



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



Determinação de Tocoferóis, Colesterol e β -caroteno em Carne de Vacas Leiteiras Reformadas dos Açores

Mariana Catarina Antunes Duarte

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar

Orientadora: Doutora Luísa Cristina Pereira Roseiro

Co-orientadores: Doutor João Augusto Marques de Almeida

Doutor Miguel Pedro de Freitas Barbosa Mourato

Jurí:

Presidente: - Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Vogais: - Doutor Miguel Pedro de Freitas Barbosa Mourato, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

- Doutora Teresa de Jesus da Silva Matos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

- Doutora Luísa Cristina Pereira Roseiro, Investigadora Auxiliar do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.

Lisboa, 2011

Dedicatória

"O segredo do sucesso é a constância do objectivo."

(Benjamin Disraeli,

1804-1881)

"Aprender é, de longe, a maior recompensa."

(William Hazlitt,

1778 -1830)

Aos meus Pais e Irmã

Agradecimentos

No momento de apresentar os resultados desta investigação, não posso deixar de expressar os meus sinceros agradecimentos às pessoas e entidades que me apoiaram e colaboraram de diversas formas e assim tornaram possível a realização da mesma. Pelo apoio particularmente relevante, justifica-se um agradecimento especial:

À Doutora Cristina Roseiro, Responsável pela Unidade de Indústrias Cárneas do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I. P. e minha orientadora neste estágio, pela possibilidade que me concedeu de realizar este trabalho, assim como por todo o apoio, compreensão, inteira disponibilidade e orientação prestada. Além da confiança depositada em mim e no meu trabalho.

Ao Engenheiro João Almeida, do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., meu co-orientador, por todo o apoio, paciência, compreensão, além de toda a disponibilidade demonstrada ao longo desta investigação, especialmente na análise estatística dos resultados.

À Engenheira Helena Gonçalves, do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., pela sua enorme disponibilidade e por todos os ensinamentos que me transmitiu para a realização do trabalho experimental, tanto a nível laboratorial como na análise em HPLC, sem os quais a realização desta investigação teria sido mais difícil. Gostaria ainda de fazer referência a todo o trabalho desenvolvido no sentido de tornar este projecto claro e simples, além de toda a confiança que sempre demonstrou em mim e no meu trabalho.

À Engenheira Ana Gomes, do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., pelo apoio, simpatia e auxílio na realização do trabalho experimental.

Ao Professor Miguel Pedro Mourato, do Instituto Superior de Agronomia, meu co-orientador, por todo o apoio demonstrado bem como a paciência na leitura atenta da minha tese ao longo da sua elaboração, por todas as críticas e sugestões que fez, e que foram preponderantes na construção e aperfeiçoamento desta tese.

À Professora Maria Luísa Louro Martins, do Instituto Superior de Agronomia, pelos contactos que estabeleceu com o INRB e deste modo tornou possível a realização deste estágio. Além de todo o apoio, compreensão e amizade, não só neste estágio mas também ao longo de toda a minha caminhada pelo Instituto Superior de Agronomia.

À minha amiga e colega Bárbara Vieira, que me acompanhou ao longo dos cinco anos de curso, e durante este estágio. Agradeço-lhe toda a amizade, apoio, companheirismo, paciência, compreensão, simpatia, boa disposição. Obrigada por Tudo!

Ao Instituto Superior de Agronomia e a todos os professores com os quais me cruzei, durante os cinco anos de curso, pois foram determinantes para a minha formação profissional e pessoal. O meu Muito Obrigada a todos.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, confiança, compreensão, paciência, carinho, e pela oportunidade que me deram e por tudo o que fazem e sempre fizeram por mim.

À minha Irmã, por todo o apoio, carinho, amizade e cumplicidade demonstrados desde sempre.

Ao meu namorado, por todo o amor, carinho, amizade, companheirismo, encorajamento, paciência, pelo seu apoio e ombro amigo nos momentos mais difíceis.

A todos os meus amigos do ISA e fora dele, obrigada por todo o apoio e amizade.

A todas as pessoas, que de uma forma ou outra contribuíram para a realização deste trabalho e que não aparecem aqui especificamente mencionadas.

E a Deus por me ter dado para forças para chegar até aqui.

Resumo

A carne de bovino, pelo seu alto valor nutritivo, é um dos principais alimentos presente na dieta das populações. Apresenta na sua constituição uma enorme variedade de constituintes importantes para a nutrição humana.

Neste trabalho foi avaliada a influência do tipo de músculo (*longissimus dorsi* e *gluteus medius*), condição de produção (seca ou em lactação), número de lactações (1/2 ou 6/7) nas composições de tocoferóis, colesterol e β -caroteno na carne de 20 vacas leiteiras reformadas dos Açores, com peso de carcaça compreendido entre 180 e 430 kg e a idade ao abate variando entre 25 e 142 meses, alimentadas durante todo o ano em pastagens melhoradas de azevém.

Os resultados demonstraram uma influência significativa ($p < 0,01$) da condição de produção e do tipo de músculo no teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores. No caso do colesterol, a variação foi devida sobretudo à influência significativa ($p < 0,01$) da condição de produção. Quanto ao β -caroteno, o factor que mais influenciou o teor deste componente na carne foi o tipo de músculo.

Pode concluir-se que a carne analisada neste estudo apresenta um valor nutricional elevado relativamente aos parâmetros analisados neste estudo.

Palavras-chave: Carne de bovino, Músculo, Lactação, Tocoferóis, Colesterol e β -caroteno.

Abstract

Due to its high nutritional value beef is one of the most utilized aliments in human population's diet. It has a rich composition containing several components that are very important for the human nutrition.

The influence of the muscle's type (*longissimus dorsi* and *gluteus medius*), production's condition (dry or in production) and number of lactations (1-2 or 6-7) was evaluated in the tocopherol's compositions, cholesterol and β -Carotene of meat of twenty different breeding cows from Azores Islands. Carcass weight ranged between 180-430 kg and age at slaughter between 25-142 months old.

The results showed a significant influence ($p < 0,01$) of production conditions and of muscle type in the α -tocopherol contents in Azores Beef. In case of cholesterol, the variation was significant ($p < 0,01$) in relation of production conditions. As to β -carotene, the factor that most influenced this content in beef was muscle type.

These results clearly indicate that the meat analyzed in this study has a high nutritional value with relation to the parameters.

Key-words: Beef, muscle, Lactation, α -tocopherol, cholesterol, β -carotene.

Extended abstract:

Bovine's meat, commonly called beef, has one of the highest commercial values in of all livestock species meat. Apart from its dietary value, its origin is also associated with a sustainable system production, that increases even more its marketability and acceptability.

Due to its high nutritional value, beef is a major constituent of food in human population's diet, and as beneficial substances for the human health it has in its constitution mono and polyunsaturated fatty acids, vitamins, minerals and also amino acids.

However, for the present research we evaluated the levels of vitamin E (tocopherols), cholesterol and β -carotene from the cow-bred beef from Holstein-Friesian cows, from the Azores Islands.

The tocopherols are important due their high nutritional value and antioxidant properties, as it protects the lipid components of meat from oxidation. Among all the tocopherol isomers, α -tocopherol is the one that exist in higher concentrations appears in the biological matrices, however, other, such as β -tocopherol, γ -tocopherol and δ -tocopherol, may also appear depending on the meat and the availability of these analogs in the animal's diet. Studies prove that the quantity of these substances in meat is directly related to their presence in the animal's diet. Beyond its antioxidant conditions in terms of lipids oxidation it is known that this constituents also protect the myoglobin from oxidation, slowing in this way the meat discoloration and therefore increasing the meat shelf-life.

Cholesterol is the most important sterol in animals meat, being present in all cells of the animals bodies. In beef, their content is dependent on the diet, age and weight of the bovine. And considering that the meat of the bovine's pasture provides lower levels of cholesterol it might reduce the cardiovascular diseases, directly related to the cholesterol increase in human beings.

β -carotene, is a fat-soluble antioxidant and, like α -tocopherol, it protects the lipids and unsaturated fatty acids from oxidation. It is present in the pasture and when ingested by the animals in high amounts it confers to the fat existent in the meat a yellow coloration.

The aim of this research was to study the influence of muscles type, age of slaughter, animal's weight, production conditions and also the number of lactations in vitamin E (tocopherols), cholesterol and β -carotene in the meat of 20 different Holstein-Frisia cows from Azores Islands, with carcasses weights between 180 and 430 kg and aged between 25 and 142 months.

To determine the constituent's levels, a simultaneous quantification technique of vitamin E (tocopherols), cholesterol and β -carotene was performed using a chromatographic method by HPLC (High-Performance Liquid Chromatography). The method consisted first of all in the saponification and extraction of the samples in order to make the, subsequent separation and quantification by HPLC. The result of the different components concentration was calculated using the highest peak of each chromatogram, using specific calibration curves for each one of the components analyzed.

The results showed significant influence ($p < 0,01$) of production condition and of muscle type in the α -tocopherol contents of Azores Beef. In case of cholesterol, the variation was significant ($p < 0,01$) due to production condition. As to β -carotene, the factor that most influenced this content in beef was muscle type.

These results clearly indicate that the meat analyzed in this study has a high nutritional value, verified by the high contents of the different components. It is therefore confirmed that a pasture-fed diet, translates into added value in the meat quality.

Índice Geral	Pág.
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT.....	vi
EXTENDED ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE GERAL.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
I. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS	1
II. INTRODUÇÃO	2
<i>II.1. A Carne na Alimentação humana.....</i>	<i>2</i>
<i>II.2. Consumo de carne de bovino.....</i>	<i>3</i>
<i>II.3. A carne IGP dos Açores.....</i>	<i>5</i>
<i>II.4. A Raça Holstein-Frísia.....</i>	<i>6</i>
<i>II.4.1. A sua Origem</i>	<i>6</i>
<i>II.4.2. Características</i>	<i>7</i>
<i>II.5. Sistemas de Produção.....</i>	<i>8</i>
<i>II.5.1. Sistema Extensivo.....</i>	<i>8</i>
<i>II.5.2. Sistema Semi-intensivo.....</i>	<i>9</i>
<i>II.5.3. Sistema Intensivo.....</i>	<i>9</i>
<i>II.6. Qualidade da Carne.....</i>	<i>11</i>
<i>II.6.1. Características Sensoriais</i>	<i>12</i>
<i>II.6.1.1. Cor</i>	<i>12</i>
<i>II.6.1.2. Tenrura</i>	<i>12</i>
<i>II.6.1.3. Flavour.....</i>	<i>13</i>
<i>II.6.1.4. Suculência.....</i>	<i>13</i>
<i>II.6.2. Valor Nutricional</i>	<i>14</i>
<i>II.7. Tocoferóis (Vitamina E)</i>	<i>15</i>
<i>II.8. Colesterol.....</i>	<i>19</i>
<i>II.9. β-caroteno</i>	<i>21</i>
<i>II.10. Influência da idade do animal ao abate na carne obtida.....</i>	<i>23</i>
<i>II.11. Influência da condição de lactação nos teores de Vitamina E, Colesterol e β-caroteno.....</i>	<i>24</i>
<i>II.12. HPLC.....</i>	<i>26</i>
<i>II.12.1. Validação do método analítico.....</i>	<i>26</i>
<i>II.12.1.1. Linearidade e Sensibilidade</i>	<i>27</i>
<i>II.12.1.2. Precisão</i>	<i>27</i>
<i>II.12.1.3. Exactidão</i>	<i>28</i>
<i>II.12.1.4. Limite de Quantificação.....</i>	<i>28</i>
<i>II.12.1.5. Limite de Detecção</i>	<i>28</i>
<i>II.12.1.6. Selectividade</i>	<i>28</i>

<i>II.12.1.7 Taxa de Recuperação</i>	28
III. MATERIAIS E MÉTODOS	30
<i>III.1. Identificação das amostras utilizadas no estudo</i>	30
<i>III.2. Procedimentos analíticos</i>	30
<i>III.3. Quantificação simultânea do teor de Vitamina E (Tocoferóis), Colesterol e β-caroteno</i>	30
<i>III.3.1. Equipamento</i>	30
<i>III.3.2. Reagentes</i>	30
<i>III.3.3. Saponificação e Extração</i>	31
<i>III.3.4. Determinação das Taxas de Recuperação</i>	32
<i>III.3.5. Determinação dos Limites de Detecção e Quantificação</i>	32
<i>III.3.6. Análise por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)</i>	32
<i>III.3.6.1 Equipamento</i>	32
<i>III.3.6.2. Reagentes</i>	33
<i>III.3.6.3. Procedimento técnico</i>	33
<i>III.4. Análise de Resultados</i>	34
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
<i>IV.1. Determinação das Curvas-Padrão</i>	36
<i>IV.1.1 Tocoferóis</i>	36
<i>IV.1.2. Colesterol</i>	37
<i>IV.1.3. β-caroteno</i>	38
<i>IV.2. Validação do método cromatográfico</i>	39
<i>IV.3. Quantificação simultânea em HPLC de Vitamina E, Colesterol e β-caroteno</i>	40
<i>IV.3.1. α-tocoferol</i>	40
<i>IV.3.2. γ-tocoferol e δ-tocoferol</i>	45
<i>IV.3.3. Colesterol</i>	45
<i>IV.3.4. β-caroteno</i>	49
<i>IV.3.5. Limitações</i>	52
V. CONCLUSÕES	54
VI. BIBLIOGRAFIA	55

ANEXOS

Índice de Figuras	Pág.
<i>Figura 1 - Consumo de carne das várias espécies no ano 2009 em Portugal.....</i>	<i>3</i>
<i>Figura 2 - Evolução do consumo dos diferentes tipos de carne entre 1990 e 2009</i>	<i>4</i>
<i>Figura 3 - Evolução do número de abates de carcaças bovinas certificadas dos Açores entre os anos 2007 e 2009.....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 4 - Logótipo IGP.....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 5 - Aspecto das pastagens açorianas.....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 6 - Raça Holstein-Frísia.....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 7 - Aspecto de uma exploração em sistema extensivo.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 8 - Aspecto de uma exploração em sistema intensivo</i>	<i>10</i>
<i>Figura 9 - Fórmula estrutura dos tocoferóis e tocotrienóis.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 10 - Estrutura química do Colesterol.....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 11 - Estrutura química do β-caroteno</i>	<i>22</i>
<i>Figura 12 - Concentração de α-tocoferol no plasma das vacas ao longo do tempo.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 13 - Esquema simplificado de um sistema de HPLC.....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 14 -Curvas Padrão dos isómeros de Tocoferol.....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 15 -Cromatograma referente à quantificação dos isómeros de Tocoferol.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 16 –Curva-Padrão do Colesterol.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 17 - Cromatograma referente à quantificação do Colesterol</i>	<i>38</i>
<i>Figura 18 - Curva-Padrão do β-caroteno.....</i>	<i>39</i>
<i>Figura 19 - Cromatograma referente à quantificação do β-caroteno.....</i>	<i>39</i>

<i>Figura 20 - Influência dos factores principais na variação do teor de α-tocoferol na carne de vaca dos Açores.</i>	40
<i>Figura 21 - Influência das interacções dos factores avaliados na variação do teor de α-tocoferol na carne de vaca dos Açores</i>	42
<i>Figura 22 - Modelo de regressão múltipla para o teor de α-tocoferol na carne vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados</i>	43
<i>Figura 23 - Influência dos factores principais na variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores</i>	45
<i>Figura 24 - Influência das interacções dos factores avaliados na variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores</i>	47
<i>Figura 25 - Modelo de regressão múltipla para o teor de colesterol na carne de vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados</i>	48
<i>Figura 26 - Influência dos factores principais na variação do teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores.</i>	49
<i>Figura 27 - Influência das interacções dos factores avaliados na variação do teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores</i>	50
<i>Figura 28 - Modelo de regressão múltipla para o teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados</i>	51

Índice de Tabelas	Pág.
<i>Tabela 1 - Teores dos isómeros de tocoferol nos diferentes tipos de carne.....</i>	<i>17</i>
<i>Tabela 2 - Teores de colesterol nos diferentes tipos de carne.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabela 3 - Concentração e Quantidades dos padrões utilizados na determinação de Taxa de Recuperação.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 4 - Tempos de retenção dos compostos.</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 5 - Concentrações das Curvas-Padrão.</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 6 - Equações das curvas padrão dos isómeros de tocoferol e respectivos coeficientes de correlação.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabela 7 - Equação da curva padrão de colesterol e respectivo coeficiente de correlação.</i>	<i>37</i>
<i>Tabela 8 - Equação da curva padrão do β-caroteno e respectivo coeficiente de correlação.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabela 9 - Taxas de recuperação.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 10 - Limites de Detecção e de Quantificação.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 11 - Significância dos efeitos dos factores principais e das interações considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de α-tocoferol na carne de vaca dos Açores.</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 12 -- Significância dos efeitos dos factores principais e das interações considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 13 - Significância dos efeitos dos factores principais e das interações considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores.....</i>	<i>50</i>

Lista de Abreviaturas

ω -3 – Ómega 3 (ácido linolénico)

AU – Altura do pico

BHT - *Butylated Hydroxytoluene*

BSE – *Bovine spongiform encephalopathy*

CE – Comissão Europeia

CLA – *Conjugated Linoleic Acid*

DOP – Denominação de Origem Protegida

ETG – Especialidade Tradicional Garantida

FAA – Federação Agrícola dos Açores

FAO – *Food and Agriculture Organization*

gm – músculo *gluteus medius*

HDL – *High-Density Lipoprotein*

HPLC – *High-Performance Liquid Chromatography*

IAMA – Instituto da Alimentação e Mercados Agrícolas

IGP – Identificação Geográfica Protegida

INE – Instituto Nacional de Estatística

ld – músculo *longissimus dorsi*

ll – músculo *longissimus lumborum*

lt – músculo *longissimus thoracis*

LDL – *Low-Density Lipoprotein*

p. a. – *pro analysis*

PAC – Política Agrícola Comum

PQS – Produtos de Qualidade Superior

ss – músculo *supraspinatus*

st – músculo *semitendinosus*

VLDL - Very Low-Density Lipoprotein

I. Enquadramento e Objectivos

Desde os primórdios da humanidade, a procura de carne tem-se evidenciado como uma das principais preocupações alimentares do ser humano (Costa, 2009). Este alimento, devido ao seu alto valor nutritivo, constitui uma importante fonte de proteínas (de alta qualidade biológica), vitaminas, minerais e micronutrientes, essenciais para o crescimento e desenvolvimento saudável (*Food and Agriculture Organization [FAO], 2009*). Apresenta na sua constituição, substâncias com efeitos benéficos no organismo, como ácidos gordos mono e polinsaturados, vitaminas, minerais e aminoácidos (Costa, 2008).

No entanto, o consumo de gordura tem sido associado a um risco acrescido de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e a determinados tipos de cancro. Por estas razões existe um interesse crescente no consumo de alimentos saudáveis. A carne está frequentemente associada a uma imagem negativa devido ao seu teor elevado em gordura, particularmente em gordura saturada (Higgs e Mulvihill, 2005).

Os Açores, dadas as condições edafo-climáticas existentes, permite a produção das chamadas “ervas de misturas” (uma associação de gramíneas e leguminosas), cuja preponderância em qualquer pasto é índice seguro de mais-valia. A composição florística das pastagens, bem como a fase do seu desenvolvimento influenciam, também, os teores de alguns componentes bioactivos. O gado pasta durante todos os meses do ano, alimentando-se, principalmente, de erva verde (fresca), ou seja, em regime extensivo, seguindo os moldes tradicionais de produção (Assunção, 2007).

Vários autores (Aurousseau *et al.*, 2004; Enser *et al.*, 1998; French *et al.*, 2000; Realini *et al.*, 2004) sustentam a hipótese da carne proveniente de animais criados em regime extensivo ou semi-extensivo com uma dieta que tem por base o pastoreio apresentar uma maior proporção de lípidos (como ácidos gordos polinsaturados) e antioxidantes (como α -tocoferol) importantes para a saúde humana do que a carne de animais produzidos em regime intensivo com alimentação à base de concentrados.

Este estudo teve como objectivo a determinação dos teores de vitamina E (tocoferóis), β -caroteno e colesterol em carne de vacas reprodutoras de raça Holstein-Frísia do Arquipélago dos Açores, avaliando a influência da condição de produção, do número de lactações, do tipo de músculo, da idade de abate, do peso de carcaça e gordura intramuscular no teor destes parâmetros.

II. Introdução

II.1. A carne na alimentação humana

Nos últimos anos, tem sido dada uma maior importância à relação entre a saúde e a alimentação (Wood & Enser, 1997). A busca por alimentos mais saudáveis e a maior exigência em relação à qualidade dos produtos direccionou parte do nicho de mercado. Tem existido uma maior preferência pelas carnes de melhor qualidade nutricional e sensorial que são mais saudáveis e, em alguns casos, apresentam propriedades funcionais benéficas à saúde humana. Com efeito, os factores de protecção fornecidos pelos alimentos são numerosos, sobretudo no âmbito da prevenção das doenças crónico-degenerativas. Especialmente nos países industrializados, os hábitos alimentares mudaram muito sob a influência de diversos factores, como, o modo de vida, as técnicas agro-alimentares, publicidade e outros (ADA,1999).

Uma enorme variedade de distúrbios e doenças tem sido atribuída a mudanças nos estilos de vida, dos quais a alimentação é o factor fundamental.

Sabe-se que doenças como as cardiovasculares, cancro, hipertensão, obesidade, osteoporose, entre outras associadas aos hábitos alimentares, poderiam ser prevenidas, ou reduzidas, através de alterações na dieta das populações (ADA, 1999).

A promoção da saúde e bem-estar das populações associado ao reconhecimento por parte da comunidade científica do valor de certos constituintes presentes nos alimentos, bem como a sua relação com o melhor desempenho de algumas funções orgânicas, reduzindo o risco de certas doenças, levou ao aparecimento de uma nova caracterização dos alimentos, a qual para além da sua composição em macronutrientes e micronutrientes, considera a presença de componentes com actividade fisiológica (ADA, 1999).

A carne é um dos alimentos fundamentais na dieta humana, tratando-se de uma fonte de proteínas de alta qualidade, minerais essenciais, oligoelementos e uma gama de vitaminas do complexo B (Buckley *et al.*, 1995), adaptada às exigências dos consumidores. Sendo as características sensoriais, um factor determinante na decisão de compra dos consumidores, apresentando-se a tenrura como uma característica muito importante.

Nos últimos tempos, tem-se verificado um interesse crescente por parte dos consumidores em relação a determinados componentes dos alimentos com actividade fisiológica/biológica para além dos próprios nutrientes, componentes esses que acrescentam maior benefício para a saúde e bem-estar, sendo assim designados por alimentos funcionais (Assunção, 2007).

O binómio “alimentação-saúde”, remetido a estes alimentos funcionais é cada vez mais valorizado pela sociedade. A população toma consciência da importância da alimentação e da nutrição, como forma de obter um maior nível de saúde e bem-estar (Assunção, 2007).

Este tipo de alimentos tem despertado interesse pela comunidade científica que tem produzido inúmeros estudos com o intuito de comprovar a actuação de certos alimentos na prevenção de doenças. Entre os benefícios que os alimentos funcionais podem trazer destacam-se (Assunção, 2007):

- *Actividade antioxidante*: componentes como os flavonóides, vitamina E, vitamina C, carotenóides, entre outros; tendo a capacidade de prevenir ou retardar a formação de espécies reactivas de oxigénio e de outros compostos de alteração que eles originam como os hidroperóxidos, que podem ser responsáveis pelo desenvolvimento de doenças degenerativas;

- *Ácidos gordos polinsaturados*: desempenham um papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares e prevenção de doenças tumorais;

O consumo excessivo de gordura, em especial a gordura saturada de origem animal ou vegetal, está associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares, aumento do colesterol no sangue, entre outras. Assim, recomenda-se que a ingestão de gorduras saturadas não ultrapasse os 10% do valor energético total. Deste modo, torna-se necessária a pesquisa no sentido de diminuir os teores de gorduras saturadas nos alimentos, principalmente no leite e na carne (DGS, 2002).

II.2. Consumo de carne de bovino

Em Portugal, o consumo de carne por habitante/ano, de um modo geral, tem vindo a aumentar. De acordo com os dados do Instituto Nacional de Estatística, entre 1990 e 2009 o consumo *per capita* de carnes cresceu 41,4%, passando de 78 kg/habitante/ano para 110,3 kg/habitante/ano (INE, 2010).

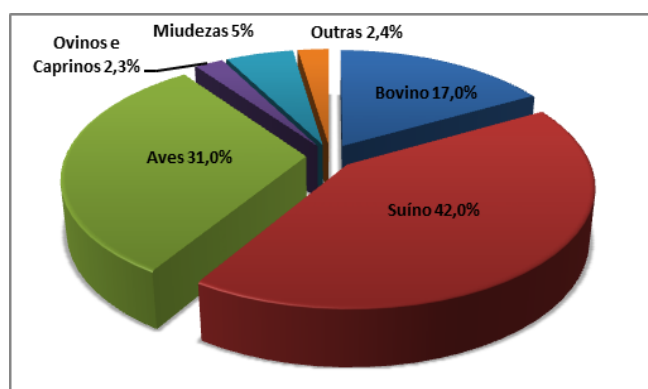


Figura 1 – Consumo de carne das várias espécies no ano 2009 em Portugal. Fonte: INE, 2010.

Como se pode constatar pela figura 1, destacam-se as produções mais intensivas, caso da carne de porco (42%) e a carne de aves (31%), como as mais consumidas, em terceiro lugar surge a carne de bovino (17%) (INE, 2010). O consumo de carne de ovino e caprino cifra-se em 2,5 kg/habitante/ano, sendo de assinalar um decréscimo significativo nos últimos cinco anos (- 14% entre 2005 e 2009). Esta carne apresenta um valor mais baixo em termos de consumo, uma vez que este acontece maioritariamente em épocas festivas, como a Páscoa, o Natal, e Santos Populares (MADRP, 2007).

Relativamente à carne de bovino, o consumo desta carne foi sempre estável ou com tendência a aumentar. No entanto, como resultado da crise que se instalou devido às notícias sobre a BSE (*Bovine spongiform encephalopathy*), o consumo, que vinha a crescer até aí, regrediu, cerca de 20% entre os anos 1995 e 1996, tendo posteriormente voltado a aumentar. Esta crise beneficiou o consumo de carne de suíno e de aves de capoeira, nesses anos (CE DG AGRI, 2003). Em 2001, também se verificou uma ligeira quebra no consumo devido ao surto de febre aftosa. Actualmente o consumo de carne de bovino é idêntico ao que ocorria em 1992 (Rodrigues, 2004), tendo tendência a manter-se estável ou aumentar (CE DG AGRI, 2003). Os consumidores apresentam-se agora mais confiantes em relação a este sector (Moura, 2010).

Esta variação do consumo dos diferentes tipos de carne, pode ser constatada na figura 2:

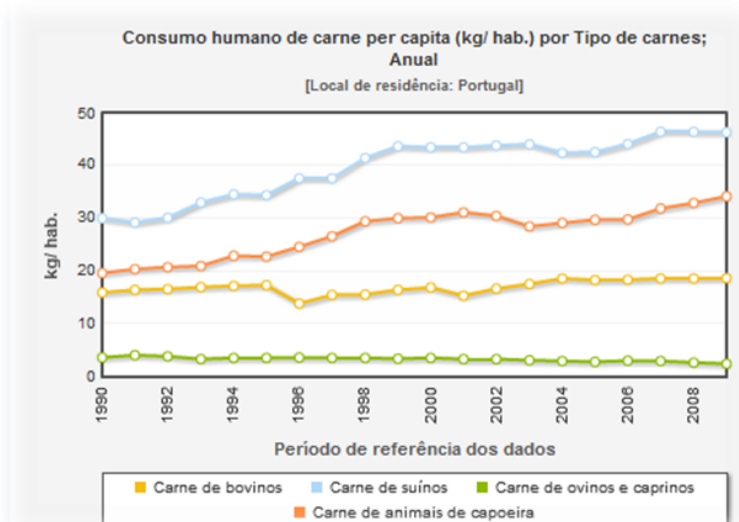


Figura 2 - Evolução do consumo dos diferentes tipos de carne entre 1990 e 2009.

Fonte: INE, 2010.

Relativamente à Carne dos Açores, o primeiro caso de BSE detectado foi no ano 2000. No entanto, devido à apertada vigilância por parte das autoridades competentes, desde aquela data foram detectados apenas 8 casos, pelo que a “doença das vacas loucas” não se fez sentir no arquipélago de forma significativa (Pereira, 2009).

Relativamente ao consumo desta carne, não existem dados concretos. No entanto, sabe-se que o número de abates destes animais tem sofrido uma evolução nos últimos anos, como é descrito no seguinte gráfico (Figura 3):

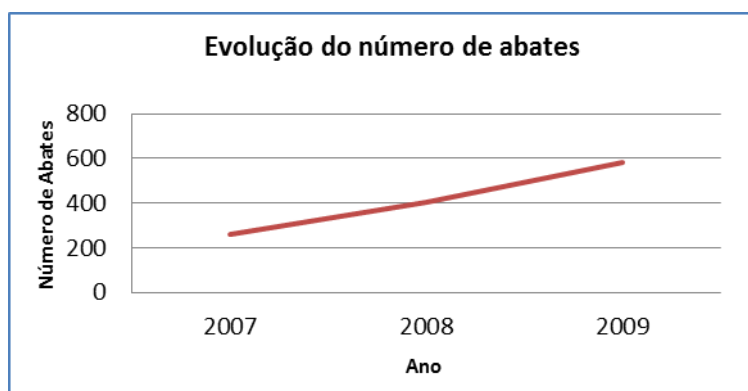


Figura 3 - Evolução do número de abates de carcaças bovinas certificadas dos Açores entre os anos 2007 e 2009.
Fonte: Costa, 2010.

II.3. A carne IGP dos Açores

A Indicação Geográfica, de acordo com o Regulamento (CE) nº 510/2006, é o nome de uma região, de um local determinado ou, em casos excepcionais, de um país, que serve para designar um produto agrícola ou género alimentício originário dessa região, desse local ou desse país, e que possui determinada qualidade, reputação ou outras características que podem ser atribuídas a essa origem geográfica, e cuja produção, transformação e/ou elaboração ocorrem na área geográfica delimitada. O produto, que se enquadre nestas características, deverá ostentar um selo igual ao da figura 4 (FAA, 2011).



Figura 4 - Logótipo IGP.
Fonte: Dolceta, 2010.

A produção de carne no Arquipélago dos Açores remonta à época do povoamento destas ilhas, em meados do século XV (FAA, 2011).

Situadas no Oceano Atlântico, com uma área total de cerca de 2 332 km² com orografia e solos diversos, onde o clima se caracteriza por ser temperado húmido, com uma temperatura média anual de 18 °C e elevada precipitação. Estas condições edafo-climáticas, únicas na Europa, propiciam a produção de abundantes pastagens (Figura 5) que permitem a alimentação de bovinos em meio natural durante todo o ano (FAA, 2011).



Figura 5 - Aspecto das pastagens açorianas. Fonte: FAA, 2011.

As pastagens, bem como a qualidade de manejo dos animais, são indicados como factores que influenciam directamente o sabor e o aroma característico da carne dos Açores. Nesta tipologia de produção não é permitido a estabulação, para efeito de acabamento intensivo. Deste modo, os animais são suplementados com baixos níveis de cereais e têm acesso livre ao pasto (FAA, 2011).

Tendo em conta as características particulares desta carne, a região considerou proveitoso a sua protecção como havia feito anteriormente com outros produtos, como o Ananás dos Açores (DOP) ou o Queijo de S. Jorge (DOP). Em 2000, foi reconhecida a Indicação Geográfica, e em 2003, a Protecção da Comissão Europeia fazendo assim a Carne dos Açores – Indicação Geográfica Protegida, parte da lista de produtos de qualidade, abrangida pelas especificações presentes no Regulamento (CE) Nº 617/2003, da Comissão de 4 de Abril de 2003 (FAA, 2011).

De acordo com este regulamento, designa-se por Carne dos Açores – IGP, a obtida de bovinos nascidos, criados e abatidos na Região Autónoma dos Açores, com características da carne segundo a classe etária e os moldes tradicionais de produção (Comissão Europeia, s.d.). Como moldes tradicionais são considerados os critérios de crescimento em pastoreio e alimentação à base de erva (Agroportal, 2007) e leite materno, já que as crias devem ser amamentadas até aos 3 meses de idade (FAA, 2011).

II.4. A Raça Holstein-Frísia

II.4.1. A sua Origem

A Raça Holstein-Frísia também conhecida em Portugal como turina, é uma raça de elevada estatura, facilmente identificada pelo padrão malhado (preto e branco) que estes animais apresentam (APCRF, 2011).

Teve a sua origem há cerca de 2000 anos nas tribos germânicas que povoavam a foz do Reno e Elba. Esta raça do tipo leiteiro estendeu-se por todo o litoral do mar do norte (APCRF, 2011).

No século XIX, ocorreu um grande melhoramento genético destes animais, trabalho efectuado por criadores holandeses que exportaram os primeiros exemplares destes animais para a América do Norte (APCRF, 2011).

No continente americano, este melhoramento incidiu na produção de leite. Na Europa, por seu lado, a orientação no melhoramento foi para animais de aptidão mista, leite e carne, o que fez com que animais da mesma raça, se tornassem morfologicamente diferentes (APCRF, 2011).

As primeiras referências destes animais em Portugal, reportam-se ao século XVII, nas regiões em redor de Lisboa. E lentamente foi-se espalhando por todo o país, tendo encontrado na foz do Rio Vouga, o espaço ideal para o seu desenvolvimento (APCRF, 2011).

Actualmente, esta raça de aptidão leiteira está disseminada por todo o país, embora com maior densidade no noroeste português (APCRF, 2011).

II.4.2. Características

A vaca Holstein-Frísia (Figura 6) é um animal precoce de grande corpulência podendo atingir 1,54 m de altura à garupa e pesar 600 a 700 kg. Tem como característica o facto de possuir malhas pretas e brancas, que em alguns casos poderão ser vermelhas e brancas devido a um gene recessivo. Apresentam uma cabeça comprida, com olhos bem aflorados e o focinho largo. O pescoço é comprido e delgado, sendo a barbela pequena, o peito largo e as costelas arqueadas e profundas. A garupa é larga com os ossos ilíacos bastante salientes. O úbere é volumoso com ligamentos fortes e a pele macia e fina, coberta de pelos sedosos e curtos (APCRF, 2011).

Os animais desta raça possuem uma morfologia nitidamente de aptidão leiteira, facilmente observado no grande desenvolvimento do sistema mamário. Apresentam uma capacidade corporal que lhes permite consumir grandes quantidades de forragem e valorizá-la (APCRF, 2011). De salientar ainda, a capacidade de produção de leite de cerca de 7 841 kg (305 d). Têm o primeiro parto, por norma, entre os 24 e os 27 meses (Cortez, 2008).

Contrariamente ao pensamento geral, a Holstein-Frísia não deve ser considerada uma raça exclusivamente leiteira, apesar de ter sido essa a função económica desenvolvida ao máximo. A sua velocidade de crescimento, o desenvolvimento do esqueleto, as massas musculares e, sobretudo, a capacidade de conversão de alimentos, são factores muito favoráveis a essa raça para a produção de carne (Catálogo Rural, s.d.).



Figura 6 – Raça Holstein-Frísia. Fonte: APCRF, 2011.

II.5. Sistemas de Produção

Em Portugal, são praticados diferentes sistemas de produção de bovinos, conforme a região e os objectivos da produção. Por exemplo, nas zonas Norte e Centro os animais são na sua maioria, abatidos por volta dos sete meses, ou seja, ao desmame. Por outro lado, no Sul, especialmente no Alentejo, os animais passam por um período de crescimento e engorda antes de serem abatidos (Dias, 2008).

A existência de diferenciação em sistemas de produção é fundamentada pelas distintas rentabilidades das explorações. Os animais também apresentam características diferentes que os tornam mais aptos para um ou outro tipo de sistema, bem como o sistema de alimentação, a quantidade e qualidade da mão-de-obra, o capital investido, e a extensão e características das terras utilizadas para produção animal (EUVG, 2008).

Seguidamente, descrevem-se os três tipos de sistemas de produção: sistema extensivo, semi-intensivo e intensivo.

II.5.1. Sistema extensivo

Neste tipo de sistema, os animais fazem um aproveitamento directo dos recursos naturais (Figura 7), normalmente sem qualquer tipo de suplementações. Os ritmos reprodutivos são baixos e as épocas de cobrição/parto são alargadas. Os animais utilizados nestes sistemas são necessariamente muito adaptados ao meio ambiente, geneticamente pouco trabalhados nas suas características produtivas e com ritmos produtivos reduzidos.

Este sistema, baseia-se portanto, nos baixos custos de produção e na reduzida produtividade (Ferreira, 2008). No entanto, apesar da baixa produtividade este tipo de sistema é ambientalmente sustentável, permitindo uma melhor e mais equilibrada utilização dos recursos locais disponíveis (Ramos, 2008).



Figura 7 – Aspecto de uma exploração em sistema extensivo.
Fonte: <http://www.cedrisol.com/portugues/gado-holandes.html>

II.5.2. Sistema semi-intensivo

Este tipo de sistema conjuga o sistema extensivo com o intensivo. Os animais durante uma parte do dia estão no pasto onde se alimentam livremente, na outra parte do dia são alimentados com concentrados no estábulo (Oliveira, 2009). A alimentação é feita com base na pastagem e em concentrados (Anónimo, 2006).

No final, é obtido um produto de elevado valor nutritivo e sabor cárnico (Ferreira, 2008).

II.5.3. Sistema intensivo

O sistema intensivo de produção define-se como um sistema que utiliza uma forma de exploração que tem como objectivo a obtenção de altos rendimentos produtivos, no mais curto espaço de tempo e na qual a mão-de-obra tem uma formação técnica elevada. Existe um plano alimentar cuidado, utilizando-se alimentos concentrados de boa qualidade e suplementações de vitaminas e minerais (Ferreira, 2008).

A reprodução é feita através de inseminação artificial, caracterizando-se por ritmos reprodutivos elevados. Acarreta grande investimento financeiro e são, normalmente dimensionadas e concebidas para estabulação permanente, conforme Figura 8 (Ferreira, 2008).

Os animais utilizados apresentam um genótipo altamente seleccionado para o crescimento (Edwards, 2005).



Figura 8 – Aspecto de uma exploração em sistema intensivo.

Fonte: <http://geografiatematica.blogspot.com/2010/08/aula-24-pecuaria.html>

Pode dizer-se que os sistemas intensivos são sinónimo de produção em massa enquanto que os sistemas de produção extensivos dizem respeito a uma produção de oferta mais restrita (Crespo, 1995).

Para a produção de Carne IGP dos Açores, o sistema utilizado é o sistema extensivo. Os animais são sujeitos a pastoreio rotacional, imposto pela característica divisão das parcelas com pedra vulcânica. Além do pastoreio ao ar livre, a elevada produtividade dos solos, permite o armazenamento de erva em silagens, para a utilização em épocas de défice alimentar. Não é permitida a estabulação, para efeito de acabamento intensivo, pelo que os animais são suplementados com baixos níveis de cereais e têm acesso livre ao pasto (Lopes, 2009).

Este tipo de sistema de produção permite por um lado conferir elevados padrões de bem-estar animal, dado que proporciona aos animais a possibilidade de expressarem o seu repertório comportamental, e por outro a existência de um equilíbrio ambiental, dado o baixo nível de *inputs*, como já foi referido anteriormente (FAA, 2011).

Outro ponto importante a salientar, é o facto do consumo de pastagem, característica do sistema extensivo, ser uma mais-valia na dieta alimentar dos animais, sendo a carne afectada de forma significativa pela natureza da alimentação do animal (Edwards, 1997).

Em termos gerais, o incremento da densidade energética da dieta através da utilização de cereais em detrimento de forragens, leva ao aumento da taxa de crescimento dos novilhos, os quais atingem o peso vivo pretendido para abate numa idade mais precoce. A carcaça apresenta um maior conteúdo em gordura e a carne é potencialmente mais tenra e com um *flavour* característico (Miller, 2002).

Por outro lado, quando a dieta é baseada em forragem e/ou pastagem, a taxa de crescimento dos animais é potencialmente menor. Os animais apresentam-se mais velhos para igual peso vivo ao abate. As carcaças têm um menor teor em gordura, proporcionando uma carne mais magra, de cor mais escura e com *flavour* relacionado com as espécies vegetais ingeridas (Miller, 2002).

A pastagem é rica em ácidos gordos polinsaturados da família ω -3, nomeadamente, ácido linolénico (Wood & Enser, 1997) e em vitamina E (Ponte *et al.*, 2008), e quando consumida em quantidades significativas pode influenciar a qualidade do produto final (Edwards, 2005).

O tipo de alimentação vai influenciar a qualidade do produto e os atributos da carne resultam do seu modo de produção.

Relativamente, ao seu valor funcional, esta carne apresenta um valor nutricional/dietético superior e sabor diferenciado, quando comparado com a de um regime à base de cereais e alimento composto. Este valor é conseguido devido ao baixo teor de gordura e de elevadas concentrações de ácidos gordos benéficos à saúde humana (FAA, 2011).

II.6. Qualidade da carne

Segundo a definição adoptada actualmente pela ISO entende-se por qualidade: "...o conjunto das qualidades ou características de um produto ou serviço que lhe confere capacidades para satisfazer os requisitos implícitos ou explícitos do consumidor..." (Sorensen, 2005).

O conceito de qualidade da carne pode estudar-se sob diferentes pontos de vista (higiénico, tecnológico, nutritivo e sensorial). No entanto, para o consumidor a qualidade sensorial tem uma importância especial, uma vez que esta proporcionará ou não a satisfação no momento do consumo, e por isso influenciará, juntamente com o preço, futuras decisões de compra (Rodrigues, 2007).

Muitos são factores que influenciam a qualidade da carne. Estes factores podem ser intrínsecos ou extrínsecos ao animal. Como factores intrínsecos temos a raça, sexo, idade, alimentação e peso ao abate. Quanto a factores extrínsecos ao animal destacam-se as condições pré-abate, como o transporte (tipo e condições), distância da exploração ao matadouro, condições do matadouro, tipo de abate, condições de preparação da carcaça (sangramento, remoção de vísceras, etc.), entre outras. É importante ainda ter em atenção que o bem-estar animal antes do abate será determinante para a qualidade final do produto (Sañudo *et al.*, 1998).

II.6.1. Características Sensoriais

No que diz respeito à qualidade percebida pelo consumidor, as propriedades sensoriais mais importantes que são julgadas imediatamente pelo consumidor na qualidade da carne são a cor, a tenrura e o *flavour* (Jensen et al., 1998; Buckley et al., 1995; Gray et al., 1996). Um atributo tido como menos importante, é a suculência (Cross, 1994).

II.6.1.1. Cor

A cor da carne é um dos factores mais relevantes que determinarão o valor do produto no momento da sua comercialização (Rodrigues, 2007). A cor é o primeiro atributo a ser percebido pelo consumidor, e assim o influenciará na decisão de compra (Faustman & Cassens, 1990).

A cor está essencialmente relacionada com a concentração de mioglobina. Este componente representa 90% a 95% do pigmento muscular total, sendo a sua concentração influenciada por diversos factores: a espécie animal, a idade, o estado nutricional, o nível de exercício e metabolismo energético muscular dominante (Cornforth, 1999; Moloney, 1999; Xiong et al 1999).

A cor vermelha viva da carne de bovino é normalmente interpretada como um indicador de frescura e salubridade (Mancini & Hunt, 2005), enquanto que uma cor escura (vermelha escura ou castanha), pode ser associada a um produto retardado, com deficiente qualidade higiénica ou proveniente de animais idosos (Ouali et al, 2006).

II.6.1.2. Tenrura

A tenrura é um dos primeiros critérios determinantes da qualidade da carne para o consumidor (Huffman et al., 1996), que se pode definir como a capacidade da carne para deixar-se cortar ou mastigar (Rodrigues, 2007).

Esta característica é a par com a cor, a característica sensorial que mais influência tem na decisão de compra do consumidor (Brooks et al., 2000; Morgan et al., 1991) e onde a “carne dura” é considerada um factor de rejeição (Wood et al., 1999), encontrando-se os consumidores dispostos a pagar mais por uma carne mais tenra (Boleman et al., 1997).

No entanto, esta é apenas perceptível no momento do seu consumo, após processamento culinário (Xiong et al., 1999).

Intrinsecamente, a tenrura é determinada directamente pelas propriedades das estruturas miofibrilares conjuntivas e do citoesqueleto, as quais variam com a raça, a idade e o sexo (Béltran & Roncalés, 2000; Cornforth, 1999).

Existem ainda factores extrínsecos que podem influenciar a tenrura da carne, nomeadamente, o nível de exercício, estimulação eléctrica no momento do abate, o encurtamento pelo frio, a glicólise *postmortem*, entre outros (Cornforth, 1999; Xiong *et al.*, 1999).

II.6.1.3. Flavour

O *flavour* é o resultado do conjunto das sensações captadas pelos receptores olfactivos e gustativos do consumidor aos compostos voláteis e de sabor libertados da carne durante a mastigação (Xiong *et al.*, 1999).

O *flavour* da carne é percebido directamente, devido à existência de compostos voláteis resultantes de precursores hidro e lipossolúveis libertados durante a mastigação (Hornstein & Wasserman, 1994). Os agentes não voláteis são: açúcares, nucleótidos, aminoácidos, vitaminas, péptidos com origem na proteólise e ácidos gordos insaturados particularmente os provenientes dos fosfolipídios (Melton, 1999; Ouali *et al.*, 2006; Wood *et al.*, 2003; Young *et al.*, 1999).

O *flavour* trata-se de um atributo complexo da carne, e é afectado pela espécie, idade, estado de engorda, tipo de tecido, localização, género, dieta e método de confecção. Este atributo é o mais facilmente detectável pelos consumidores como sendo aceitável ou não (Webb *et al.*, 2005)

II.6.1.4. Suculência

A suculência é um importante atributo sensorial na definição da palatabilidade e da tenrura da carne. Pode desdobrar-se em duas percepções: a sensação na boca de humidade durante os primeiros movimentos de mastigação, produzida pela rápida libertação de sucos; e a suculência devida à lenta libertação de soro e ao efeito estimulador da gordura na secreção de saliva. Esta última é a mais duradoura, pelo que se conclui que a suculência está mais relacionada com o conteúdo em gordura, directamente relacionada com o marmoreado, do que com a capacidade de retenção de água (Cross, 1994).

Segundo Smith (2001), este atributo é determinado essencialmente pela quantidade de água e de gordura que permanecem na carne após cozimento, e resulta da interacção entre a temperatura interna final, a capacidade de retenção da água e o teor em gordura intramuscular.

A carne de animais mais jovens caracteriza-se por ser suculenta no início, mas a falta de gordura, torna-a mais seca no final do processo de mastigação. O tempo de congelamento vai diminuir a suculência da carne (Cross, 1994).

A gordura é um componente essencial na carne para a percepção sensorial da suculência, sabor e textura. É igualmente uma fonte de ácidos gordos que não podem ser sintetizados pelo organismo humano (Moloney *et al.*, 2002).

A percepção de salubridade e a expectativa sensorial são critérios de qualidade importantes que influenciam a decisão de um consumidor na compra de um determinado produto alimentício. Esta percepção para a carne de bovino tem sido um pouco negativa, associando-a a um alimento excessivamente rico em gordura (Moloney *et al.*, 2002).

11.6.2. Valor nutricional

Na pirâmide alimentar, a carne é classificada no “degrau” dos alimentos ricos em proteína, juntamente com o peixe e os ovos.

A carne vermelha contém proteína de elevado valor biológico, responsável pelo fornecimento dos aminoácidos essenciais ao desenvolvimento humano (Higgs, 2000), assim como um leque variado de vitaminas e oligoelementos fundamentais.

Entre estes micronutrientes indispensáveis destacam-se: o selénio, o zinco e o ferro. Podemos ainda encontrar na carne outros oligoelementos tais como o cobre, o magnésio, o cobalto e o fósforo mas em quantidades inferiores (Biesalski, 2005; Higgs, 2000).

A carne e derivados são bastante variáveis no nível de gordura, consoante a espécie animal, a idade e a parte da carcaça avaliada. O nível e composição da gordura são também afectados pela alimentação fornecida ao animal (Valsta *et al.*, 2005).

Em termos de vitaminas, na carne estão presentes todas as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), as vitaminas hidrossolúveis do complexo B (tiamina, riboflavina, nicotinamida, piridoxina, ácido pantoténico, ácido fólico, niacina, cobalamina e biotina) e vitamina C (Ball, 2006).

Os animais mais jovens apresentam teores mais baixos de vitamina B12, enquanto que os animais prontos para abate apresentam teores mais elevados de vitaminas lipossolúveis (Ball, 2006).

A carne, é especialmente rica em vitamina A, no entanto o grande mérito da carne como fonte de vitaminas é pela disponibilidade em vitaminas do complexo B, que exercem funções indispensáveis ao crescimento e à manutenção do corpo humano (Ball, 2006).

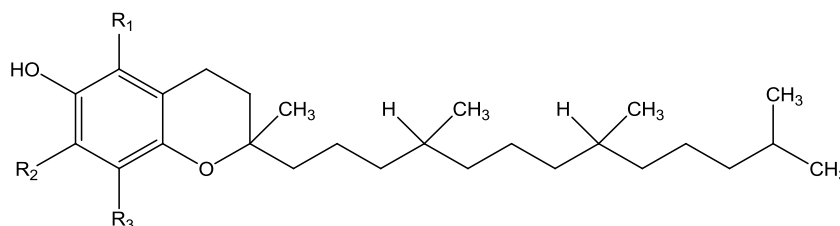
A carne de bovino tem na sua composição todos os minerais, destacando-se a presença de ferro, fósforo, potássio, sódio, magnésio e zinco, estando estes mais ligados ao tecido magro (Ball, 2006).

Pode dizer-se, então, que a qualidade da carne resulta do que aconteceu ao animal durante toda a cadeia produtiva. Portanto deve assegurar-se que são realizados os procedimentos adequados de transporte, armazenamento, manipulação, exposição e preparação da carne (Sañudo *et al.*, 1998).

II.7. Tocoferóis (Vitamina E)

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel (figura 9), e apresenta uma única estrutura química base. Esta estrutura é comum ao conjunto de todos os tocoferóis e tocotrienóis, e apresentam 4 formas, (α -, β -, γ -, δ - tocoferóis e respectivos tocotrienóis) de origem natural, os quais diferem pelo número e posição dos grupos metilo no anel aromático (Machlin, 1991).

Os tocoferóis e os tocotrienóis são moléculas bastante semelhantes estruturalmente, ambas constituídas por um anel 6-cromanol e uma cadeia lateral de dezasseis carbonos na posição carbono 2. É esta cadeia lateral que os distingue, sendo o tocoferol constituído por uma cadeia fitilo, enquanto que os tocotrienóis têm uma cadeia similar mas com 3 duplas ligações nas posições 3', 7' e 11', denominada por cadeia de isoprenoide insaturada (Yoshida *et al.*, 2002). O mais activo é o α -tocopherol, sendo a fonte principal de vitamina E encontrada no plasma e eritrócitos no fígado (Bramley *et al.*, 2000; Traber *et al.*, 1992). Apesar do α -tocopherol ser o homólogo presente em maior concentração na carne, podem aparecer outros homólogos dependendo das carnes e da disponibilidade desses isómeros na dieta dos animais. Assim, nos ruminantes domésticos é também comum encontrar o γ -tocopherol, sendo mesmo possível encontrar todos os homólogos na carne de monogástricos e aves (Ponte *et al.*, 2008; Quaresma *et al.*, 2008).

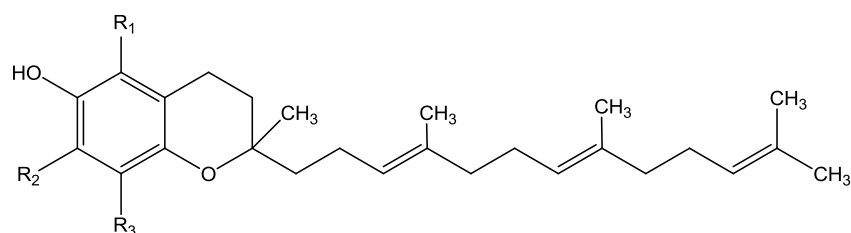


α -tocopherol: $R_1=R_2=R_3=CH_3$

β -tocopherol: $R_1=R_3=CH_3$; $R_2=H$

γ -tocopherol: $R_1=H$; $R_2=R_3=CH_3$

δ -tocopherol: $R_1=R_2=H$; $R_3=CH_3$



α -tocotrienol: $R_1=R_2=R_3=CH_3$

β -tocotrienol: $R_1=R_3=CH_3$; $R_2=H$

γ -tocotrienol: $R_1=H$; $R_2=R_3=CH_3$

δ -tocotrienol: $R_1=R_2=H$; $R_3=CH_3$

Figura 9 – Fórmula estrutural dos Tocoferóis e Tocotrienóis. Fonte: Ball, 2006.

A vitamina E na dieta está presente nos alimentos (German & Dillard, 2006). Na forma de tocoferóis estão presentes nos óleos vegetais polinsaturados e no gérmen de sementes de cereais. Os tocotrienóis estão presentes, principalmente, nas sementes de cereais e óleos de palma (Yoshida *et al.*, 2002).

Trata-se de um poderoso antioxidante presente nos tecidos biológicos e cuja actividade tem sido positivamente correlacionada com a inibição da oxidação lipídica (Morrissey *et al.*, 1998) que conjuntamente com o desenvolvimento microbiano, formam os principais condicionantes da estabilidade da qualidade da carne (Buckley *et al.*, 1995).

Considerada como a segunda causa mais frequente da deterioração da carne, a oxidação lipídica contribui para a degradação da qualidade da carne, afectando negativamente o seu valor nutricional e os seus atributos organolépticos, tais como cor, odor e *flavour* reduzindo assim a aceitabilidade por parte dos consumidores (Gray *et al.*, 1996).

A estabilidade oxidativa depende do equilíbrio entre os antioxidantes, como o α -tocoferol e alguns carotenóides e pro-oxidantes, incluindo os ácidos gordos polinsaturados (AGPI) e ferro livre no músculo (Kanner, 1992). Tem sido demonstrado que a oxidação da carne começa pela peroxidação da fracção de fosfolipídios, devido ao seu elevado teor de ácidos gordos polinsaturados (Jensen, 1998; Weber, 2001). Acredita-se que esta oxidação ocorre logo após o abate, onde as mudanças bioquímicas na carne favorecem a oxidação devido ao referido desequilíbrio entre factores antioxidantes e pró-oxidantes (Morrissey *et al.*, 1998).

A concentração de vitamina E, sobretudo do isómero α -tocoferol, e o grau de insaturação dos ácidos gordos presentes no músculo são os principais intervenientes desta oxidação (Morrissey *et al.*, 1994). O grau de insaturação é uma condicionante à referida estabilidade (Morrissey *et al.*, 1998), tendo sido verificada uma correlação positiva entre o grau de insaturação dos ácidos gordos e a extensão do ataque oxidativo, quanto mais insaturados os ácidos gordos se apresentarem maior a susceptibilidade à oxidação e, conseqüentemente, maior a ampliação desta (Wood *et al.*, 2003).

Os teores de α -tocoferol nos diferentes tipos de carne são apresentados na tabela 1:

Tabela 1 – Teores dos isómeros de tocoferol nos diferentes tipos de carne.

Tipo de carne	Teores de tocoferóis ($\mu\text{g/g}$)				Fonte
	α -tocoferol	β -tocoferol	λ -tocoferol	δ -tocoferol	
Vaca	0,40	s.d.	s.d.	s.d.	(INSRJ, 2007)
	6,0	Vestígios	0,1	s.d.	(Ball, 2006)
	3,9	---	0,15	---	(Prates <i>et al.</i> , 2006)
	4,5 (ld) / 5,8 (gm)	s.d.	---	s.d.	(Yang <i>et al.</i> , 2002)
	3,1	s.d.	---	---	(Descalzo <i>et al.</i> , 2005)
	1,6	s.d.	---	s.d.	(Costa <i>et al.</i> , 2006)
	6,5	s.d.	1,86	s.d.	(Eriksson & Pickova, 2007)
Porco	0,50	s.d.	s.d.	s.d.	(INSRJ, 2007)
	4,7	---	0,1	s.d.	(Ball, 2006)
Frango	1,3	s.d.	s.d.	s.d.	(INSRJ, 2007)
	7,0	Vestígios	0,6	s.d.	(Ball, 2006)

Nota: ---, não detectado; s.d., sem dados;

Os fosfolipídios são protegidos contra o ataque oxidativo pelos antioxidantes que ocorrem naturalmente tais como o α -tocoferol. É mostrado que o nível de α -tocoferol na carne é um factor determinante para a sua estabilidade. O aumento do teor de α -, γ - e δ - tocoferol na ração resulta directamente num aumento da concentração destes isómeros no plasma sanguíneo (Jakobsen, 1995).

Segundo McClure *et al.* (2002), a carne proveniente de bovinos produzidos com uma dieta à base de concentrados apresenta, em média, cerca de 4 μg de α -tocoferol/g de músculo. Ao passo que nos bovinos criados em sistema de pastoreio este valor pode chegar a 9,3 $\mu\text{g/g}$ de músculo (Faustman *et al.*, 1998).

Segundo Mitsumoto *et al.* (1993), a inclusão de vitamina E na ração é consideravelmente mais eficaz do que a adição de tocoferóis *postmortem* para a carne.

Vários estudos têm demonstrado que a deposição de α -tocoferol na carne está correlacionada com a ingestão deste componente nas dietas dos animais, variando em função do músculo (Jakobsen *et al.*, 1995; Lauridsen *et al.*, 2000)

Jensen *et al.* (1988) e Lauridsen *et al.* (2000) relataram uma maior capacidade de acumulação de α -tocoferol em músculos com maior metabolismo oxidativo apresentando assim os músculos de metabolismo oxidativo concentrações superiores aos músculos de metabolismo glicolítico. Este facto está relacionado com o maior número de mitocôndrias presente nos músculos oxidativos, o que possibilita uma maior capacidade de armazenamento de α -tocoferol (Cassens & Cooper, 1971).

A vitamina E promove ainda uma protecção das membranas biológicas e pigmentos musculares de danos oxidativos. Promove a estabilidade da coloração e consequentemente aumenta a vida de prateleira (Arnold *et al.*, 1993), em 1,6 a 5 dias, sem comprometer a qualidade microbiológica (Gray *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1995). Esta estabilidade ocorre por meio do aumento do teor de α -tocoferol no músculo (Arnold *et al.*, 1993).

Apesar do α -tocoferol ser considerado o isómero com maior poder antioxidante, surgem novas evidências que sugerem um papel importante também do γ -tocoferol. Acredita-se que este isómero ofereça protecção contra os radicais livres de azoto associadas a doenças degenerativas do cérebro e um efeito antioxidante mais estável e mais eficiente do que α -tocoferol nos alimentos ricos em lípidos (Wagner *et al.*, 2004).

No que diz respeito ao δ -tocoferol, é pouco frequente o aparecimento deste isómero na carne (Prates *et al.*, 2006).

Estudos indicam que o suplemento dietético da vitamina E, não só protege os lípidos da membrana, mas também protege igualmente a mioglobina da oxidação, o que, por sua vez, resultará no atraso na descoloração da carne (Liu *et al.*, 1995). A aparência brilhante da carne vermelha é devido à oximioglobina, um pigmento composto por ferro do grupo heme. Dependendo do estado de oxidação do elemento ferro, a carne apresenta diferentes cores. Na sua forma reduzida (Fe^{2+}), a carne apresenta-se vermelha (oximioglobina), na forma oxidada (Fe^{3+}), a cor da carne torna-se castanha (metamioglobina). A acção da vitamina E ocorre ao nível da oxidação da oximioglobina, retardando-a, impedindo assim que esta passe a metamioglobina (cor castanha) (Faustman *et al.*, 1998).

A adição de α -tocoferol no processamento de carnes aumenta a estabilidade da cor do produto e diminui os níveis de rancificação. No entanto, como já mencionado, este efeito é efectivamente maior quando a vitamina E é incorporada na dieta dos animais (Mitsumoto *et al.*, 1993).

A vitamina E é vista, portanto, como desempenhando um papel fundamental para a qualidade e durabilidade da carne e de produtos cárneos (Gray *et al.*, 1996).

II.8. Colesterol

O colesterol é o mais importante dos esteróis animais. Apresenta uma estrutura cíclica juntamente com uma estrutura alifática lateral, possuindo no total 27 átomos de carbono com uma dupla ligação em C5-C6 e uma função álcool no C3 hidroxilo, pelo qual pode esterificar o carboxilo dos ácidos gordos, conforme figura 10 (Ferreira, 1983).

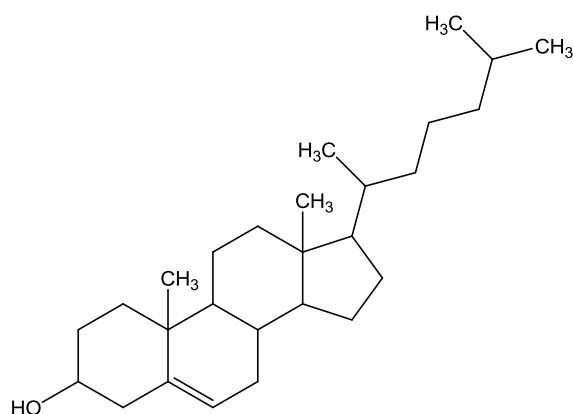


Figura 10 – Estrutura química do Colesterol

O colesterol é transportado no plasma predominantemente como ésteres de colesterol associado a lipoproteínas (King, 2011). É insolúvel em água e, conseqüentemente, insolúvel no sangue. Para se fazer transportar pelo sangue, o colesterol liga-se com algumas proteínas e outros lípidos (lipoproteínas).

As lipoproteínas compreendem um grupo de compostos que incluem colesterol, triglicerídeos, fosfolípidos e ácidos gordos livres. Estas lipoproteínas são classificadas de acordo com a sua densidade. Por ordem crescente, os quilomicrons, as VLDL (Very Low-Density Lipoprotein), as LDL (Low-Density Lipoprotein) e por último as HDL (High-Density Lipoprotein). Regra geral, à medida que aumenta a densidade e diminui o diâmetro das lipoproteínas, vai decrescendo o seu conteúdo em triglicerídeos e aumentando a sua concentração em proteína, colesterol e fosfolípidos (Chapman, 1980). Assim, as lipoproteínas mais ricas em triglicerídeos são os quilomicrons, seguidas das VLDL. As LDL e HDL são pobres em triglicerídeos e ricas em colesterol e ésteres de colesterol (Chapman, 2006).

O colesterol trata-se de um importante constituinte dos produtos de origem animal, apresentando funções importantes no organismo humano: é um precursor das hormonas esteróides sintetizadas pelas glândulas supra-renais e pelas gónadas (testículos e ovários) e é ainda componente

da membrana das células, dando-lhes rigidez, podendo ser sintetizado pelo fígado (colesterol endógeno) (Breda, 2003).

Sendo um lípido monoinsaturado com uma ligação dupla no carbono 5', encontra-se susceptível a sofrer oxidação devido a várias condições, nomeadamente na presença de oxigénio, luz, calor radiação, radicais livres, iões metálicos e outros factores (Hur *et al.*, 2007). Esta oxidação conduz à formação de óxidos de colesterol, como o colestaneetriol e o 25-hidroxicolesterol, prejudiciais ao organismo e responsáveis por efeitos biológicos indesejáveis (Lopes, 2009). A formação dos óxidos de colesterol, está fortemente dependente da concentração de colesterol (Prates, 2006).

O colesterol é um constituinte normal de todas as células do corpo, sendo que 70% tem origem da síntese biológica (colesterol endógeno) e apenas 30% é fornecido pela dieta (colesterol exógeno) (King, 2011). O organismo consegue contrabalançar, até certo ponto, a quantidade de colesterol ingerido, sintetizando-o no fígado em quantidades menores e excretando-o mais ou absorvendo-o menos. Deste modo, a quantidade ingerida através da dieta não eleva automaticamente os níveis de colesterol no sangue (Anónimo, s.d.).

Os principais alimentos fornecedores de colesterol são a carne, os ovos, o queijo, o leite gordo, a manteiga, o toucinho, a banha, as natas (Anónimo, s.d.). Carnes de órgãos como o fígado apresentam teores de colesterol mais elevados (Anónimo, 2011).

A maioria das carnes contém quantidades de colesterol que variam entre 30 – 90 mg/100 g carne (Valsta *et al.*, 2005), contudo as miudezas apresentam valores muito superiores (Pratiwi, 2006).

A tabela seguinte (Tabela 2) mostra os teores de colesterol normalmente encontrados nos vários tipos de carne:

Tabela 2 – Teores de colesterol nos diferentes tipos de carne.

Tipo de carne	Colesterol (mg/g)	Fonte
Vaca	0,61	(INSRJ, 2007)
	0,56	(Prates <i>et al.</i> , 2006)
	0,55	(Costa <i>et al.</i> , 2006)
	0,48	(Alfaia <i>et al.</i> , 2006)
Porco	0,58	(INSRJ, 2007)
	0,44	(Bragagnolo & Rodriguez-Amaya, 2002)
Frango	0,70	(INSRJ, 2007)
	0,84	(Chizzolini <i>et al.</i> , 1999)

Os teores de colesterol variam nas diferentes carnes, devido a factores como: dieta, idade, sexo, espécie, raça, ambiente, quantidade de gordura, bem como o modo de preparação da carne (Pratiwi, 2006).

Alguns autores referem que o tecido adiposo contém maior teor em colesterol do que o tecido muscular (Eichhorn *et al.*, 1986; Rhee *et al.*, 1982b; Wheeler *et al.*, 1987). No entanto, Rhee *et al.* (1982a) e Hoelscher *et al.* (1988) referem que não existe uma relação linear entre o teor em colesterol muscular e o teor em gordura intramuscular.

Como já foi referido, o organismo humano é capaz de produzir colesterol. Contudo, a elevação dos níveis de colesterol no sangue é preocupante, pois pode provocar doenças cardiovasculares, como a aterosclerose. Esta doença aparece como resultado da formação de placas de ateroma que diminuem o diâmetro dos vasos sanguíneos por ocupação das paredes destes. Com o passar do tempo, o colesterol, estreita a artéria e permite a formação de um coágulo, capaz de bloquear gravemente o fluxo sanguíneo (Pádua, 2008). Sabe-se que indivíduos com concentrações elevadas de colesterol ligados às LDL têm maior possibilidade de desenvolver aterosclerose e sofrer enfarto do miocárdio precoce e outros processos isquémicos. Um aumento do colesterol ligado às HDL tem, pelo contrário, um efeito protector. São ainda mal conhecidos os mecanismos metabólicos que possam explicar estas associações epidemiologicamente bem definidas (Chapman, 2006).

Pesquisas realizadas por Nicolosi *et al.* (1997) relataram que hamsters que receberam a dieta rica em ácido linoleico conjugado (CLA) resultou numa redução significativa nos níveis plasmáticos de colesterol "LDL".

Os produtos alimentares derivados dos animais ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos) são a maior fonte de CLA em dietas humanas.

Através da suplementação de dietas com CLA é possível diminuir o teor de gordura saturada, porém elevando-se o teor de gordura polinsaturada (anti-carcinogénica). Este ácido pode reduzir também o colesterol presente na carne, devido à capacidade de reduzir a gordura (Santos *et al.*, 2005).

II.9. β -caroteno

O β -caroteno (Pró-Vitamina A) (Figura 11) é o carotenóide predominante nas carnes e produtos derivados.

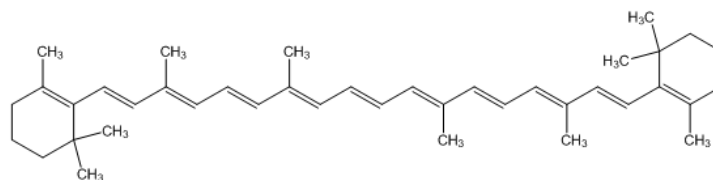


Figura 11 – Estrutura química do β -caroteno.

Trata-se de um antioxidante lipossolúvel, funcionando como um supressor do singlete de oxigénio, protegendo os ácidos gordos insaturados e os lípidos de sofrerem oxidação (Muramoto, 2003), que juntamente com o desenvolvimento microbiano, é um dos factores que pode afectar a estabilidade oxidativa e consequentemente a qualidade da carne. (Lopes, 2009)

Como referido anteriormente, a oxidação lipídica é um dos factores que compromete a qualidade da carne, afectando o seu valor nutricional e alterando a cor, o odor e *flavour*, reduzindo, assim, a aceitabilidade da carne por parte do consumidor (Morrissey, 1994). Do mesmo modo, a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados reduz o valor nutricional e funcional da carne (Ramos, 2008).

No entanto, embora o β -caroteno apresente uma reactividade inferior à do α -tocoferol, ambos, em conjunto, podem exercer uma actividade antioxidante de cooperação em diferentes posições da membrana (Tsuchihashi *et al.*, 1995) actuando sobre os radicais livres (Bayer Health Care, s.d.), oferecendo assim uma maior protecção.

Sendo o β -caroteno um pigmento vegetal pertencente à família dos carotenóides, as suas tonalidades podem variar entre o amarelo, laranja e vermelho (Reynoso, 2004).

Ao entrar no organismo, nem todo o β -caroteno ingerido é absorvido. Uma parte é transformada directamente em vitamina A e o excedente é depositado no tecido adiposo onde se acumula. Como resultado, surge uma pigmentação amarela na gordura sub-cutânea dos animais (Mora *et al.*, 2000; Morgan *et al.*, 1969; Strachan *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 2002).

Estudos têm vindo a demonstrar que os tecidos musculares de animais criados a pastagem apresentam valores de β -caroteno significativamente maiores relativamente a animais alimentados com cereais (Descalzo *et al.*, 2005). A carne de animais alimentados à base de ração contém cerca de 41 μg de β -caroteno por 100 gramas de carne. Se os animais forem criados em pastagens, o valor pode ser o dobro, aproximadamente 87 μg . A quantidade de β -caroteno presente no tecido foliar normalmente varia entre 200 e 700 mg/kg de matéria seca (Coultate, 1996). Apesar de a carne bovina não

ser uma importante fonte de β -caroteno, a carne de animais criados a pasto fornece duas vezes mais β -caroteno do que a carne de animais criados em sistemas intensivos (Agripoint, 2009).

Descalzo *et al.* (2005) encontrou teores de β -caroteno de 0,45 $\mu\text{g/g}$, já Prates *et al.* (2006) verificou valores de 0,09 $\mu\text{g/g}$.

No que toca a este aspecto, sabe-se ainda que em animais criados exclusivamente em pastagens, a pigmentação amarela da gordura será mais abundante, uma vez que os pastos são ricos em carotenóides (Mora *et al.*, 2000; Morgan *et al.*, 1969; Strachan *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 2002). A idade do animal também se encontra relacionada com a pigmentação da gordura, um animal mais velho apresentará uma gordura mais amarela, havendo uma relação directa entre a acumulação de carotenóides ao longo da idade do animal e a pigmentação amarela da carne (Ramalho, 2010).

Muitos consumidores associam a carne que apresenta gordura com uma coloração amarela a animais criados tradicionalmente, sendo percebida como um critério de qualidade, podendo influenciar as decisões de compra (Dunne, 2009). Contudo, em países, como o Japão, Austrália e México, a pigmentação amarela da gordura desses animais é considerada indesejável, o que pode causar prejuízos económicos consideráveis, devido à rejeição das carcaças por parte dos consumidores (Yang *et al.*, 1992).

Resultados obtidos em estudos *in vitro*, sugerem que o β -caroteno pode ter ainda efeito no que diz respeito a retardar a oxidação do colesterol “LDL” (Siebert & Kruk, 2004) facto que pode desencadear ou promover o aparecimento de aterosclerose. Foram realizados outros estudos, dentro deste mesmo âmbito, e todos demonstraram uma redução de risco associado através da ingestão de alimentos ricos em β -caroteno (Gaziano *et al.*, 1995). Não estando, no entanto, este assunto ainda muito estudado.

II.10. Influência da idade do animal ao abate na carne obtida

De acordo com um estudo realizado por Costa (2008) para a determinação da fracção lipídica das Carnes Mertolenga-DOP e Barrosã-DOP, no que diz respeito ao teor de tocoferóis, a idade do animal influenciou positivamente o teor de α -tocoferol nos músculos *ss* (*Supraspinatus*).

Sabe-se ainda que à medida que aumenta a idade e o peso de abate dos animais, a espessura de gordura aumenta (Sents *et al.*, 1982), ao passo que o teor de proteína diminui.

Num outro estudo, realizado por Fiems *et al.* (2003), na raça Blue Belgian, em animais de ambos os sexos e de idades compreendidas entre os 24 e 60 meses, concluiu-se que a carne das

vacas não foi influenciada negativamente pela idade ao abate, apresentando após um curto período de maturação, características de qualidade equivalentes à proveniente de novilhos com cerca de dois anos de idade. Estes autores concluíram ainda que ocorre uma diminuição da luminosidade da carne, assim como do teor de gordura intramuscular, de forma proporcional ao aumento da idade dos animais ao abate.

Huff e Parrish Jr. (1993), constataram uma influência significativa da duração do período de maturação da carne e da idade dos animais ao abate (14, 44 e 108 meses) na tenrura final da carne, apresentando os animais mais jovens uma carne mais tenra.

Quanto aos teores de colesterol e β -caroteno não foi encontrada bibliografia que relacione a idade de abate do animal com os teores de colesterol e β -caroteno na carne de bovino. No entanto, um estudo realizado por Girolami *et al.* (2003), que pretendeu avaliar o efeito da idade de abate (10-11 meses e 14-15 meses) e do tipo de músculo no perfil de ácidos gordos, teor de colesterol e textura da carne, em carne de avestruzes, concluiu que o teor de colesterol não foi influenciado significativamente pela idade de abate dos animais.

Polak *et al.* (2003) e Rule & McCormick (1998), em estudos realizados em veados, concluíram igualmente que a idade de abate não terá influência significativa no teor de colesterol da carne.

Para o de β -caroteno sabe-se apenas que a idade do animal tem influência na coloração amarelada da gordura, coloração esta devida ao teor de β -caroteno presente na carne (Ramalho, 2010).

II.11. Influência da condição de produção nos teores de vitamina E, colesterol e β -caroteno

As vacas de aptidão leiteira, apresentam dois períodos característicos: o período de lactação e o período seco.

O período de lactação tem início no dia de nascimento da cria e prolonga-se por cerca de 10 meses (Idrogo, 2009). No início deste período, a vaca mobiliza as suas reservas corporais para compensar o défice de energia na produção de elevadas quantidades de leite, o que resulta numa perda de peso vivo. A energia necessária é obtida a partir do tecido adiposo, de uma quantidade limitada a partir do músculo, enquanto que os minerais são obtidos a partir dos ossos (Gibb *et al.*, 1992). Neste período, a alimentação é feita à base de feno, pastagens, no entanto uma melhor nutrição a partir de outros suplementos permitirá uma produção de leite mais elevada (Idrogo, 2009).

O período seco caracteriza-se por um período em que vaca não produz leite, e idealmente começa 40 a 60 dias antes do parto. Este período permite a regeneração do tecido secretor do leite no úbere (UCDAVIS Veterinary Medicine, s.d.).

Neste período, as vacas são alimentadas à base de feno, pasto e silagem até cerca de três semanas antes do parto (UCDAVIS Veterinary Medicine, s.d.).

Num estudo realizado por Filipejová & Kóvacik (2009) em vacas leiteiras concluíram que o teor de colesterol no sangue da vaca foi superior a meio do período de lactação, apresentando valores inferiores no início da lactação e no período seco.

Também noutro estudo realizado no Chile, por Wittwer *et al.* (1987), demonstrou que vacas em lactação apresentaram valores mais elevados do que as vacas secas, a causa desta diferença foi atribuída à forte necessidade energética da vaca neste período, resultando numa mobilização lipídica.

Num outro estudo realizado por Guédon *et al.* (1999) em vacas em lactação e em vacas secas Limusine, conclui-se que o nível de colesterol no sangue diminui significativamente ($p < 0,05$) no final da gravidez e foram mínimas no momento do parto.

No que diz respeito aos teores α -tocoferol, a concentração deste antioxidante no plasma diminui significativamente no momento do parto (Figura 12), apresentando valores igualmente altos no período de lactação e no período seco. Acredita-se ainda que este componente melhore o sistema imunitário da vaca, neste período mais vulnerável da vaca (Weiss, s.d.).

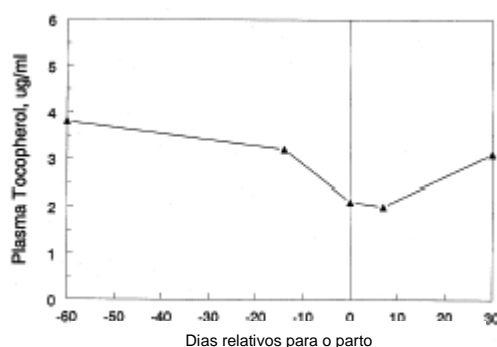


Figura 12 - Concentração de α -tocoferol no plasma de vacas ao longo do tempo. Fonte: Weiss, s.d.

Para o β -caroteno, verificou-se a mesma tendência dos componentes acima referenciados, havendo uma quebra da concentração de β -caroteno no sangue da vaca no momento do parto, para voltar a aumentar nos dias subsequentes (Oldham *et al.*, 1991).

Estes dados referem-se apenas à concentração destes componentes no sangue das vacas, pelo que não foi encontrada bibliografia para o caso em estudo, ou seja, concentração destes componentes em carne de vacas leiteiras.

II.12. HPLC

A cromatografia líquida de alta eficiência é um tipo de cromatografia líquida que permite a identificação, separação e quantificação dos compostos dissolvidos numa solução. Para isso emprega uma fase móvel líquida e uma fase estacionária e que, para obter um fluxo razoável, opera a pressões elevadas.

O sistema de HPLC é usualmente composto por: reservatório da fase móvel, uma bomba, um injetor, uma coluna de separação e um detector. (Tissue, 2000). A figura 13 mostra de forma simplificada um sistema de HPLC:

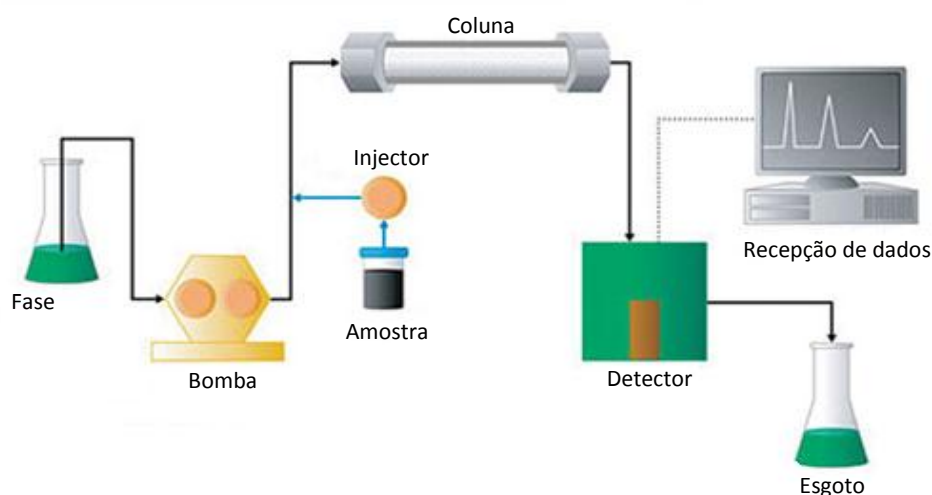


Figura 13 – Esquema simplificado de um sistema de HPLC. Fonte: Adaptado de: <http://www.comsol.com/stories/waters-corp-hplc-systems/full/>

II.12.1 Validação do método analítico

Para qualquer método analítico, é necessário garantir que este gera informação fiável sobre uma amostra. Assim, este deverá sofrer uma avaliação que se designa por validação.

A validação pode ser definida como “a avaliação sistemática de um procedimento analítico para demonstrar que está sob condições nas quais deve ser aplicado”. Trata-se de definir requisitos do método e confirmar que este possui capacidade de desempenho consistente com o que se pretende da aplicação (Eurachem guide, 2000).

Os parâmetros essenciais para assegurar a fiabilidade de um método analítico de quantificação de substâncias em matrizes biológicas são os seguintes: linearidade, precisão,

exactidão, sensibilidade, limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD), selectividade, especificidade, eficácia da extracção, estabilidade do analito na matriz biológica e a robustez do método (Eurachem guide, 2000).

II.12.1.1. Linearidade e Sensibilidade

A linearidade indica a relação entre a concentração de analito e a resposta do método. Para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta é necessário recorrer a um número suficiente de padrões (5 a 8 padrões), devendo abranger toda a gama de concentrações esperadas (Shah *et al.*, 1992).

Esta pode ser demonstrada através do estudo estatístico dos parâmetros da recta:

$$y = a + bx$$

b – declive da recta; a – ordenada na origem; r – coeficiente de correlação

O declive deve ter um valor estatisticamente diferente de zero, a ordenada na origem não deverá ser estatisticamente diferente de zero e o coeficiente de correlação da recta de calibração que dá informação sobre a qualidade da curva obtida, deverá ser próximo de 1 (Bressolle *et al.*, 1996.)

A sensibilidade do método analítico é definida pelo respectivo declive obtido da regressão linear.

II.12.1.2. Precisão

A precisão avalia a dispersão de resultados de uma série de medições repetidas a uma mesma amostra, a amostras semelhantes ou a uma solução padrão, em condições definidas. É normalmente avaliada usando o valor do desvio padrão (DPR%, também conhecido como coeficiente de variação, CV%)

$$DPR (\%) = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \times 100$$

Onde s é o desvio padrão absoluto e \bar{x} é a média aritmética das medições (Ribani *et al.*, 2004; Emer e Miller, 2005).

II.12.1.3. Exactidão

A exactidão averigua a proximidade entre o resultado de um ensaio e o seu valor de referência aceite como verdadeiro. A exactidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, está dependente de erros sistemáticos (Ribani *et al.*, 2004; Emer e Miller, 2005).

II.12.1.4. Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) define-se como a menor concentração da substância a analisar que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e exactidão. O LQ é calculado pela seguinte expressão:

$$LQ = 10 \times \left(\frac{s}{m}\right)$$

Onde s é o desvio padrão e m o declive da recta (Ribani *et al.*, 2004; Emer e Miller, 2005).

II.12.1.5. Limite de Detecção

O limite de detecção é a concentração mínima da substância a analisar que pode ser detectada pelo método com precisão e exactidão adequadas e pode ser calculado baseado em parâmetros da curva analítica. O seu cálculo é feito através da seguinte expressão (Ribani *et al.*, 2004; Emer e Miller, 2005):

$$LD = 3,3 \times \left(\frac{s}{m}\right)$$

II.12.1.6. Selectividade

A selectividade avalia a capacidade de um método analítico medir a substância a analisar na presença de componentes como impurezas, produtos de degradação, ou outros compostos que possam estar presentes na matriz da amostra. Uma forma de avaliar a selectividade num método analítico de HPLC é comparar uma amostra com matriz isenta da substância a analisar com uma amostra onde a substância a analisar foi adicionada (adição de padrão) (Ribani *et al.*, 2004; Emer e Miller, 2005).

II.12.1.7. Taxa de Recuperação

A recuperação (ou factor de recuperação) é definida como a relação da quantidade da substância a analisar que é extraída e passível de ser quantificada em função da quantidade presente ou adicionada (valor conhecido). No processo de adição, em geral, usa-se uma solução padrão da substância a analisar que é adicionada à matriz similar à amostra (branco) isenta da substância ou à amostra (fortificação, incorporação, termos provenientes do inglês “spiking”).

A taxa de recuperação é calculada utilizando a seguinte expressão:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C1 - C2}{C3} \times 100$$

Onde:

C1 – concentração determinada na amostra adicionada

C2 – concentração determinada na amostra não adicionada

C3 – concentração adicionada

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com desvio padrão relativo até 20%. Porém, dependendo da complexidade do método analítico e da matriz da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com desvio padrão relativo até 15% (Ribani *et al.*, 2004).

III. Materiais e Métodos

III.1. Identificação das amostras utilizadas no estudo

Para o estudo em causa, foram usadas 20 vacas leiteiras reformadas da raça Holstein-Frísia da Região Autónoma dos Açores. Do total das vacas, 10 encontravam-se em lactação e 10 já se encontravam secas. O peso de carcaça variou entre os 180 e 430 kg, completando um peso médio de 282,1 kg. A dispersão de idades ao abate situou-se entre os 25 e 142 meses, ficando a média de idades nos 74,9 meses. A alimentação dos animais foi baseada em pastagens melhoradas de azevém. Foram analisadas, um total de 40 amostras de carne, referente aos músculos *longissimus dorsi* (*ld*), pertencente à vazio e *gluteus medius* (*gm*), pertencente à alcatra de cada um dos animais.

As amostras encontravam-se devidamente homogeneizadas e desprovidas de gordura, encontrando-se embaladas em saco de plástico a vácuo e mantidas congeladas a -18 °C até à execução da análise.

III.2. Procedimentos analíticos

Toda a metodologia inerente ao estudo e análise da carne de bovino dos Açores baseou-se nos protocolos técnicos previamente definidos pela Unidade de Indústrias Cárneas do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, procedimentos esses já anteriormente adaptados ao estudo da carne e utilizados para o estudo dos parâmetros em análise.

III.3. Quantificação simultânea do teor de colesterol total, β -caroteno e de vitamina E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol)

III.3.1. Equipamento

- Banho-maria a 80 °C, com termóstato.
- Vórtex
- Centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5810 R, Hamburgo, Alemanha)
- Seringas de plástico descartáveis (Chirana T. Injecta a.s., Stará Turá, Eslováquia)
- Filtros de seringa hidrofóbicos GHP ACRODISC GF 25 mm 0,45 μ m/PK (Labor Spirit, Lda., Lisboa, Portugal)

III.3.2. Reagentes

- Ácido ascórbico – Ácido L (+) ascórbico (Sigma-Aldrich Ltd., Seelze, Alemanha);
- Solução metanólica de hidróxido de potássio 11% - Pesaram-se 11 g de hidróxido de potássio p.a. (Eka Chemicals Portugal, Ltd., Carcavelos, Portugal), dissolveram-se em

45 mL de água destilada e fez-se o volume com etanol p.a. (PANREAC QUIMICA SAU, Barcelona, Espanha) até aos 100 mL.

Esta solução é de preparação extemporânea, tendo sido preparada dia a dia de acordo com o volume necessário;

- n-hexano – n-hexano (for HPLC analysis) (Sigma-Aldrich Ltd., Steinheim, Alemanha) adicionada a 25 mg/l de solução de hidroxitolueno butilado (BHT) (2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol) (BDH Chemicals Ltd., Poole, Inglaterra)
- Sulfato de sódio anidro (PANREAC QUIMICA SAU, Barcelona, Espanha)

III.3.3. Saponificação e extracção

Para o procedimento de saponificação, pesou-se para cada amostra 5 g de músculo homogeneizado para dois tubos de ensaio rolhados, em duplicado. A cada um destes tubos foram adicionados 0,6 g de ácido ascórbico e 20 ml de solução de saponificação (solução metanólica de hidróxido de potássio 11%). Para evitar a aglomeração do músculo, a amostra foi de imediato agitada em vórtex e colocados os tubos em banho de água com agitação a 80 °C durante 15 minutos.

Após a saponificação, os tubos foram arrefecidos em água fria durante 1 minuto. Findo o arrefecimento, foram adicionados à mistura 6 ml de água destilada e 12 ml de solução de hidroxitolueno butilado (BHT), as amostras foram agitadas vigorosamente em vórtex durante 2 minutos e centrifugadas a 2500 rpm, a 4 °C durante 5 minutos, de forma a acelerar a separação por fases. Em todos estes procedimentos deve procurar manter-se os tubos rolhados e abrir apenas e só durante o tempo indispensável à adição de reagentes, de forma a evitar-se perdas por volatilização, tratando-se o n-hexano de um componente muito volátil.

Após a centrifugação, a fase superior (n-hexano) do tubo foi pipetada para pequenos copos, aos quais se adicionou sulfato de sódio anidro (uma pequena quantidade na ponta da espátula). Procedeu-se a uma ligeira agitação e transferiu-se uma alíquota de 2 mL com o auxílio de uma seringa, filtrou-se com o filtro hidrofóbico GHP ACRODISC GF 25 mm 0,45 µg para frascos de 1,5 mL para a análise em HPLC.

Os níveis de vitamina E (tocoferóis), colesterol e β-caroteno foram calculados em duplicado e para cada amostra de músculo.

III.3.4. Determinação das Taxas de Recuperação

O cálculo das taxas de recuperação foi igualmente feito de forma simultânea num mesmo tubo. Consistindo este procedimento na adição dos padrões respectivos a um tubo com amostra,

sendo este sujeito a todo o procedimento que qualquer uma das amostras foi sujeita. A concentração e quantidades de padrão adicionados ao tubo da taxa de recuperação são apresentados na Tabela 3. Em paralelo, preparou-se um outro tubo, este contendo apenas a amostra. O cálculo da taxa de recuperação é feito utilizando o pico obtido para a amostra com padrão e o pico da amostra sem padrão, entrando ainda no cálculo a concentração de cada um dos padrões adicionados. Esta determinação é feita recorrendo-se à expressão de cálculo da Taxa de Recuperação que se encontra no ponto II.12.1.7. deste trabalho.

Tabela 3 – Concentração e Quantidades dos padrões utilizados na determinação de Taxa de Recuperação.

Composto	Concentração da Solução-Mãe ($\mu\text{g/mL}$)	Quantidade adicionada (mL)
α-tocoferol	100	2
Colesterol	-	20 mg (Puro)
β-caroteno	20	0,5

III.3.5. Determinação dos Limites de Detecção e de Quantificação

Para a determinação destes limites recorreu-se ao método do ruído. Considerou-se como limite de quantificação a concentração correspondente ao ponto mais baixo da curva da calibração, enquanto que o limite de detecção foi determinado pela comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração que produziu uma relação sinal/ruído de 3.

III.3.6. Análise por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)

III.3.6.1. Equipamento:

O sistema de HPLC utilizado é da marca Waters, composto por uma bomba quaternária (Waters 600 Controller), degaseificador (Waters In-line Degasser AF), uma coluna de sílica de fase normal (Nova Pak[®], 4,0 μm ; 3,9 x 150 mm cartridge), um detector de fotodíodos (Waters 2487 Dual λ Absorbance detector) e um detector de fluorescência (Waters 474 Scanning fluorescence detector). O software utilizado na análise por HPLC foi Empower Pro.

Na análise de vitamina E (tocoferóis), colesterol e β -caroteno nas amostras, foi utilizada uma coluna de sílica de fase normal com detecção de fluorescência para a detecção de vitamina E (excitação a um comprimento de onda de 295 nm e emissão a um comprimento de onda de 325 nm).

III.3.6.2. Reagentes:

Fase móvel: 1% isopropanol em n-hexano - preparada por adição de 10 mL de isopropanol (Sigma-Aldrich, Ltd., Buchs, Suíça) em 990 ml de n-hexano (for HPLC analysis) (Sigma-Aldrich Ltd., Steinheim, Alemanha).

III.3.6.3. Procedimento técnico:

As condições da análise por cromatografia líquida de alta pressão foram, quanto a volume injectado de cada amostra 40 μ L, com uma velocidade de fluxo de 1,0 mL/min. Os tempos de corrida foram para o colesterol e tocoferóis de 10 minutos e para o β -Caroteno de 5 minutos. Quanto a tempos de retenção de cada composto variaram de acordo com o composto a analisar, como se pode verificar pela tabela 4:

Tabela 4 – Tempos de retenção dos compostos

Composto	Tempo de retenção (min)	Comprimento de Onda (nm)
α -tocoferol	2,3	FLD exc-295; em-325
γ -tocoferol	3,1	FLD exc-295; em-325
δ -tocoferol	4,3	FLD exc-295; em-325
Colesterol	6,0	UV-VIS 202
β -caroteno	1,2	UV-VIS 450

FLD – Detecção de fluorescência; exc – excitação de; em – emissão de; UV-VIS – detector de fotodíodos UV-Vísivel

A quantificação foi realizada tendo por base uma curva padrão da área dos picos vs. Concentração. Os resultados foram expressos em mg/g para o colesterol e μ g/g para os tocoferóis e β -caroteno.

As concentrações utilizadas para a construção de cada curva-padrão encontram-se na Tabela 5:

Tabela 5 – Concentrações das Curvas-Padrão

Concentrações das Curvas-Padrão				
α -tocoferol (μ g/mL)	γ -tocoferol (μ g/mL)	δ -tocoferol (μ g/mL)	Colesterol (mg/mL)	β -caroteno (μ g/mL)
0	0	0	0	0
0,25	1,76	1,15	0,1	0,002
0,5	3,52	3,07	0,2	0,004

Tabela 5 (Cont.) – Concentrações das Curvas-Padrão

Concentrações das Curvas-Padrão				
α -tocoferol ($\mu\text{g/mL}$)	γ -tocoferol ($\mu\text{g/mL}$)	δ -tocoferol ($\mu\text{g/mL}$)	Colesterol (mg/mL)	β -caroteno ($\mu\text{g/mL}$)
1,0	5,28	4,61	0,3	0,005
2,0	7,63	7,67	0,4	0,1
4,0	10,57	9,59	0,5	0,2
6,0				0,3
				0,4
				0,5

III.4. Análise de Resultados

Os resultados obtidos para cada parâmetro foram submetidos a análise de variância, para um delineamento completamente casualizado. O modelo utilizado no presente estudo inclui os seguintes efeitos e níveis:

- Músculo: *Longissimus dorsi* e *Gluteus medius*;
- Idade de abate: entre 25 e 142 meses;
- Peso da carcaça: entre 180,32 e 430,5 kg;
- Condição de produção: Em produção ou seca;
- Número de lactações: 1-2 ou 6-7 lactações;
- Teor de gordura intramuscular

Num arranjo factorial com interacção simples entre factores.

Estas análises foram efectuadas com os procedimentos GLM do SAS 9.2. (SAS Institute Inc., 2003) e do Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004). Quando foram obtidos efeitos lineares significativos para um nível de $p < 0,05$ entre os vários níveis dos factores, ou das interacções, realizou-se o teste de comparação múltipla das médias, segundo o método de Tukey-Kramer (SAS 9.2, SAS Institute Inc., 2003) para evidenciar a diferença entre as médias a um nível de 95% de probabilidade. Os resultados da ANOVA e da comparação das médias encontram-se apresentados no Anexos 1 e 2.

Os resultados dos diversos parâmetros foram avaliados igualmente por análise de regressão múltipla, com selecção por *forward stepwise* e um nível de significância de $p < 0,01$ para as variáveis permanecerem no modelo. As variáveis independentes foram constituídas pelos efeitos lineares dos

factores em estudo – i.e. idade de abate (meses), peso da carcaça (kg), tipo de músculo, condição de produção, teor de gordura intramuscular e número de lactações – normalizadas para um valor médio de zero e desvio padrão unitário.

Esta análise de regressão foi efectuada com o procedimento GRM do Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004).

IV. Resultados e Discussão

IV.1. Determinação das curvas de padrão

De modo a proceder-se à quantificação das amostras, teve que ser feita uma curva padrão para cada composto a analisar.

IV.1.1. Tocoferóis

A curva padrão foi obtida através da injeção de concentrações conhecidas dos padrões de Colesterol, β -caroteno e Tocoferol (α -, β -, γ - e λ -).

Foram usadas três curvas de calibração diferentes para o perfil dos tocoferóis, correspondentes ao α -tocoferol, γ -tocoferol e δ -tocoferol. As respectivas equações e coeficientes de correlação são apresentadas na tabela seguinte (Tabela 6):

Tabela 6 - Equações das curvas padrão dos isómeros de tocoferol e respectivos coeficientes de correlação

Composto	Curva Padrão	Coefficiente de Correlação (R^2)
α -tocoferol	$Y = 50611x - 1754,9$	0,9979
γ -tocoferol	$Y = 50909x + 16822$	0,9944
δ -tocoferol	$Y = 61039x + 15133$	0,9939

A representação das rectas dos isómeros de tocoferol encontram-se na figura seguinte (Figura 14):

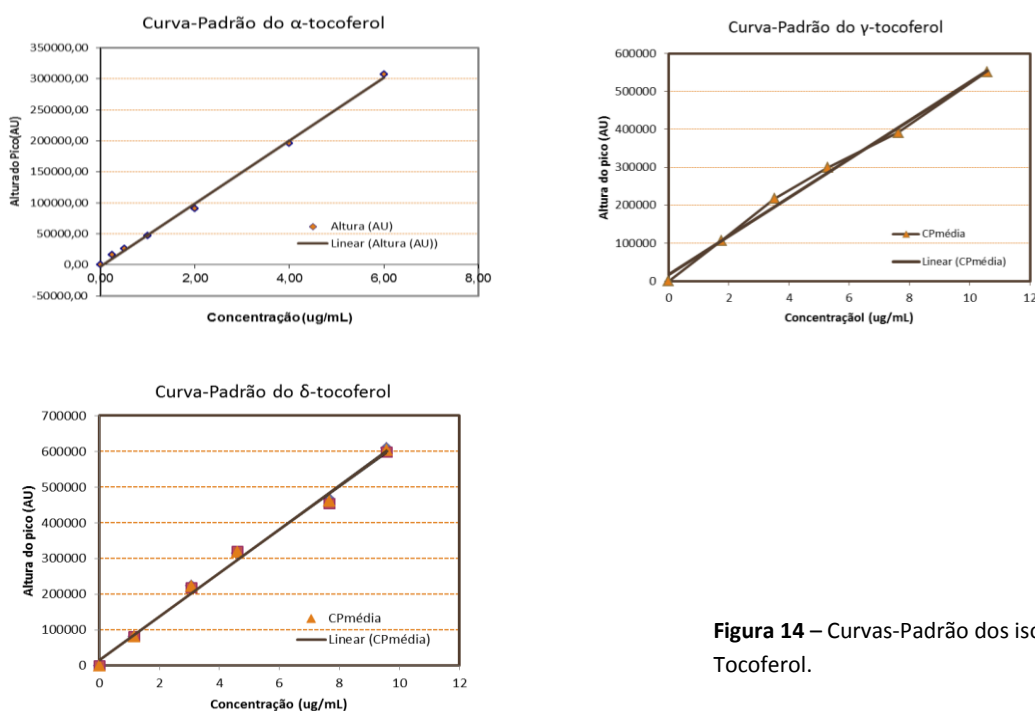


Figura 14 – Curvas-Padrão dos isómeros de Tocoferol.

Os picos obtidos no software do HPLC são do tipo (Figura 15):

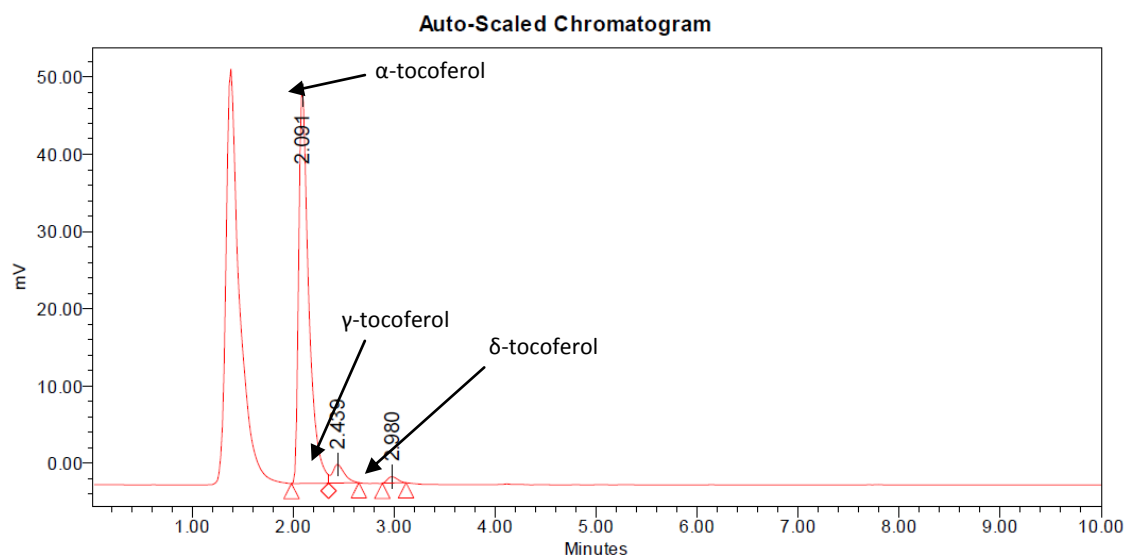


Figura 15 - Cromatograma referente à quantificação dos isômeros de Tocoferol

Quanto ao β -tocoferol, devido à falta de solução-padrão para a construção da respectiva curva-padrão durante o tempo útil de realização deste trabalho, não foi possível a sua determinação. No entanto, através da bibliografia consultada, sabe-se que o seu tempo de retenção ficará entre o α -tocoferol e o γ -tocoferol.

IV.1.2. Colesterol

Para o colesterol a curva padrão e o respectivo coeficiente de correlação é apresentado na tabela seguinte (Tabela 7):

Tabela 7 - Equação da curva padrão de colesterol e respectivo coeficiente de correlação

Composto	Curva Padrão	Coefficiente de Correlação (R^2)
Colesterol	$Y = (3 \times 10^6)X + 29318$	0,9976

A respectiva curva é apresentada na figura seguinte (Figura 16):

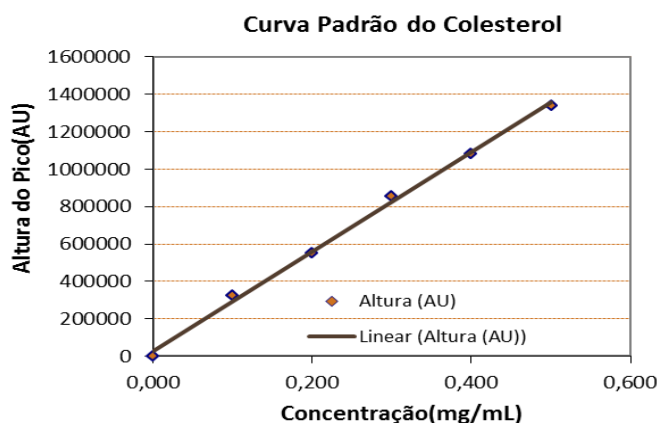


Figura 16 – Curva Padrão do Colesterol

Na figura 17 encontra-se um cromatograma exemplificativo de uma das concentrações estudadas.

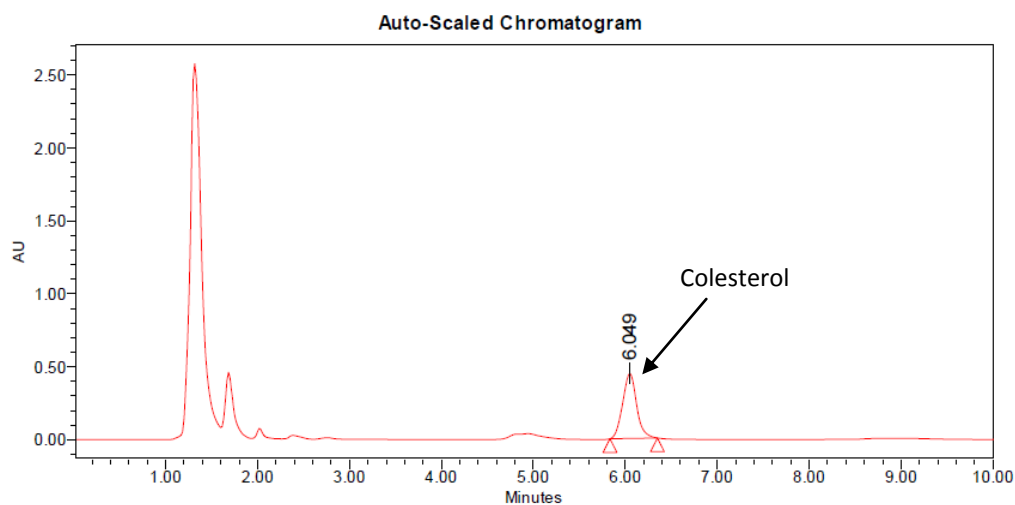


Figura 17 – Cromatograma referente à quantificação do Colesterol

IV.1.3. β -caroteno

Para o β -caroteno, a equação da curva padrão obtida e o respectivo coeficiente de correlação são apresentados na tabela seguinte (Tabela 8):

Tabela 8 - Equação da curva padrão do β -caroteno e respectivo coeficiente de correlação

Composto	Curva Padrão	Coefficiente de Correlação (R^2)
β -caroteno	$Y = 101461x - 90,858$	0,9942

A curva obtida é representada na seguinte figura (Figura 18):

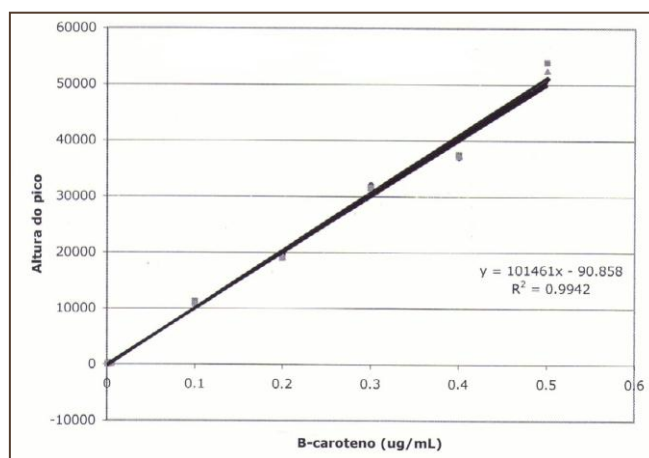


Figura 18 – Curva-padrão do β -caroteno

O cromatograma para este composto é exemplificado na figura seguinte (Figura 19):

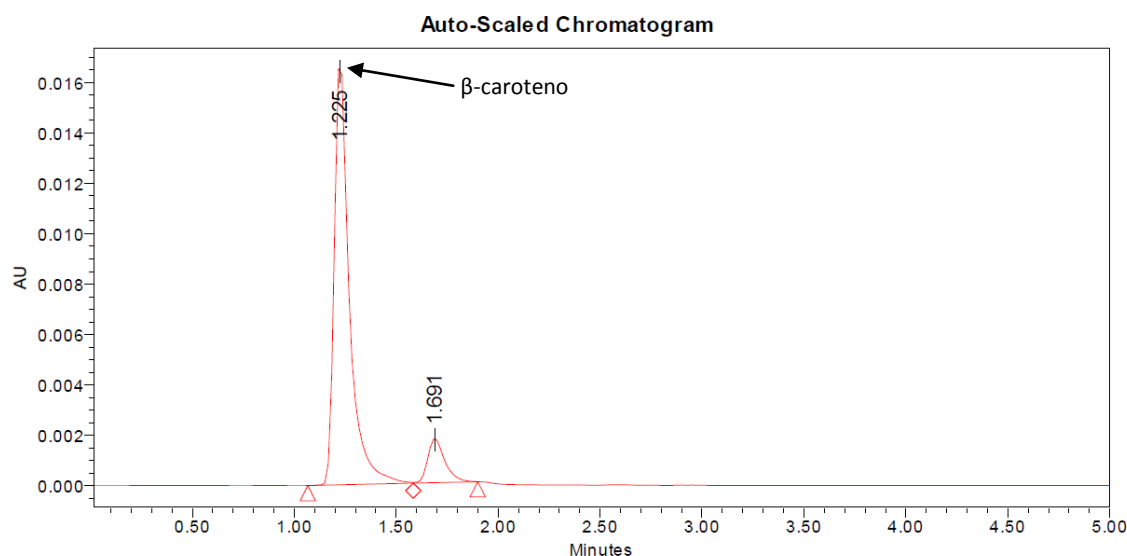


Figura 19 - Cromatograma referente à quantificação do β -caroteno

IV.2. Validação do método cromatográfico

Foram igualmente realizados procedimentos com vista à validação do método cromatográfico, como foi o caso do cálculo da taxa de recuperação para cada um dos compostos a analisar, os valores obtidos encontram-se na tabela seguinte (Tabela 9):

Tabela 9 - Taxas de Recuperação

Composto	Taxa de Recuperação (%)
α -tocoferol	121,8
Colesterol	100,9
β -caroteno	164,9

Além das taxas de recuperação foram também calculados os limites de detecção e de quantificação de cada um dos compostos a analisar.

Na tabela 10, encontram-se os respectivos Limites de Detecção (LD) e Limites de Quantificação (LQ) de cada composto.

Tabela 10 – Limites de Detecção e de Quantificação

Composto	LD	LQ
α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$)	0,7948	2,3844
Colesterol (mg/g)	0,2499	0,7498
β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	0,0086	0,0259

IV.3. Quantificação simultânea em HPLC de Vitamina E, Colesterol e β -caroteno

IV.3.1. α -tocoferol

Na figura 20 apresentam-se os resultados obtidos para o teor de α -tocoferol na carne de vaca estudada.

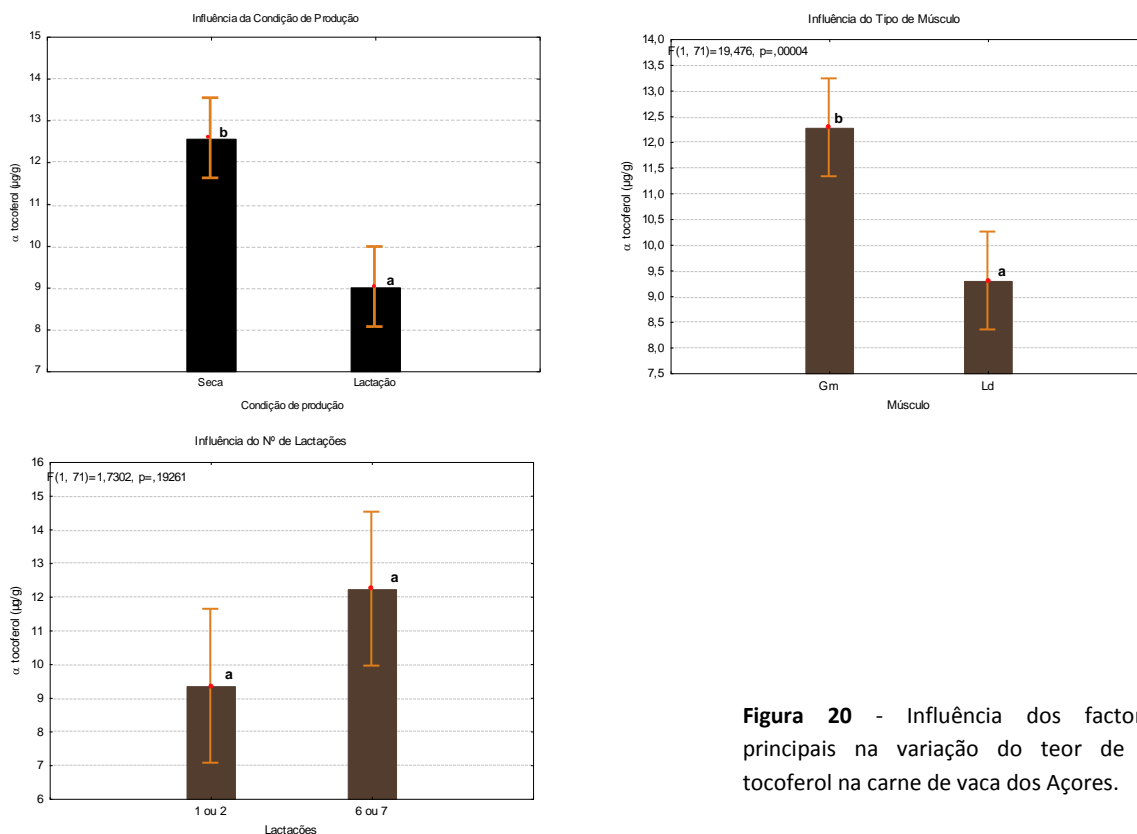


Figura 20 - Influência dos factores principais na variação do teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores.

O teor de α -tocoferol foi significativamente ($p < 0,01$) influenciado pelos factores condição de produção e tipo de músculo (Figura 20; Tabela 11). Também se verificou uma influência significativa no teor de α -tocoferol na interacção dos factores condição de produção e número de lactações, bem como da co-variante peso de carcaça (Tabela 11).

Tabela 11 – Significância dos efeitos dos factores principais e das interacções considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores.

Factor	F	P	Nível de significância
Condição de Produção	27,05	<0,0001	***
Número de Lactações	1,73	0,1926	***
Tipo de músculo	19,47	<0,0001	***
Condição de Produção * Nº de Lactações	9,69	0,0026	**

Tabela 11 (cont.) - Significância dos efeitos dos factores principais e das interacções considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores.

Factor	F	P	Nível de significância
Condição de Produção * Músculo	0,81	0,3694	n.s.
Nº de Lactações * Músculo	3,38	0,0701	n.s.
Idade	0,67	0,041	n.s.
Peso	16,73	0,00011	***

De entre os factores principais, a condição de produção (em lactação ou seca) foi o factor que exerceu maior influência individual no teor de α -tocoferol na carne ($F=27,05$; $p < 0,0001$) (Figura 19, Tabela 11). Este factor apresentou um valor médio de $9,00 \mu\text{g/g}$ para as vacas em lactação e de $12,56 \mu\text{g/g}$ para as vacas secas. O segundo factor que originou maior variação foi o tipo de músculo ($F=19,47$; $p < 0,0001$) (Figura 20, Tabela 11). O músculo *gm* apresentou um valor médio de $12,28 \mu\text{g/g}$ e o músculo *ld* $9,30 \mu\text{g/g}$. Também o factor peso, exerceu uma influência significativa na variação do teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores ($F=16,73$; $p=0,00011$) (Tabela 11).

Quanto às interacções verificadas entre os factores, apenas a interacção entre a condição de

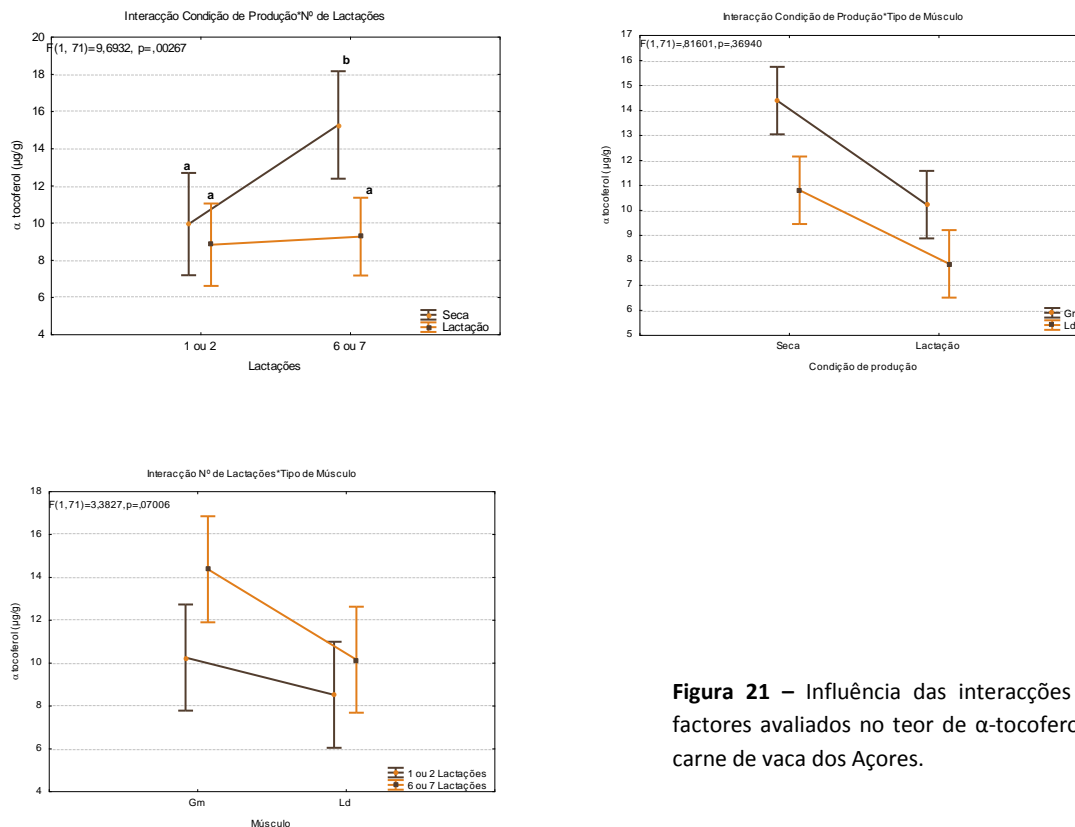


Figura 21 – Influência das interacções dos factores avaliados no teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores.

produção e o número de lactações se mostrou significativa ($F=9,69$; $p=0,0026$) (Figura 21; Tabela 11).

Por outro lado, as interações entre a condição de produção e o tipo de músculo, bem como, entre o número de lactações e o tipo de músculo não revelaram efeitos significativos sobre o teor de α -tocoferol na carne (Figura 21; Tabela 11).

Pela análise dos gráficos da figura 21, nota-se claramente que as vacas secas que completaram 6 a 7 lactações apresentaram um teor mais elevado de α -tocoferol na carne, notando-se uma diferença significativa entre o valor de α -tocoferol nas vacas em lactação e as vacas secas. No caso de 1 a 2 lactações, a diferença entre os dois teores de α -tocoferol é muito mais baixa de uma condição de produção para a outra.

Modelos Preditivos

A avaliação da influência conjunta dos vários factores estudados na variação do teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores, efectuada por análise de regressão múltipla encontra-se representada na figura 22.

O modelo estimado para a variação do teor de α -tocoferol na carne evidenciou uma correlação altamente significativa ($p < 0,05$) com um coeficiente de determinação de 0,523 (Figura 22) recorrendo à utilização de quatro variáveis das cinco variáveis correspondentes aos factores em estudo – i.e. *idade de abate*, *peso da carcaça*, *condição de produção*, *número de lactações* e uma das cinco interações testadas. Das variáveis e interações testadas, a interação da idade de abate com o número de lactações é a que revela maior influência (Figura 22) no teor de α -tocoferol.

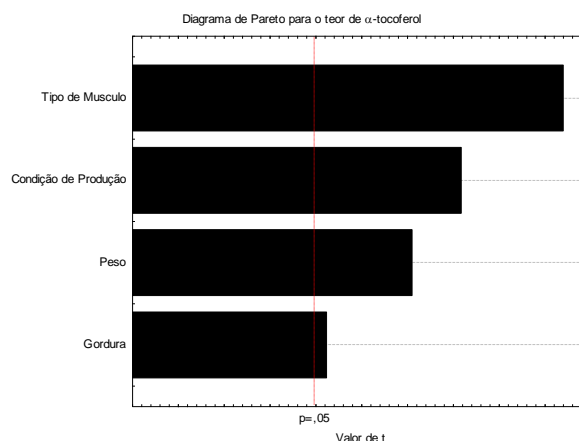


Figura 22 – Modelo de regressão múltipla para o teor de α -tocoferol na carne de vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados.

Pela análise do gráfico, pode constatar-se uma influência muito significativa do tipo de músculo na variação do teor de α -tocoferol, seguida da condição de produção como segundo factor mais influente, bem como dos factores peso e gordura intramuscular (Figura 22).

Discussão

O teor de α -tocoferol na carne dos Açores foi significativamente ($p < 0,01$) influenciado pelos factores condição de produção e tipo de músculo.

A condição de produção influenciou significativamente ($p < 0,01$) o teor de α -tocoferol na carne de vacas leiteiras dos Açores apresentando as vacas em lactação um teor mais baixo, com um valor médio de 9,00 $\mu\text{g/g}$ comparativamente com as vacas secas, com um valor médio de 12,56 $\mu\text{g/g}$.

Esta diferença de teores das vacas em lactação em relação às vacas secas, poderá estar relacionado com o facto das vacas em lactação, poderem mobilizar este componente para o leite que estão a produzir. Tratando-se do α -tocoferol de uma vitamina lipossolúvel, este dissolve-se na gordura do leite. Pelo contrário, as vacas secas já não se encontram a produzir leite, à medida que se alimentam vão acumulando este componente no organismo, daí apresentarem um teor mais elevado de α -tocoferol.

O tipo de músculo também influenciou significativamente ($p < 0,01$) o teor de α -tocoferol na carne de vacas leiteiras. Apresentando o músculo *gm* um valor médio de 12,27 $\mu\text{g/g}$ e o músculo *ld* 9,29 $\mu\text{g/g}$.

Prates *et al.* (2006) verificou valores de 2,26 $\mu\text{g/g}$ para o músculo *ld* e de 1,94 $\mu\text{g/g}$ para o músculo *st*. Kerry *et al.* (2000) encontraram no músculo *gm*, concentrações de 3,50 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol. Já, West *et al.* (1997) mencionou valores ligeiramente mais altos, encontrando concentrações que variaram entre 3,70 e 7,00 $\mu\text{g/g}$ sugerindo que pode haver uma diferença nos níveis deste componente dependendo da disponibilidade deste nas pastagens. Walshe *et al.* (2006) encontrou valores de 4,05 $\mu\text{g/g}$ para o músculo *ld*.

Jensen *et al.* (1998) relatou uma maior acumulação deste componente nos músculos com maior metabolismo oxidativo em comparação com o de metabolismo glicolítico. Também Lauridsen *et al.* (2000) num estudo realizado em carne de porco, verificou uma maior acumulação de α -tocoferol no músculo *psaos major* comparativamente com o músculo *ld*.

Portanto, a diferença de valores encontrados neste estudo podem estar relacionados com o carácter oxidativo do músculo *gm* comparativamente com o músculo *ld*.

Também se verificou uma influência significativa ($F= 11,20$; $p = 0,0013$) no teor de α -tocoferol na interação dos factores condição de produção e número de lactações representada na figura 21. Esta interação verificou que as vacas que completaram um menor número de lactações (1/2) quer as que se encontravam em lactação, quer aquelas que já encontravam secas apresentaram um valor mais baixo α -tocoferol na carne. No caso das vacas com um maior número de lactações (6/7), notou-se uma diferença clara no teor de α -tocoferol nas vacas secas, apresentando estas um teor muito mais elevado relativamente às vacas em lactação. Este resultado sugere que um maior número de lactações esteja associado a uma acumulação ao longo do tempo deste componente no organismo, uma vez que estas vacas se alimentam durante todo o ano unicamente em pastagens melhoradas de azevém. Estas pastagens, por sua vez, são muito ricas em α -tocoferol, podendo assim justificar-se o elevado teor deste componente nestas vacas. Esta conclusão é feita, tendo em consideração, que um maior número de lactações esteja igualmente associado a vacas mais velhas. De salientar ainda, que as vacas em lactação podem apresentar um teor mais baixo, deste componente possivelmente devido à sua presença no leite, não se acumulando assim no organismo da vaca, como referido anteriormente.

Na análise pelo modelo de regressão múltipla, surge uma influência significativa ($p < 0,05$) da gordura intramuscular na variação do teor de α -tocoferol, o que sugere que a gordura intramuscular seja co-responsável pela acumulação de α -tocoferol na carne.

A comparação destes resultados com os de outros autores não foi possível, devido à inexistência de estudos realizados anteriormente sobre esta temática.

De um modo geral, os teores de α -tocoferol na carne, verificados neste estudo, foram muito elevados. Estes valores podem estar relacionados com o tipo de alimentação das vacas, que pastoreiam durante o ano inteiro em pastagens melhoradas de azevém. Vários estudos, relacionam um aumento do teor de α -tocoferol na carne com o tipo de alimentação das vacas, apresentando as vacas de pastagens, valores mais elevados do que as que a dieta se baseia em cereais ou concentrados. (Descalzo *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 1988; Mitsumoto *et al.*, 1993; Ponte *et al.*, 2008; West *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2002;)

IV.3.2. γ -tocoferol e δ -tocoferol

Estes dois isómeros de tocoferol foram analisados da mesma forma que o α -tocoferol. No entanto, o seu teor não foi determinado, uma vez que ficou abaixo do limite de quantificação do método.

IV.3.3. Colesterol

Os teores de colesterol na carne dos Açores foram significativamente ($F= 24,18$; $p < 0,0001$) (Figura 23; Tabela 12) influenciados pela condição de produção das vacas. As vacas que se encontravam em lactação apresentaram um valor médio de 1,20 mg/g e as vacas secas um valor médio superior 1,46 mg/g. Por outro lado, os factores individuais número de lactações e tipo de músculo não revelaram influência significativa no teor de colesterol (Tabela 12).

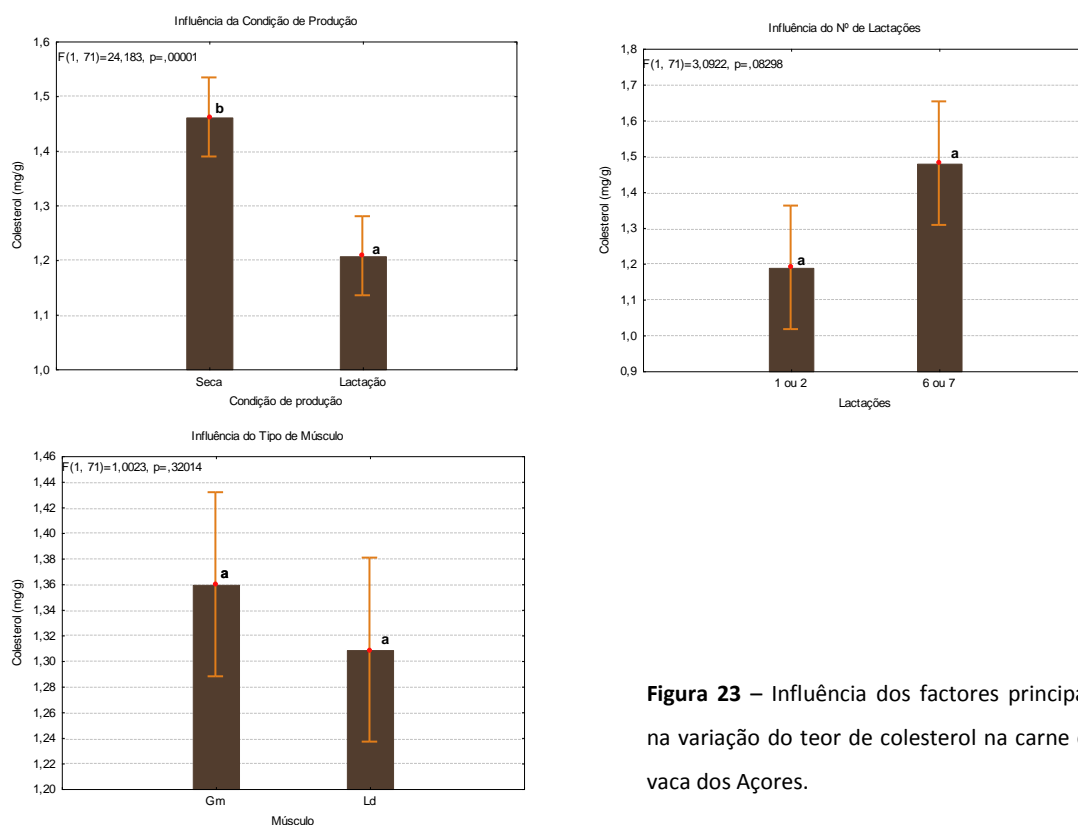


Figura 23 – Influência dos factores principais na variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores.

A interacção de factores revelou que a interacção dos factores condição de produção e número de lactações influenciaram significativamente o teor deste componente ($F=14,60$; $p=0,0002$) (Figura 24; Tabela 12). Ao passo que, a interacção entre os factores músculo e condição de produção, bem como músculo e o número de lactações não revelaram influência significativa (Tabela 12).

Tabela 12 - Significância dos efeitos dos factores principais e das interacções considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores.

Factor	F	P	Nível de Significância
Condição de Produção	24,18	<0,0001	***
Número de Lactações	3,09	0,0830	n.s.
Tipo de músculo	1,00	0,3201	n.s.

Tabela 12 (cont.) - Significância dos efeitos dos factores principais e das interações considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores.

Factor	F	P	Nível de Significância
Condição de Produção * Nº de Lactações	14,60	0,0002	***
Condição de Produção * Músculo	0,05	0,8326	n.s.
Nº de Lactações * Músculo	1,46	0,2302	n.s.
Idade	2,79	0,099	n.s.
Peso	3,96	0,0503	n.s.

A interacção dos factores condição de produção e o número de lactações revelou uma influência significativa ($F= 14,60$; $p < 0,001$) (Tabela 12; Figura 24) no teor de colesterol na carne.

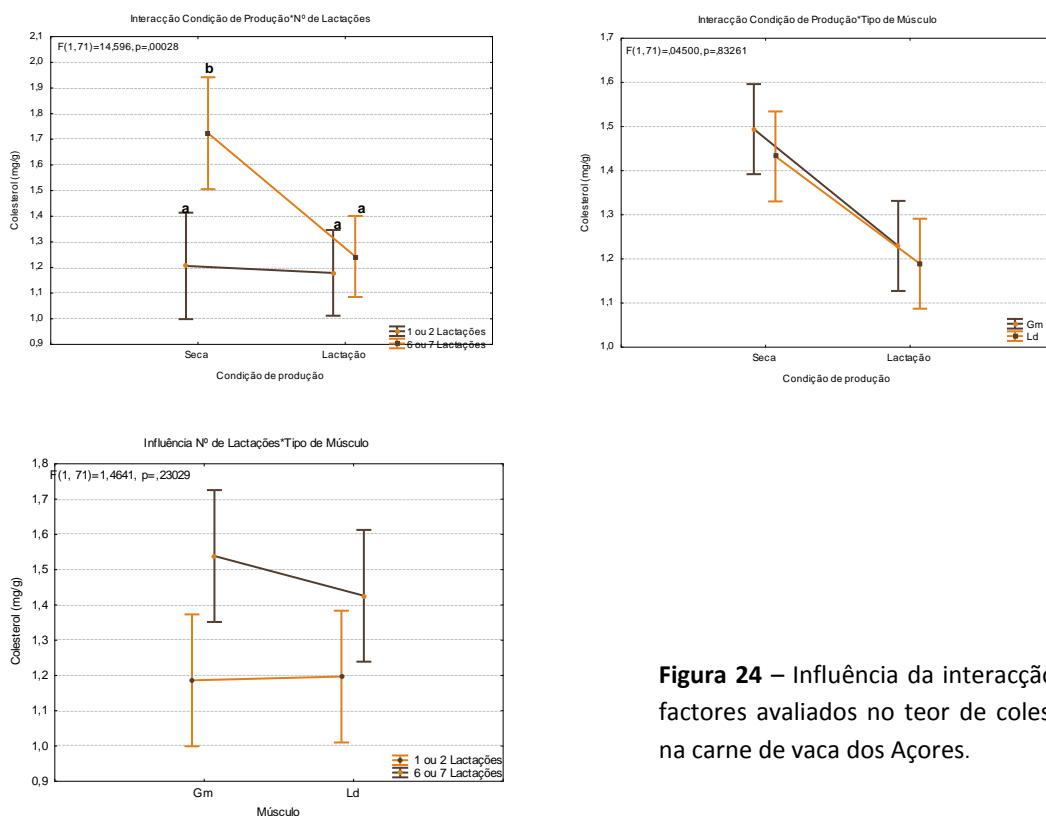


Figura 24 – Influência da interacção dos factores avaliados no teor de colesterol na carne de vaca dos Açores.

Pela análise dos gráficos da figura 24 pode constatar-se que as vacas que se encontram em produção de leite apresentam valores mais baixos de colesterol na carne comparativamente com as vacas secas que apresentam valores muito superiores, principalmente quando se trata de vacas que completaram um maior número de lactações (6/7).

Modelos Preditivos

A avaliação da influência conjunta dos vários factores estudados na variação do teor de colesterol na carne de vaca dos Açores, efectuada por análise de regressão múltipla encontra-se representada na figura 25.

O modelo estimado para a variação do teor de colesterol na carne evidenciou uma correlação altamente significativa ($p < 0,05$) com um coeficiente de determinação de 0,279 (Figura 25) recorrendo à utilização de quatro das cinco variáveis correspondentes aos factores em estudo – i.e. *idade de abate*, *peso da carcaça*, *condição de produção*, *número de lactações* e uma das cinco interacções testadas. Das variáveis e interacções testadas, a interacção da idade de abate com o numero de lactações é a que revela maior influência (Figura 24) no teor de colesterol. A este modelo ainda foi oferecido o teor de gordura intramuscular correspondente a cada amostra mas não surtiu influência na variação do colesterol.

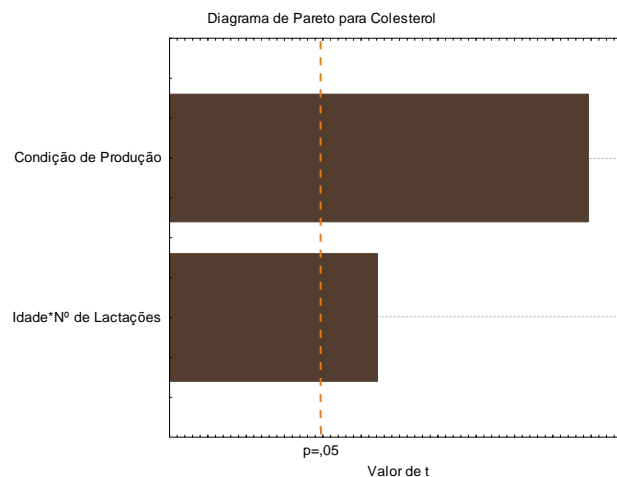


Figura 25 – Modelo de regressão múltipla para o teor de colesterol na carne vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados.

Pelo gráfico pode constatar-se uma influência muito significativa da condição de produção na variação do teor de colesterol, bem como da interacção entre a idade de abate e o número de lactações das vacas, factores estes que separadamente não exerciam qualquer influência (Figura 25).

Discussão

Os teores de colesterol na carne dos Açores foram significativamente ($p < 0,05$) influenciados pela condição de produção das vacas.

A condição de produção apresentou valores médios de 1,20 mg/g para as vacas em lactação e um valor médio de 1,46 mg/g para as vacas secas.

Esta diferença de valores poderá ser explicada pelo facto de as vacas quando se encontram em lactação mobilizarem todas as suas reservas energéticas para a produção de leite. E tal como acontece com o α -tocoferol, o colesterol ser mobilizado para o leite que a vaca se encontra a produzir, daí o valor mais baixo.

Contudo, estudos realizados por O’Kelly (1967) em sangue de vacas em lactação e em vacas secas, verificou um teor mais elevado de colesterol nas primeiras. À mesma conclusão chegaram também Antoncic-Sventina et al. (2002) e Guédon et al. (1999).

Por outro lado, os factores individuais número de lactações e tipo de músculo não revelaram influência significativa no teor de colesterol.

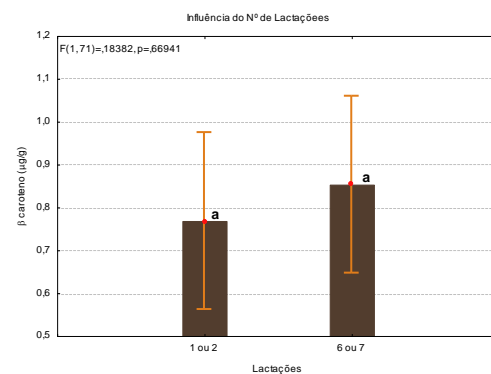
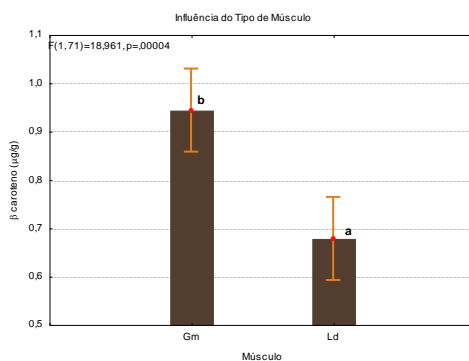
A interacção de factores revelou que os factores condição de produção e número de lactações influenciaram significativamente o teor deste componente. Ao passo que, a interacção entre os factores tipo de músculo e condição de produção, bem como tipo de músculo e o número de lactações não revelaram influência significativa.

Pela análise de regressão múltipla (Figura 24), verificou-se ainda a influência significativa da interacção dos factores idade de abate e número de lactações. Esta influência significativa ($p < 0,05$), poderá querer dizer que, à medida que as vacas ficam mais velhas e conseqüentemente com um maior número de lactações, o seu teor em colesterol também aumenta na carne.

Contudo, não foi encontrada bibliografia que relatasse estudos feitos em carne de vacas leiteiras, pelo que a comparação dos teores de colesterol na carne com outros estudos não foi possível.

IV.3.4. β -caroteno

A análise de variância efectuada à variação do teor de β -caroteno na carne de vaca dos Açores revelou efeitos significativos ($p < 0,001$) apenas do factor individual tipo de músculo (Tabela 13).



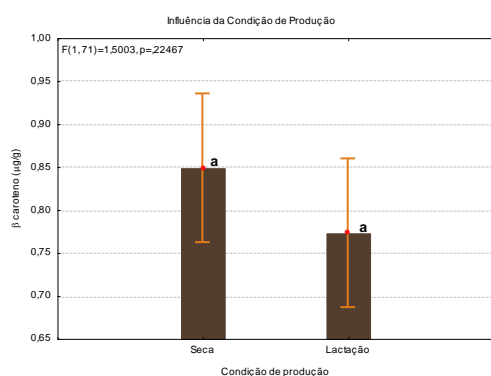


Figura 26 – Influência dos factores principais na variação do teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores.

O único factor que influenciou a variação do teor de β-caroteno foi o tipo de músculo ($F=18,96$; $p<0,0001$) (Tabela 13; Figura 26). O músculo *gm* apresentou um valor médio de β-caroteno de 0,94 µg/g, enquanto que o músculo *ld* apresentou um valor muito mais baixo 0,68 µg/g.

Tabela 13 - Significância dos efeitos dos factores principais e das interacções considerados no modelo de análise de variância da variação do teor de β-caroteno na carne de vaca dos Açores.

Factor	F	P	Nível de significância
Condição de Lactação	1,50	0,2246	n.s.
Número de Lactações	0,18	0,6694	n.s.
Tipo de músculo	18,96	<0,0001	***
Condição de Lactação * Nº de Lactações	1,20	0,2779	n.s.
Condição de Lactação * Músculo	0,97	0,3287	n.s.
Nº de Lactações * Músculo	1,23	0,2710	n.s.
Idade	0,89	0,3489	n.s.
Peso	0,08	0,7716	n.s.

Por outro lado, a condição de produção bem como a interacção dos factores analisados não revelaram qualquer influência neste valor (Tabela 13; Figura 27).

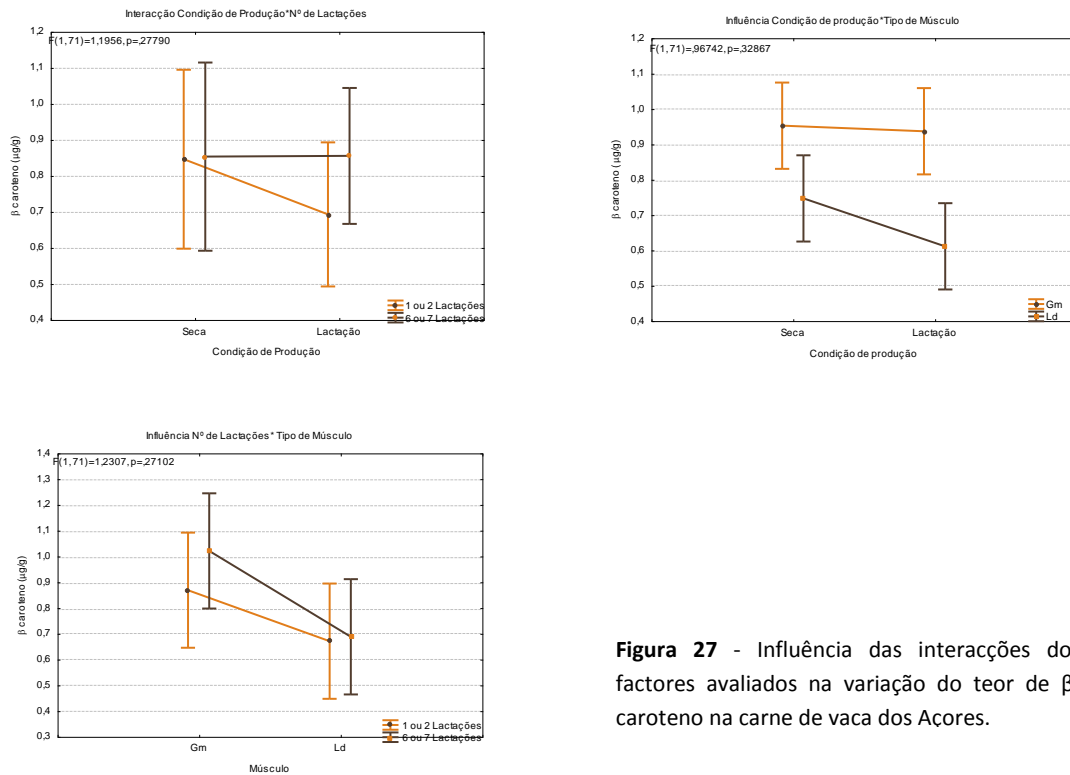


Figura 27 - Influência das interações dos factores avaliados na variação do teor de β -caroteno na carne de vaca dos Açores.

Modelos preditivos

A avaliação da influência conjunta dos cinco factores considerados na variação do teor de β -caroteno na carne de vaca dos Açores, efectuada por análise de regressão múltipla encontra-se representada através de um diagrama de Pareto na figura 28.

O modelo estimado para a variação do teor de β -caroteno na carne evidenciou uma correlação altamente significativa ($p < 0,05$) com um coeficiente de determinação de 0,554 recorrendo à utilização de quatro variáveis das cinco variáveis correspondentes aos factores em estudo – i.e. idade de abate, peso da carcaça, condição de produção e número de lactações.

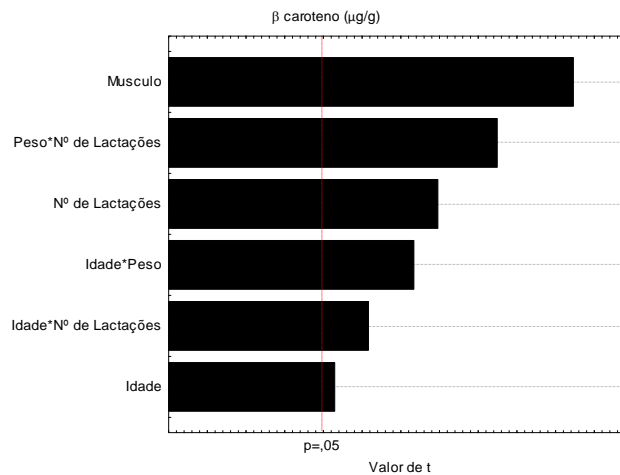


Figura 28 – Modelo de regressão múltipla para o teor de β -caroteno na carne vaca dos Açores. Representação dos valores de t para os factores considerados.

Pela análise do gráfico da figura 28, constata-se que o factor que melhor explica a variação do teor de β -caroteno é o tipo de músculo, como já tinha sido provado na regressão linear. Como segundo factor mais influente temos a interacção do peso com o número de lactações, seguida do número de lactações, interacção idade de abate e peso de carcaça, seguida ainda pela interacção idade de abate e número de lactações, e por último temos como factor menos influente a idade de abate individualmente. A este modelo ainda foi oferecido a variável do teor de gordura intramuscular correspondente a cada amostra mas não surtiu influência na variação do teor de β -caroteno .

Discussão

Os teores de β -caroteno na carne de vaca dos Açores foram influenciados significativamente ($p < 0,05$) pelo tipo de músculo. Por outro lado, a condição de produção e o número de lactações, bem como a interacção dos factores analisados não revelaram qualquer influência neste valor.

O tipo de músculo foi o factor que maior influência teve no teor de β -caroteno na carne. O músculo *gm* apresentou um teor médio de $0,94 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno e o músculo *ld* um teor médio de $0,68 \mu\text{g/g}$.

Prates *et al.* (2006) encontrou valores de $0,09 \mu\text{g/g}$, $0,07 \mu\text{g/g}$ e de $0,08 \mu\text{g/g}$ nos músculos *lt* (*Longissimus thoracis*), *ll* (*Longissimus lumborum*) e *st* (*Semitendinosus*). Walshe *et al.* (2006) verificou valores de $0,152 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno no músculo *ld* de animais criados em regime orgânico.

Descalzo *et al.* (2005) num estudo realizado em carne de bovinos da Argentina criados em pasto, reportou valores de $0,45 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno.

Yang *et al.* (2002) verificou concentrações de 0,16 µg/g para o músculo *ld* e de 0,22 µg/g para o músculo *gm*, não se verificando, no entanto, diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os elevados valores registados podem estar relacionados com o tipo de dieta das vacas, que é baseado essencialmente em pastagens melhoradas de azevém. Uma vez que, provado está por um número elevado de autores a relação directa entre a alimentação à base de pasto e os teores elevados de β -caroteno.

IV.3.5. Limitações

Durante a realização deste trabalho, existiram situações e problemas inesperados que acabaram por atrasar a realização do mesmo, sendo o mais importante deles o seguinte:

- A Taxa de Recuperação do β -caroteno foi um tarefa difícil de realizar, uma vez que ao realizar o procedimento para a sua determinação, depois dos cálculos feitos obtinham-se a valores muito superiores ao esperado (no máximo, 125%).

Depois de muitas tentativas realizadas, chegou-se à conclusão que no mesmo tempo de retenção a que estava a sair do pico saía também um interferente desconhecido que ampliava em muito o valor do pico do β -caroteno.

Portanto, depois de descobrir a razão dos valores “anormais” de taxa de recuperação para o β -caroteno, utilizou-se o valor de 164,9% (o mais baixo conseguido). E aplicou-se este valor aos resultados obtidos para as amostras, para que assim pudéssemos obter uns resultados de teor em β -caroteno mais próximos dos esperados.

V. Conclusões

Este trabalho teve como objectivo estudar a influência da condição de produção, do número de lactações, do tipo de músculo, da idade de abate e do peso da carcaça nos teores de α -tocoferol, colesterol e β -caroteno na carne de vacas, com uma dieta à base de pastagens melhoradas de azevém.

Os factores tipo de músculo e condição de produção foram aqueles, que de um modo geral mais influenciaram os teores dos componentes estudados.

O factor condição de produção foi o que mais influenciou o teor de α -tocoferol na carne. Contudo, também os factores tipo de músculo, peso de carcaça e teor de gordura intramuscular influenciaram esta variação.

O factor tipo de músculo foi o que mais influenciou o teor de β -caroteno.

Relativamente ao colesterol, o único factor individual que surtiu efeitos significativos foi o factor condição de produção. Também se verificou uma influência significativa da interacção entre o número de lactações e a idade do animal, que influenciou grandemente este teor na carne, denotando-se assim, uma acumulação com o aumento da idade e com o aumento do número de lactações.

De um modo geral, os valores encontrados neste estudo encontram-se acima dos relatados por outros autores em estudos semelhantes. Contudo, estes valores podem ser considerados normais, tendo em conta o tipo de alimentação que estes animais fazem, à base de pastagens, uma vez que as pastagens são extremamente ricas em vitamina E e β -caroteno, que ao serem ingeridos na dieta se acumulam na carne.

Portanto, pode-se considerar que a carne de vaca dos Açores alimentadas à base de pastagens apresenta uma qualidade nutricional superior comparativamente com as vacas de dietas à base de cereais e concentrados. Pelo que a aposta na produção de uma forma natural será benéfica para a qualidade da carne, bem como o reconhecimento por parte dos consumidores desta qualidade superior, mesmo se tratando, como é o caso, de vacas que se encontravam a produzir leite ou que já se encontravam secas.

Pode assim, concluir-se que as vacas leiteiras também apresentam uma boa qualidade nutricional na sua carne, tendo em conta os parâmetros analisados neste estudo.

VI. Bibliografia

AGROPORAL (2007) - *Açores: Carne com indicação geográfica começa a ser vendida 5ª feira ao continente*. Disponível em: <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2007/02/27a.htm>. Acedido a 21 de Fevereiro de 2011

ALFAIA, C., RIBEIRO, V., LOURENÇO, M., QUARESMA, M., MARTINS, S., PORTUGAL, A., FONTES, C., BESSA, R., CASTRO, M. & PRATES, J. (2006) – *Fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and cholesterol in beef from crossbred bullocks intensively produced and from Alentejana purebred bullocks reared according to Carnelentejana-DOP specifications*. *Meat Science*, 72, 425-436.

ANÓNIMO (2006) – *Características Produtivas e Sistemas de Produção do Porco de Raça Alentejana*. Mestrado de Produção Animal. Açores

ANÓNIMO (s.d.) – *Colesterol – Informação Diese*. Disponível em: www.diese.pt/info/getpdf/14. Acedido a 18 de Julho de 2011.

ANÓNIMO (2011) – *Cholesterol reduction: A doctor's guide*. Disponível em: <http://www.cholesterol-reduction.org/>. Acedido a 18 de Julho de 2011.

ARNOLD, R. et al. (1993) - *Dietary α -tocopheryl acetate enhances beef quality in Holstein and beef breed steers*. *Journal Food Science*, v. 58, p.28.

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CRIADORES DA RAÇA FRÍSLIA (APCRF) (2011) – *A Raça Holstein Frísia*. Disponível em: <http://www.apcrf.pt/gca/?id=147>. Acedido a 08 de Junho de 2011.

ASSUNÇÃO, J. (2007) – *Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional dos leites e produtos lácteos dos Açores*. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

AUROUSSEAU, B., BAUCHART, D., CALICHON, E., MICOL, D., PRIOLO, A. (2004) – *Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the *M. Longissimus thoracicus* of lambs*. *Meat Science*, 66, 531-541.

BALL, G. (2006) - *Vitamins in foods: Analysis, Bioavailability, and Stability*. Taylor & Francis Group. New York

BAYER HEALTH CARE(s.d.). *Beta-Caroteno*. Disponível em: <http://www.vitaminas.bayer.pt%2Fscripts%2Fpages%2Fpt%2Fvitaminas%2Fbeta-caroteno%2Findex.php&h=8a5f7>. Acedido a: 24 de Fevereiro de 2011.

BÉLTRAN J. & RONCALÉS, P. (2000) - 4.4. *Determinación de la textura*. In: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria M. d. C. y. T., editor. *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en ruminantes*. Madrid, España. p 167-172.

BIESALSKI, H. (2005) - *Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?* *Meat Science*, 70(3), 509-524.

BOLEMAN, S. J., BOLEMAN, S. L., MILLER, R., TAYLOR, J., CROSS, H., WHEELER, T., KOOHMARAIE, M., SHACKELFORD, S., MILLER, M., WEST, R., JOHNSON, D. & SAVELL, J. (1997) – *Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness*. *Journal of Food Science*, 75, 1521-1524.

BRAGAGNOLO, N. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. (2002) – *Simultaneous determination of total lipid, cholesterol and fatty acids in meat and backfat of suckling and adult pigs*. *Food Chemistry*, 79, 255-260.

BRAMLEY, P., ELMADFA, I., KAFATOS, A., KELLY, F. MANIOS, Y., ROXBOROUGH, H., SCHUCH, W., SHEEHY, P. E WAGNER, K. (2000) - *Vitamin E*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (2000) 913-938.

BREDA, J. (2003) – *Fundamentos de Alimentação, Nutrição e Dietética*. Coimbra Mar da Palavra – Edições Lda. 2003. p. 21-25.

BRESSOLLE, F., BROMET-PETIT, M., AUDRAN, M. (1996) - *Validation of liquid chromatographic and gaschromatographic methods. Application to pharmacokinetics*. *Journal of Chromatography B*, v. 686, p. 3-10.

BROOKS, J., BELEW, J., GRIFFIN, D., GWARTEY, B., HALE, D., HENNING, W., JONHSON, D., MORGAN, J., PARRISH, F., REAGAN, J. & SAVELL, J. (2000) - *National beef tenderness survey-1998*. *Journal Animal Science*, 78, 1852-1860.

BUCKLEY, D., MORRISSEY, P. & GRAY, J. (1995) - *Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat*. *Journal of Animal Science*, 73,3122-3130.

CARPENTER, C., CORNFORTH, D., WHITIER, D. (2001) – *Consumer preferences for nbeef color and packaging didi not affect eating satisfaction*. *Meat science*, 57, 359-363.

CASSENS, R. & COOPER, C. (1971) – *Red and white muscle*. *Advances in Food Research*, 19, 1-74.

CHAPMAN, M. (1980) – *Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects*. Journal of Lipid Research, 21, 789-853.

CHAPMAN, M. (2006) - *Therapeutic elevation of HDL-cholesterol to prevent atherosclerosis and coronary heart disease*. Pharmacol Ther. 111, 893-908.

CHIZZOLINI, R., ZANARDI, E., DORIGONI, V. & GHIDINI, S. (1999) – *Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products*. Trends in Food Science & Technology 10, 119-128.

COMISSÃO EUROPEIA (s.d.) – *Carne dos Açores: Indicação Geográfica – IG*. Disponível em: ec.europa.eu/agriculture/quality/documentDisplay.html? Acedido a 22 de Março de 2011.

COMISSÃO EUROPEIA – DG AGRI (2003) – *O Sector da Carne da União Europeia*.

CORNFORTH, D. (1999) – Color – its basis and importance. Em: *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*. Advances in Meat Research Series. Volume 9, A.M. Pearson, e T.R. Dutson (Eds.). 34-78. An Aspen Publication. Maryland

CATÁLOGO RURAL (s.d.) – *Holandês (Holstein)*. Disponível em: http://www.agrov.com/animais/bovinos/holandes_holstein.htm. Acedido a 08 de Junho de 2011.

CORTEZ, P. (2008) – *Bovinos de Leite*. Disciplina de Exogénia e Maneio Animal. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Universidade do Porto.

COSTA, A. (2009) – *Utilização de Probióticos em Perus (Meleagris Gallopavo) como Promotores de Crescimento*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária apresentado à faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

COSTA, P. (2007) – *Feira agrícola dos Açores 2007*. Disponível em: <http://sraf.azores.gov.pt/feira2007/uploads/Angus2.pdf>. Acedido a: 11 de Março de 2011.

COSTA, P. (2007a) – *A importância da raça Aberdeen-Angus para a fileira das carnes*. Disponível em: <http://sraf.azores.gov.pt/feira2007/uploads/Angus1.pdf>. Acedido a 10 de Março de 2011.

Costa, P. (2008) – *Estudo da fracção lipídica das Carnes Mertolenga - DOP e Barrosã-DOP*. Dissertação para a obtenção de grau de Doutor em Ciência animal apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto-Douro.

COSTA, P. (2010) – *Carne dos Açores – IGP: Produção & Comercialização*. Disponível em: http://www.faa.pt/TEMA6_4_1. Acedido a 10 de Maio de 2011.

COULTATE, T. (1996) - *Carotenoids*. In T. P. Coultate (Ed.), *Food — The chemistry of its components* (pp. 178–186). (4th ed.). Cambridge: RSC Paperbacks

CRESPO, D. (1995) – *Pastagens, forragens e produção animal. Sistemas intensivos vs. Sistemas extensivos*. “Pastagens e Forragens”, vol. 16, 61-73

CROSS, H. (1994) - *Características organolépticas de la carne. Parte 1*. Factores sensoriales y evaluación. In: James F. Price y Bernard S. Schweigert – Editorial Acribia S. A., editor. *Ciencia de la carne y de los productos carnicos*. Zaragoza, España. p 279-297.

DESCALZO, A., INSANI, E., BIOLATTO, A., SANCHO, A., GARCIA, P., PENSEL, N. & JOSIFOVICH, J. (2005) - *Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef*. *Meat Science* 70, 35-44.

DIAS, A. (2008) - *Caracterização de duas explorações de raça bovina alentejana produtoras de Carnalentejana DOP*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

DIRECÇÃO-GERAL DE SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE (DGS) (2002) – *Princípios para uma alimentação saudável*. Disponível em: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i008722.pdf>. Acedido a 11 de Julho de 2011.

DOLCETA (2010) – *Consumo sustentável: Rótulos oficiais de qualidade*. Disponível em: <http://www.dolceta.eu/portugal/Mod5/Rotulos-oficiais-de-qualidade.html>. Acedido a 18 de Maio de 2011.

DUNNE, P. (2009) - *Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history*. *Meat Science*, 81: 28–45.

EDWARDS, S.A. (2005) - *Product quality attributes associated with outdoor pig production*. *Livestock Production Science* 94, 5-14.

EICHORN, J., WAKAYAMA, E., BLOMQUIST, G. & BAILEY, C. (1986) – *Cholesterol content of muscle and adipose tissue from crossbred bulls and steers*. *Meat Science*, 16, 71-78.

EMER, J., MILLER, J.H.M. (EDITORES), (2005), *Method validation in pharmaceutical analysis: A guide to best practice*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim, ISBN: 3-527-31255-2.

ENSER, M., HALLETT, K., HEWETT, B., FURSEY, A., WOOD, J. & HARRINGTON, G. (1998) – *Fatty acid content and composition of UK Beef and lamb Muscle in relation to production system and implications for human nutrition*. Meat Science, 49, 329-341.

ERIKSSON & PICKOVA (2007) – *Fatty acids and tocopherol levels in M. Longissimus dorsi of beef cattle in Sweden – A comparison between seasonal diets*. Meat Science, 76, 746-754.

EURACHEM GUIDE (2000) - *Guia Eurachem/CITAC*. Disponível em: http://www.eurachem.fc.ul.pt/Guia_Eurachem_P.pdf. Acedido a 06 de Setembro de 2011.

EUVG (2008) – *Sistemas de produção*. Disponível em: <http://biorumen.net/Ficheiros/Sistemasdeprod.pdf>. Acedido a 22 de Fevereiro de 2011.

FAA (2011) - *Carne dos Açores – Fruto da Pastagem*. Disponível em: http://www.faa.pt/art_carne_acores.pdf. Acedido a 03 de Março de 2011.

FAUSTMAN, C. & CASSENS, R. (1990) – *Influence of aerobic metmyoglobin reducing capacity on color stability of beef*. Journal of Food Science, 55, 1278-1283.

FIEMS, L., CAMPENEERE, S., BOEVER, J. & VANACKER, J. (2003) – *Carcass and meat quality in double-muscle Belgian Blue bulls and cows*. Meat Science, 63, 345-352.

FILIFEJOVÁ, T. & KOVÁČIK, J. (2009) – *Evaluation of selected biochemical parameters of blood plasma, urine and milk of dairy cows during the lactating period*. Slovak Journal of Animal Science, 42, Supplement 1: 8-12.

FRENCH, P., STANTON, C., LAWLESS, F., RIORDAN, E., MONAHAN, F., CAFFREY, P., MOLONEY, A. (2000) – *Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets*. Journal of Animal Science, 78, 2849-2855.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2009) - *FAO's Animal Production and Health Division: meat & meat products*. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGInfo/themes/en/meat/background.html> Acedido a 21 de Junho 2011.

FAUSTMAN, C., CHAN, W., SCHAEFER & HAVENS, A. (1998) – *Beef colour update: The Role for Vitamin E*. Journal Animal Science. 76:1019-1026

-
- FERREIRA, F. (1983) - *Nutrição Humana*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 1983. 69-78.
- FERREIRA, T. (2008) – *Produção de suínos de raça alentejana em sistema intensivo até ao final da pré-engorda*. Dissertação de mestrado apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- GAMA, L., CAROLINO, N., COSTA, M., MATOS, C. (2004) - *Recursos genéticos animais em Portugal*. Relatório Nacional. Estação Zootécnica Nacional, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Pescas, Portugal.
- GAZIANO, J., HATTA, A., FLYNN, M., JOHNSON, E., KRINSKY, N., RIDKER, P., HENNEKENS, C. & FREI, B. (1995) – *Supplementation with β -carotene in vivo and in vitro does not inhibit low density lipoprotein oxidation*. *Atherosclerosis*, 112, 187-195.
- GERMAN, B. & DILLARD, J. (2006) - *Composition, structure and absorption of milk lipids: A source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46 (2006) 57-92.
- GIBB, J., IRVINGS, W., DHANOA, S. & SUTTON, J. (1992) – *Changes in body components of autumn-calving Holstein-Friesian cows over the first 29 weeks of lactation*. *Anim. Prod.*, 55, 339-360.
- GIROLAMI, A., MARSICO, I., D' ANDREA, G., BRAGHERI, A., NAPOLITANO, F. & CIFUNI, G. (2003) – *Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of ostrich meat as influenced by age at slaughter and muscle type*. *Meat Science*, 64, 309-315.
- GONÇALVES, R. (2009) – *Incorporação de folha de oliveira na dieta de suínos em crescimento. Efeito nas performances, digestibilidade, parâmetros sanguíneos e características da carne*. Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- GRAY, J., GOMA, E. & BUCKLEY, D. (1996) - *Oxidative quality and shelf life of meats*. *Meat Science*, 43 (Supplement 1), 111-123
- GUÉDON, L., SAUMANDE, J., DUPRON, F., COUQUET, C. & DESBALS, B. (1999) – *Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cows and their relationship to the resumption of ovulation*. *Theriogenology*. 51, 1405-1415.
- HIGGS, J. & MULVIHILL, B. (2005) – *The nutritional quality of meat*. In J. Kerry, K. Jonh & D. Ledward (eds.) *Meat Processing*. Woodhead publishing limited, Cambridge.
-

HIGGS, J. (2000) - *The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality*. Trends in Food Science & Technology, 11(3), 85-95.

HOELSCHER, L., SAVELL, J., SMITH, S. & CROSS, H. (1988) – *Subcellular distribution of cholesterol within muscle and adipose tissues of beef loin steaks*. Journal of Food Science, 53, 718-722.

HORNSTEIN, I. & WASSERMAN, A. (1994). *Características organolépticas de la carne. Parte 2. Química del aroma y sabor de la carne*. In: James F. Price y Bernard S. Schweigert - Editorial Acribia S. A., editor. Ciencia de la carne y de los productos carnicos. Zaragoza, España. p 299-316.

HUFF, E. & PARRISH JR., F. (1993) – *Bovine longissimus muscle tenderness as affected by post-mortem aging time, animal age and sex*. Journal of Food Science, 58 (4), 713-716.

HUFFMAN, K., MILLER, M., HOOVER, L., WU, C., BRITTIN, H. & RAMSEY, C. (1996) – *Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and restaurant*. Journal of Animal Science, 74, 91-97.

HUR, S., PARK, G., JOO, S. (2007) – *Formation of cholesterol oxidation products (COP's) in animal products*. Food Control. 18, 939-947.

IDROGO, M. (2009) – *El Periodo de Transición en la vaca lechera*. Sistema de Revesiones en Investigación Veterinaria de San Marcos. Seminario Avanzado de Investigación. Cajamarca.

INE (2010) – *Base de dados: Consumo humano de carne per capita (Kg/hab.) por tipo de carnes*. Anual. Balanço de aprovisionamento de produtos animais. Disponível em: www.ine.pt.

INSRJ (s.d.) *Tabela da Composição de Alimentos* – Edições do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

ISRAEL, H. ET AL. (2010) - *Manejo pré-abate e qualidade de carne*. Revista Electrónica de Veterinária 1695 – 7504. Brasil: Veterinária.org, 2010, Agosto, 8. Volume 11 Número 0.

JAKOBSEN, K., ENGBERG, R., ANDERSEN, J., JENSEN, S., LAURIDSEN, C., SORENSEN, R., HENCKEL, R., BERTELSEN, G., SKIBSTED, L., & JENSEN, C. (1995) - *Supplementation of broiler diets with all-rac- α - or a mixture of natural source RRR- α ; γ ; δ -tocopherol acetate. 1. Effect on vitamin E status of broilers in vivo and at slaughter*. Poultry Science, 74, 1984 – 1994.

JENSEN, M., ESSEN-GUSTAVSSON, B., & HAKKARINEN, J., (1988) - *The effect of a diet with a high or low content of vitamin E on different skeletal muscles and myocardium in pigs*. Journal of Veterinary Medicine A, 35, 487-497.

JENSEN, C., SKIBSTED, L. & BERTELSEN, G. (1998) - *Oxidative stability of frozen stored raw pork chops, chill stored pre-frozen raw pork chops, and frozen stored pre-cooked sausages in relation to dietary CuSO₄, rapeseed oil and vitamin E*. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung. A, 207: 363-368.

KANNER, J. (1992) - *Mechanism of nonenzymic lipid peroxidation in muscle foods*. In A. J. St. Angelo (Ed.), Lipid oxidation in food. ACS Symposium Series 500, Washington, DC. pp 55-73.

KEMIN (2009) - *The interaction between meat quality, lipid oxidation and antioxidants in animal diets*. Disponível em:
<http://www.viveurope.nl/en/Bezoeker/News/News%20from%20exhibitors/~media/viveurope/Files/News%20from%20exhibitors/Microsoft%20Word%20%20articleviv%20news%203pdf%20Kemin.aspx>. Acedido a 22 de Fevereiro de 2011.

KERRY, J., BUCKLEY, D., & MORRISSEY, P. (2000) - *Improvement of oxidative stability of beef and lamb with vitamin E*. In E. A. E.A., E. A. Decker, C. Faustman, & C. Lopez-Bote (Eds.). Antioxidants in muscle foods (pp. 229-262). New York: Wiley-Interscience.

KING, M. (2011) - *Introduction to cholesterol metabolism*. Disponível em:
<http://themedicalbiochemistrypage.org/cholesterol.html>. Atualizado em 27 de Junho de 2011. Acedido a 15 de Julho de 2011.

LAURIDSEN, C., JENSEN, S., SKIBSTED, L., & BERTELSEN, G. (2000) - *Influence of supranutritional vitamin E and copper on α -tocopherol deposition and susceptibility to lipid oxidation of porcine membranal fractions of M. Psoas major and M. Longissimus dorsi*. Meat Science, 54(4), 377-384.

LIU, Q., LANARI, M., SCHAEFER, D. (1995) - *A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality*. Journal of Animal Science, v. 73, p. 3131-3140.

LO FIEGO, D. ET AL. (2003) - *The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the α -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits*. Meat Science, 67 (2004) 319-327.

-
- LOPES, A. (2009) - *Efeito do sistema de produção e do sexo na qualidade da carne de peru*. Dissertação para a obtenção do grau de mestre, apresentada ao Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.
- MACHLIN, L. (1991) - *Vitamin E*. In: *Handbook of Vitamins*. 2 ed. New York: Marcel Dekker. chapter 1, p. 99-144.
- MANCINI, R. & HUNT, M. (2005) – *Current research in meat color*. *Meat science*, 71, 100-121.
- MATEUS, E. (2009) – *Animais à mesa. Zoonoses e Estratégias no Consumo de Carne*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Social e Cultural apresentado ao Instituto de Ciências Sociais da Universidade de Lisboa.
- MCCLURE, E., BELK, E., SCANGA, J., & SMITH, G. (2002) – *Determination of appropriate vitamin E supplementation levels and administration times to ensure adequate muscle tissue alpha-tocopherol concentrations in cattle destined for the Nolan ryan tender-aged beef program*. Department of Animal Sciences, Colorado State University.
- MELTON, S. (1999) – Current status of meat flavour. Em: *Quality attributes of Muscle Foods*, Y. L. Xiong, C.-T. Ho, e F. Shahidi (Eds). 115-135. Kluwer Academic. New York.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO DESENVOLVIMENTO RURAL E DAS PESCAS (MADRP) (2007) – CARNE: DIAGNÓSTICO SECTORIAL.
- MITSUMOTO, M., ARNOLD, R., SCHAEFER, D., & CASSENS, R. (1993). *Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef*. *Journal Animal Science*, 71(7), 1812-1816.
- MOLONEY, A. (1999) – R&H hall Technical Bulletin Issue no.4 – 199. *The quality of meat from beef cattle. Is it influenced by diet?*. Disponível em: http://www.rhhall.ie/print/issue4_1999.html. Acedido a 14 de Julho de 2011.
- MOLONEY, A. ET AL. (2002) – *The fat content of meat and meat products*. CRC Press LLC and Woodhead Publishing Ltd.
- MORGAN, J., PICKERING, F., EVERITT, G., (1969) - *Factors affecting yellow fat colour in cattle*. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 29, 164–175.
-

MOURA, A. (2010) – *Identificação e Rastreabilidade de Produtos de Origem Animal ao longo da Cadeia Alimentar*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária apresentado ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

MORA, O., ROMANO, J., GONZÁLEZ, E., RUIZ, F., SHIMADA, A., (2000) - *Low cleavage activity of 15,15_-dioxygenase convert beta-carotene to retinol in cattle compared with goats, is associated with the yellow pigmentation of adipose tissue*. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 70, 199–205.

MORGAN, J., MILLER, R., MENDEZ, F., HALE, D., SAVELL, J. (1991) – *Using calcium chloride injection to improve tenderness of beef from mature cows*. *Journal of Animal Science*, 69, 4469-4476.

MORRISSEY, P. A., BUCKLEY, D. J., SHEEHY, P. J. A., & MONAHAN, F. J. (1994). *Vitamin E and meat quality*. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 289-295.

MORRISSEY, P., SHEEHY, P., GALVIN, K., KERRY & BUCKLEY, D. (1998) – *Lipid stability in meat and meat products*. *Meat Science*, Vol. 49 (Supplement I), S73-S86.

MURAMOTO, T. ET AL. (2003). *Effect of dietary b-carotene supplementation on beef color stability during display of two muscles from Japanese Black steers*. *Meat Science* 63: 39–42.

NICOLOSI, R., ROGERS, E., KRITCHEVSKY, D., SCIMECA, J., HUTH, P., (1997). *Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters*. *Artery* 22, 266-277.

OLDHAM, E., EBERHART, J., MULLER, L. (1991) - *Effects of supplemental vitamin A or beta-carotene during the dry period and early lactation on udder health*. *Journal of Dairy Scienc.* 74, 3775-3781.

OLIVEIRA, W. (2009) – *Análise de Índices e Indicadores da actividade leiteira – Estudo de caso de pecuária leiteira brasileira*. Tese de Mestrado em Gestão de Empresas apresentada ao Instituto Superior de Ciências do Trabalho e da Empresa.

OUALI, A., HERRERA-MENDEZ, C., COULIS, G., BECILA, S., BOUDJELLAL, A., AUBRY, L. & SENTANDREU, M. (2006) – *Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms*. *Meat Science* 74, 44-58.

O’KELLY, J. (1967) - *Comparative studies of lipid metabolism in zebu and british cattle in a tropical environment. I. Plasma lipid levels of grazing cattle*. Disponível em:

http://www.publish.csiro.au/?act=view_file&file_id=BI9681013.pdf. Acedido a 21 de Setembro de 2011.

PÁDUA, F. (2008) – *Os nossos conselhos sobre doenças cardio-cerebro-vasculares*. Disponível em: <http://www.fundacaofernandopadua.pt/conselhos.swf>. Acedido a 18 de Julho de 2011.

PEREIRA, C. (2009) – *Produtos tradicionais com nomes protegidos: Sua influência na redução da percepção do risco alimentar – Carne dos Açores*. Trabalho realizado no âmbito da Unidade Curricular Trabalhos de Campo II na Licenciatura em Ciências do Ambiente na Universidade Aberta.

POLAK, T., RAJAR, A. GASPERLIN, L. & ZLENDER, B. (2008) – *Cholesterol concentration and fatty acid profile of red deer (Cervus elaphus) meat*. Meat Science, 80, 864-869.

PONTE, P., ALVES, S., BESSA, R., FERREIRA, L., GAMA, L., BRAS, J.(2008). *Influence of Pasture Intake on the Fatty Acid Composition, and Cholesterol, Tocopherols, and Tocotrienols Content in Meat from Free-Range Broilers*. Poult Sci, 87(1), 80-88.

PRATES, J. ET AL. (2006) - *Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and β -carotene in Barrosã-PDO veal*. Food Chemistry, 94: 469–477

PRATIWI, N. ET AL (2006) - *Total cholesterol concentrations of the muscles in castrated Boer goats*. Small Ruminant Research, 64: 77–81

QUARESMA, M. , TRIGO RODRIGUES, I., PEREIRA SILVA, R., SANTOS, N., BREDA, J., BESSA, R. (2008, 10 – 15 August 2008). *Vitamin E in the Montado's wildboar meat: the conjugation of the omnivorous feeding behavior and therichness of Montado*. Paper presented at the Role of Science in the GrowingDemand for Red Meat, Cape Town, South Africa.

QUINTA DOS GAMOS – CASA AGRÍCOLA E PECUÁRIA, LDA (2011) – *Animais de Qualidade*. Disponível em: <http://www.quintadosgamos.com/racas.php>. Acedido a 10 de Março de 2011.

RAMALHO, R. (2010) – *A Carne: A influência da idade de abate na qualidade da carne*. Disponível em: <http://carnenossa.blogspot.com/2010/11/influencia-da-idade-de-abate-na.html>. Acedido a 15 de Abril de 2011.

RAMOS, O. (2008) - *Efeito combinado da raça e do sistema de produção na qualidade nutricional da fracção lipídica da carne de borrego e de cabrito*. Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

REALINI, C., DUCKETT, S., BRITO, G., DALLA RIZZA, M. & DE MATTOS, D. (2004) – *Effects of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef*. Meat Science, 66, 567-577.

Regulamento (CE) nº 617/2003 – da Comissão de 4 Abril de 2003 que completa o anexo do Regulamento (CE) nº 2400/96 relativo à inscrição de determinadas denominações no registo das denominações de origem protegidas e das indicações geográficas protegidas.

Regulamento (CE) nº 1183/2006 – do Conselho de 24 de Julho de 2006 relativo à grelha comunitária de classificação das carcaças de bovinos adultos. Conselho da União Europeia.

REYNOSO, C. ET AL. (2004). *β-Carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico*. Animal Feed Science and Technology 113: 183–190.

RHEE, K., DUTSON, T., SMITH, G., HOSTETLER, R. & REISER, R. (1982a) – *Cholesterol content of raw and cooked beef longissimus muscles with different degrees of mabling*. Journal Food Science, 47, 716-719.

RHEE, K., THAYNE, R., & SMITH, G. (1982b) – *Effect of changes in intermuscular and subcutaneous fat levels on cholesterol content of raw and cooked beef steaks*. Journal of Food Science, 47, 1638-1641.

RIBANI, M., BOTTOLI, C., COLLINS, C., JARDIM, I., MELO, L. (2004). *Validação de métodos cromatográficos e electroforéticos*. Química Nova, 27, 5, pp. 771-780.

RODRIGUES, AM (2004) – *A Produção e Consumo de carne bovina em Portugal*. Revista Agrius, Caderno do Jornal Expresso. Edição 1649.

RODRIGUES, S. (2007) – *Estudo e caracterização da qualidade da carcaça e da carne do cabrito Serrano (Denominação de Origem Protegida)*. Dissertação para a obtenção de grau de Doutor apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

RULE, D. & MCCORMICK, R. (1998) – *Fatty acid composition and cholesterol concentration in tissues of white-tailed deer (Odocoileus Virginianus) as influenced by lactation, age, and season of the year*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B 119, 563-570.

SANTOS, R. ET AL. (2005) – *Estudo da influência de diferentes alimentos sobre características quantitativas e qualitativas da gordura em porcos de raça alentejana*. Disponível em: <http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/rca/v31n1/v31n1a02.pdf>. Acedido a 12 de Julho de 2011.

SHAH, V., MIDHA, K., DIGHE, S., MCGILVERAY, I., SKELLY, J., YACOBI, A., LAYLOFF, T., VISWANATHAN, C., COOK, C., MCDOWALL, R., PITTMAN, K., SPECTOR, S. (1992). *Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence, and pharmacokinetic studies*. Journal of Pharmaceutical Sciences. 81, 309–312.

SAÑUDO, C., SANCHEZ, A. & ALFONSO, M. (1998) – *Small Ruminant Production systems and factors affecting lamb meat quality*. Meat Science, No. Suppl. 1, S29-S64.

SIEBERT, B. & KRUK, Z. (2004) – *β -carotene and oxidative desaturation of fatty acids: a plausible explanation of the conflicting responses of coronary heart disease to β -carotene?* Medical hypotheses. 62, 950-953.

SMITH, G. (2001) – *Factors affecting the palatability of beef*. Em: Future Beef Operations Seminar, 1-21. Fort Collins, USA.

SORENSEN, J. (2005) – *Product quality and livestock systems*. Livestock Production Science, 94, 1.

STRACHAN, D., YANG, A., DILLON, R. (1993). *Effect of grain feeding on fat colour and other carcass characteristic in previously grass-fed Bos indicus steers*. Aust. J. Exp. Agric. 33, 269–273.

TIBÉRIO, M., CRISTÓVÃO, A. (2001) - *Produtos tradicionais e desenvolvimento local: o caso da designação protegida do Queijo Terrincho DOP*. I Congresso de estudos rurais. Sociedade Portuguesa de Estudos Rurais.

TISSUE, B. (2000) - *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Disponível em: <http://www.files.chem.vt.edu/chem-ed/sep/lc/hplc.html>. Acedido a 8 de Setembro de 2011.

TRABER, M., COHN, W. & MULLER, D. (1992) - *Absorption, transport and delivery to tissues*. In: Vitamin E in health and disease. Packer, L., Fuchs, J. (Eds), New York, Marcel Dekker, 1992. p. 35-53.

TSUCHIHASHI, H., KIGOSHI, M., IWATSUKI, M., & NIKI, E. (1995). *Action of β -carotene as antioxidant against lipid peroxidation*. Archives of Biochemistry & Biophysics, 323(1), 137-147.

UCDAVIS VETERINARY MEDICINE (s.d.) – *Dairy care practices: section 5 – Dry cow care*. University of California Cooperative Extension. Disponível em: http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/inf-da/INF-DA_CAREPRAX5.HTML#5. Acedido a 15 de Setembro de 2011.

VALSTA, L. ET AL (2005) - *Meat fats in nutrition*. Meat Science, 70:525 – 530.

WAGNER, K-H., KAMAL-ELDIN, A., ELMADFA, I. (2004) – *Gamma-Tocopherol – An Underestimated Vitamin?* Annals Nutritional Metabolism, 48, 169-188.

WALSHE, B., SHEEHAN, E., DELAHUNTY, C., MORRISSEY, P., KERRY, J. (2006) - *Composition, sensory and shelf life stability analyses of Longissimus dorsi muscle from steers reared under organic and conventional production system.* Meat Science 73, 319-325.

WEBER, G.M. AND C. ANTIPATIS (2001) - *Pork meat quality and dietary vitamin E.* Second International Virtual Conference on Pork Quality. Small Ruminant Research, 60(1-2):153-166.

WEISS, B. (s.d.) – *Vitamin E for dairy cows.* Alliance Nutrition Dairy (ADM). Disponível em: <http://www.admani.com/alliancedairy/TechBulletins/Vitamin%20E%20for%20Dairy%20Cows.htm>. Acedido a 15 de Setembro de 2011.

WEST, J., YOUNG, O., & AGNEW, M. (1997). *Levels of a-tocopherolin beef from New Zealand pastures.* In Proceedings of 43rd international congress of meat science and technology (pp. 350–351). Auckland: ICoMST.

WHEELER, T., DAVIS, G., STOECKER, B. & HARMON, C. (1987) – *Cholesterol concentration of longissimus muscle, subcutaneous fat and serum of two beef cattle breed types.* Journal of Animal Science, 65, 1531-1537.

WITTWER, F., BOHMWALD, H., CONTRERAS, P., PHIL, M., FILOZA, J. (1987) – *Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebños lecheros en Chile.* Arch. Med. Vet., v. 19, p. 35-45. 1987.

WOOD, J., ENSER, M. (1997) - *Factors influencing fatty acids in meat and role of antioxidants in improving meat quality.* British Journal of Nutrition 78:S49-S60

WOOD, J., ENSER M., FISHER, A., NUTE, G., RICHARDSON, R. & SHEARD, P. (1999) - *Manipulating meat quality and composition.* Proceedings of Nutrition Society, 58, 363-370.

WOOD J., RICHARDSON R., NUTE G., FISHER A., CAMPO M., KASAPIDOU E., SHEARD P., ENSER M. (2003) - *Effects of fatty acids on meat quality: a review.* Meat Sci., 1, 21-32.

XIONG, Y., HO, C-T. & SHAHIDI, F. (1999) – *Quality characteristics of muscle foods: An overview.* EM: *Quality attributes of muscle foods.* Y. Xiong, C.-T. Ho, F. Shahidi. (Eds.). 1-10. Kluwer Academic. New York.

YANG, A., LARSEN, T.W., TUME, R.K., (1992) - *Carotenoid and retinol concentrations in serum, adipose tissue and liver carotenoid transport in sheep, goats and cattle*. Aust. J. Agric. Res. 43, 1809–1817.

YANG, A., BREWSTER, M.J., LANARI, M.C., TUME, R.K., (2002) - *Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle*. Meat Science. 60, 35–40.

YOSHIDA ET AL. (2002) – *Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects*. NCBI. 123:63-75.

YOUNG, O., BRAGGINGS, T. & LANE, G. (1999) – *Animal production origins of some meat color and flavor attributes*. Em: *Quality attributes of muscle foods*. Y. Xiong, C.-T. Ho, F. Shahidi. (Eds.). 11-30. Kluwer Academic. New York.

ANEXOS

Anexo I – Resultados e Análise Estatística dos Factores influentes na variação dos teores de Vitamina E, Colesterol e β -caroteno

Tabela A1.1 – Resultados da análise de variância para o teor de β -caroteno na carne de vacas dos Açores.

Origem da variação	g.l.	SQ	MQ	F	P
Condição de Produção	1	0,1116	0,1116	1,50	0,2247
Nº de Lactações	1	0,0136	0,0136	0,18	0,6694
Tipo de Músculo	1	1,4110	1,4110	18,96	<0,0001
Condição de Produção * Nº de Lactações	1	0,0889	0,0889	1,20	0,2779
Condição de Produção * Tipo de Músculo	1	0,0719	0,0719	0,97	0,3287
Nº de Lactações * Tipo de Músculo	1	0,0916	0,0916	1,23	0,2710
Idade	1	0,0662	0,0662	0,89	0,3489
Peso	1	0,0063	0,0063	0,08	0,7716
Modelo	8	3,1658	0,3957	5,32	<0,0001
Resíduos	71	5,2834	0,0744	--	--
Total	79	8,4492	--	--	--
	R ² = 0,375				

Tabela A1.2 – Resultados da análise de variância para o teor de α -tocoferol na carne de vacas dos Açores.

Origem da variação	g.l.	SQ	MQ	F	P
Condição de Produção	1	246,59	246,59	27,05	<0,0001
Nº de Lactações	1	15,77	15,77	1,73	0,1926
Tipo de Músculo	1	177,53	177,53	19,48	<0,0001
Condição de Produção * Nº de Lactações	1	88,36	88,36	9,69	0,0026
Condição de Produção * Tipo de Músculo	1	7,44	7,44	0,82	0,3694
Nº de Lactações * Tipo de Músculo	1	30,83	30,83	3,38	0,0700
Idade	1	6,07	6,07	0,67	0,4170
Peso	1	152,51	152,51	16,73	0,0001
Modelo	8	932,6121	116,5765	12,79	<0,0001
Resíduos	71	647,1904	9,1154	--	--
Total	79	1579,8025	--	--	--
	R ² = 0,590				

Tabela A1.3 – Resultados da análise de variância para o teor de colesterol na carne de vacas dos Açores.

Origem da variação	g.l.	SQ	MQ	F	P
Condição de Produção	1	1,2570	1,2570	24,18	<0,0001
Nº de Lactações	1	0,1607	0,1607	3,09	0,0830
Tipo de Músculo	1	0,052	0,052	1,00	0,3201
Condição de Produção * Nº de Lactações	1	0,7587	0,7587	14,60	0,0003
Condição de Produção * Tipo de Músculo	1	0,0023	0,0023	0,05	0,8326
Nº de Lactações * Tipo de Músculo	1	0,0761	0,0761	1,46	0,2303
Idade	1	0,1451	0,1451	2,79	0,0992
Peso	1	0,2060	0,2060	3,96	0,0504
Modelo	8	2,5143	0,3143	6,05	<0,0001
Resíduos	71	3,6904	0,0520	--	--
Total	79	6,2047	--	--	--

R² = 0,362

Anexo 2 – Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão

A2.1. Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do β -caroteno para cada factor individual avaliado.

Factor		Média	Erro Padrão
Condição de Produção	Lactação	0,77 ^a	0,04
	Seca	0,85 ^a	0,04
Nº de Lactações	1/2 Lactações	0,77 ^a	0,10
	6/7 Lactações	0,85 ^a	0,10
Tipo de Músculo	gm	0,94 ^b	0,04
	ld	0,68 ^a	0,04

A2.2. Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do β -caroteno para cada interacção dos factores avaliada.

Interacção Condição de Produção*Número de Lactações		Média	Erro Padrão
Em Lactação	1/2 Lactações	0,69	0,10
	6/7 Lactações	0,85	0,09
Seca	1/2 Lactações	0,85	0,12
	6/7 Lactações	0,85	0,13
Interacção Condição de Produção*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
Em Lactação	gm	0,94	0,06
	ld	0,61	0,06
Seca	gm	0,95	0,06
	ld	0,75	0,06
Interacção Número de Lactações*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
1/2 Lactações	gm	0,87	0,11
	ld	0,67	0,11
6/7 Lactações	gm	1,02	0,11
	ld	0,69	0,11

A2.3 Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do Colesterol (mg/g) para cada factor individual avaliado.

Factor		Média	Erro Padrão
Condição de Produção	Em Lactação	1,21 ^a	0,04
	Seca	1,46 ^b	0,04
Nº de Lactações	1/2 Lactações	1,19 ^a	0,09
	6/7 Lactações	1,47 ^a	0,09
Tipo de Músculo	gm	1,36 ^a	0,04
	ld	1,31 ^a	0,04

A2.4. Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do colesterol para cada interacção dos factores avaliada.

Interacção Condição de Produção*Número de Lactações		Média	Erro Padrão
Em Lactação	1/2 Lactações	1,18 ^a	0,10
	6/7 Lactações	1,24 ^a	0,11
Seca	1/2 Lactações	1,20 ^a	0,05
	6/7 Lactações	1,72 ^b	0,05
Interacção Condição de Produção*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
Em Lactação	gm	1,23	0,05
	ld	1,19	0,05
Seca	gm	1,49	0,05
	ld	1,43	0,05
Interacção Número de Lactações*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
1/2 Lactações	gm	1,18	0,09
	ld	1,19	0,09
6/7 Lactações	gm	1,54	0,09
	ld	1,42	0,09

A2.5. Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do α -tocoferol para cada factor individual avaliado.

Factor		Média	Erro Padrão
Condição de Produção	Lactação	9,01 ^a	0,48
	Seca	12,56 ^b	0,48
Nº de Lactações	1/2 Lactações	9,34 ^a	1,15
	6/7 Lactações	12,23 ^a	1,15
Tipo de Músculo	gm	12,28 ^b	0,48
	ld	9,30 ^a	0,48

A2.6. Valores das médias dos mínimos quadrados e do erro padrão do α -tocoferol para cada interacção dos factores avaliada.

Interacção Condição de Produção*Número de Lactações		Média	Erro Padrão
Em Lactação	1/2 Lactações	8,79 ^a	1,11
	6/7 Lactações	9,22 ^a	1,05
Seca	1/2 Lactações	9,90 ^a	1,38
	6/7 Lactações	15,23 ^b	1,45
Interacção Condição de Produção*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
Em Lactação	gm	10,19	0,68
	ld	7,82	0,68
Seca	gm	14,36	0,68
	ld	10,77	0,68
Interacção Número de Lactações*Tipo de Músculo		Média	Erro Padrão
1/2 Lactações	gm	10,21	1,24
	ld	8,48	1,24
6/7 Lactações	gm	14,34	1,24
	ld	10,11	1,24