las patatas fritas de bolsa (4,08 g/100 g) donde los aceites de fritura fueron monoinsaturados o poliinsaturados. En estos productos, el aporte de AGS fue comparativamente menor, con valores comprendidos entre un 7-17% del valor energético total.

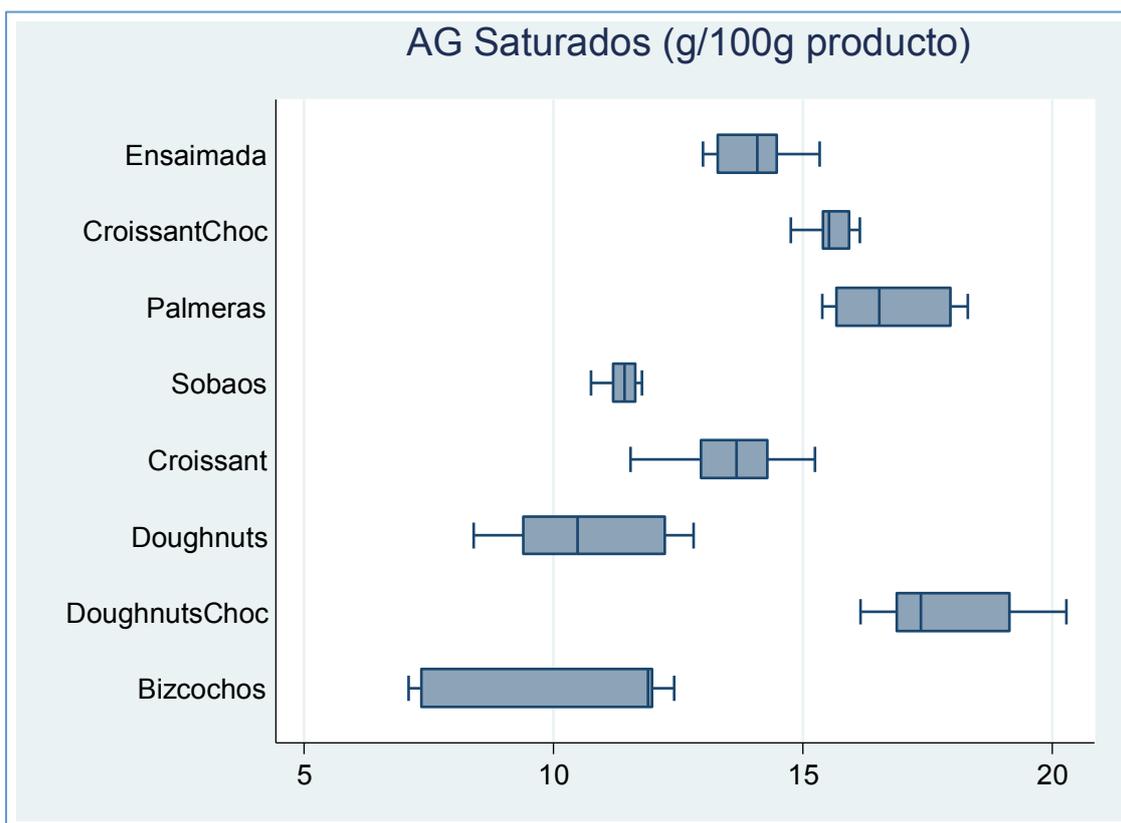


Figura 6.- Contenido en ácidos grasos saturados de los productos de bollería (g/100 g).

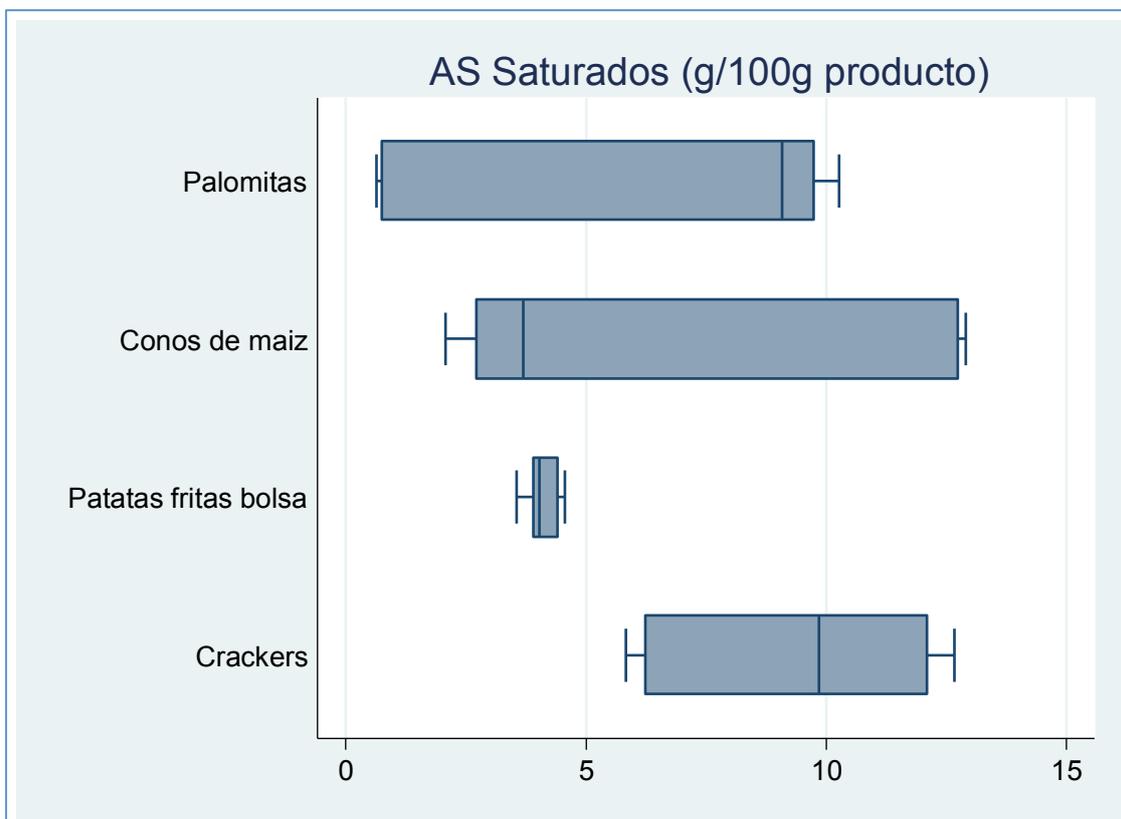


Figura 7.- Contenido en ácidos grasos saturados de los aperitivos (g/100 g).

4. CONCLUSIONES

Estudios previos de nuestro grupo de investigación apuntaron una reducción en el contenido de AGT en algunos productos de bollería adquiridos en el mercado español (31). Este trabajo amplía el elenco de productos en los que se observa esta tendencia, poniendo de manifiesto la importancia de seguir actualizando la información acerca de la composición de la fracción lipídica de los alimentos, y en especial acerca de su contenido en AGT. Estos estudios son especialmente importantes para establecer pautas dietéticas apropiadas basadas en los efectos de los componentes de los alimentos sobre la salud.

6. REFERENCIAS

1. Mozaffarian, D.; Aro, A.; Willett, W.C. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63 Suppl 2, S5-21 (2009).
2. Brouwer, I. A.; Wanders, A. J.; Katan, M. B. Trans fatty acids and cardiovascular health: research completed? *Eur. J. Clin. Nutr.* 67, 541-547 (2013).
3. Uauy, R.; Aro, A.; Clarke, R.; Ghafoorunissa, R.; L'Abbe, M.; L'Abbé, M R Mozaffarian, D.; Skeaff, C.M.; Stender, S.; Tavella, M. WHO Scientific Update on trans fatty acids: summary and conclusions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63, S68-S75 (2009).
4. Willett, W.C. Dietary fats and coronary heart disease. *J. Intern. Med.* 272, 13-24 (2012).
5. Nasser, R.; Cook, S.; Bashutski, M.; Hill, K.; Norton, D.; Coleman, J.; Walker, S.; Charlebois, S. Consumer perceptions of trans fats in 2009 show awareness of negative effects but limited concern regarding use in snack foods. *Appl Physiol Nutr Metab* 36, 526-32 (2011).
6. Fernandez-San Juan, P. Trans fatty acids (TFA): sources and intake levels, biological effects and content in commercial Spanish food. *Nutricion Hospitalaria* 24, 515-520 (2009).
7. L'Abbe, M.R.; Stender, S.; Skeaff, M.; Skeaff, C.M.; Ghafoorunissa, R.; Tavella, M. Approaches to removing trans fats from the food supply in industrialized and developing countries. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63, S50-S67 (2009).
8. Skeaff, C. M. Feasibility of recommending certain replacement or alternative fats. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63 Suppl 2, S34-49 (2009).
9. Otite, F.; Jacobson, M.; Dahmubed, A.; Mozaffarian, D. Trends in trans fatty acids reformulations of US supermarket and brand-name foods from 2007 through 2011. *Prev Chronic Dis* 10, E85 (2013).
10. Nishida, C.; Uauy, R.; Kumanyika, S.; Shetty, P. The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutr.* 7, 245-50 (2004).
11. Agence Francaise de Securite des Aliments (AFSSA). Risques et bénéfices, pour la santé des acides gras trans apportés par les aliments. *Recommandations.* (2005).
12. Downs, S.M.; Thow, A.M.; Leeder, S.R. The effectiveness of policies for reducing dietary trans fat: a systematic review of the evidence. *Bull. World Health Organ.* 91, 262-269 (2013).
13. Menaa, F.; Menaa, A.; Menaa, B.; Treton, J. Trans-fatty acids, dangerous bonds for health? A background review paper of their use, consumption, health implications and regulation in France. *Eur. J. Nutr.* 52, 1289-1302 (2013).
14. Menaa, F.; Menaa, A.; Treton, J.; Menaa, B. Technological approaches to minimize industrial trans fatty acids in foods. *J. Food Sci.* 78, R377-R386 (2013).

15. Schwenke, D.; Foreyt, J.P.; Miller, E.R.; Reeves R.S.; Vitolins M.Z.; Oxidative Stress Subgroup of the Look AHEAD Research Group. Plasma concentrations of trans fatty acids in persons with type 2 diabetes between September 2002 and April 2004. *Am. J. Clin. Nutr.* 97, 862-71 (2013).
16. Baylin, A. Secular trends in trans fatty acids: decreased trans fatty acids in the food supply are reflected in decreased trans fatty acids in plasma. *Am. J. Clin. Nutr.* 97, 665-6 (2013).
17. AOAC. Fat (crude) or ether extract in meat. 960.39. In W. Horwitz (Ed.), *Official method of analysis*. (17th ed., pp. 12-13). Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists. (2002).
18. ISO-1443, 1973. Determinación de grasa total con hidrólisis previa.
19. Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509 (1957).
20. AOAC. Methyl esters of fatty acids in oils and fats. 969.33. In *Official methods of analysis*. (pp. 19-20). Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists. (2002).
21. van Poppel, G.; van Poppel, G.; Leth, T.; Gevers, E.; Van Amelsvoort, J.; Kafatos, A. Lanzmann Petithory, D.; Kafatos, A.; Aro, A. TransFatty acids in foods in Europe: the TRANSFAIR study. *J Food Compos Anal* 11, 112-136 (1998).
22. van Erp-baart, M.A.; Couet, C.; Cuadrado, C.; Kafatos, A.; Stanely, J.; van Poppel, G. TransFatty acids in bakery products from 14 European countries: the TRANSFAIR study. *J Food Compos Anal* 11, 161-169 (1998).
23. Aro, A.; Amaral, E.; Kesteloot, H.; Rimestad, A., Thamm, M.; van Poppel, G. TransFatty Acids in French Fries, Soups, and Snacks from 14 European Countries: The TRANSFAIR Study. *J Food Compos Anal* 11, 170-177 (1998).
24. Craig Schmidt, M. World-wide consumption of trans fatty acids. *Atherosclerosis. Supplement* 7, 1-4 (2006).
25. Doell, D.; Folmer, D.; Lee, H.; Honigfort, M.; Carberry, S. Updated estimate of trans fat intake by the US population. *Food additives & contaminants. Part A. Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 29, 861-74 (2012).
26. Stender, S.; Astrup, A.; Dyerberg, J. A trans European Union difference in the decline in trans fatty acids in popular foods: a market basket investigation. *BMJ open* 2, e000859-e000859 (2012).
27. Leth, T.; Jensen, H.G.; Mikkelsen, A.A.; Bysted, A. The effect of the regulation on trans fatty acid content in Danish food. *Atherosclerosis. Supplement* 7, 53-6 (2006).
28. Stender, S.; Dyerberg, J.; Bysted, A.; Leth, T.; Astrup, A. A trans world journey. *Atherosclerosis. Supplement* 7, 47-52 (2006).
29. Albers, M.J.; Harnack, L.J.; Steffen, L.M.; Jacobs, D.R. 2006 marketplace survey of trans-fatty acid content of margarines and butters, cookies and snack cakes, and savory snacks. *J. Am. Diet. Assoc.* 108, 367-70 (2008).
30. Mozaffarian, D.; Jacobson, M.; Greenstein, J. Food reformulations to reduce trans fatty acids. *N. Engl. J. Med.* 362, 2037-9 (2010).
31. Ansorena, D.; Echarte, A.; Olle, R; Astiasaran, I. 2012: No trans fatty acids in Spanish bakery products. *Food Chem.* 138, 422-429 (2013).