

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



AVALIAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS, EM PARTICULAR ÁCIDOS GORDOS
TRANS, DO LEITE DE VACA PRODUZIDO E COMERCIALIZADO EM PORTUGAL

TÁCITO BARBOSA TRINDADE

ORIENTADOR(A):
Professora Doutora Susana Paula Almeida
Alves

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



AVALIAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS, EM PARTICULAR ÁCIDOS GORDOS
TRANS, DO LEITE DE VACA PRODUZIDO E COMERCIALIZADO EM PORTUGAL

TÁCITO BARBOSA TRINDADE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

JÚRI

PRESIDENTE:

Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa

VOGAIS:

Professora Doutora Cristina Maria Riscado

Pereira Mateus

ORIENTADOR(A):

Professora Doutora Susana Paula Almeida
Alves

2025

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Tácito Barbosa Trindade

Título da Tese ou Dissertação: AVALIAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS, EM PARTICULAR ÁCIDOS GORDOS *TRANS*, DO LEITE DE VACA PRODUZIDO E COMERCIALIZADO EM PORTUGAL

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de
Mestrado ou de
Doutoramento: Segurança Alimentar

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 30 de setembro de 2025

Assinatura: _____

Agradecimentos

Gostaria de expressar o meu profundo agradecimento à minha orientadora, Professora Doutora Susana Alves, pela sua orientação dedicada, apoio constante e valiosas contribuições científicas durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também à Técnica Doutora Cristina Xavier pelo seu inestimável apoio técnico e disponibilidade durante as análises laboratoriais, contribuindo significativamente para o êxito deste estudo.

Aos meus colegas da turma do Mestrado em Segurança Alimentar (2024-2025), principalmente Petra Pó, Tiago Constantino e Sónia Araújo, agradeço pela camaradagem, apoio mútuo e partilha de conhecimentos ao longo desta jornada académica.

Aos meus amigos Nathalia Paim e Mauricio Paim, que estão sempre comigo, agradeço pela amizade, incentivo e companhia constantes. Ao meu companheiro Filipe Sal, agradeço profundamente pelo apoio incondicional e presença constante em todos os momentos.

Ao meu amigo querido Marcos Vinícius Resende Ataíde, cuja presença, apoio e amizade permanecem vivos em minhas lembranças e em cada conquista alcançada.

A FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, que financiou por fundos nacionais, no âmbito dos projetos UIDB/00276/2020 (CIISA) e LA/P/0059/2020 (AL4AnimalS).

Avaliação do perfil em ácidos gordos, em particular ácidos gordos *trans*, do leite de vaca produzido e comercializado em Portugal

Resumo

O leite de vaca é uma fonte relevante de ácidos gordos (AG), incluindo isómeros *trans* de origem ruminante, cujos efeitos diferem dos de origem industrial. Este estudo teve como objetivo caracterizar o perfil lipídico do leite UHT inteiro em Portugal, com ênfase nos AG *trans*. Foram analisadas 81 amostras de oito marcas distintas, recolhidas na área metropolitana de Lisboa. A gordura foi extraída, transesterificada e os ésteres metílicos analisados por cromatografia gasosa.

Observou-se o predomínio de AG saturados ($\approx 65\%$), seguidos de monoinsaturados e polinsaturados. O perfil dos isómeros *trans* variou significativamente entre marcas ($P < 0,001$), sendo 18:1*t*11 e 18:1*t*10 os mais abundantes. O 18:1*t*11 apresentou valores superiores no leite Milbona (1,17%), seguido por Terra Nostra (1,06%) e Nova Açores (0,94%), enquanto as restantes marcas tiveram média de 0,73%. O CLA-c9*t*11 seguiu tendência semelhante, com teores mais elevados no Milbona (0,58%) e Terra Nostra (0,55%), contrastando com valores mínimos (0,36%) em Agro, Gresso e Mimosa. Regionalmente, os leites provenientes dos Açores apresentaram concentrações significativamente superiores de 18:1*t*11 (1,07%) e CLA-c9*t*11 (0,54%) face a Portugal Continental (0,73% e 0,37%, respetivamente) ($P < 0,001$). A ingestão estimada de AG *trans*, a partir do consumo médio de leite, correspondeu a 0,07% da energia diária, muito abaixo do limite de 1% recomendado pela OMS.

Este estudo caracterizou a composição lipídica do leite comercializado em Portugal, confirmando a predominância dos ácidos gordos saturados e a presença de isómeros *trans* ruminantes, como ácido vacénico e CLA-c9,*t*11, em níveis compatíveis com a literatura e sem risco nutricional. Verificaram-se diferenças significativas entre marcas e regiões, com os leites dos Açores apresentando perfil mais favorável, incluindo maior teor de isómeros naturais e melhor equilíbrio n-6/n-3. Estes resultados reforçam a relevância da caracterização lipídica na avaliação da qualidade nutricional e apontam para a necessidade de monitorização sazonal e análise de outros produtos lácteos.

Palavras-chave: Leite, origem geográfica, ácido gordo *trans* e saturados, estimativa ingestão diária.

Evaluation of the fatty acid profile, with particular emphasis on *trans* fatty acids, in cow's milk produced and marketed in Portugal

Abstract

Cow's milk is an important source of fatty acids (FA), including ruminant-derived *trans* isomers, whose effects differ from those of industrial origin. This study aimed to characterize the lipid profile of whole UHT milk marketed in Portugal, with emphasis on *trans* FA. A total of 81 samples from eight different brands were collected in the Lisbon metropolitan area. Fat was extracted, transesterified, and methyl esters were analyzed by gas chromatography.

Saturated FA predominated ($\approx 65\%$), followed by monounsaturated and polyunsaturated FA. The profile of *trans* isomers varied significantly among brands ($P < 0.001$), with 18:1*t*11 and 18:1*t*10 being the most abundant. 18:1*t*11 showed higher values in Milbona milk (1.17%), followed by Terra Nostra (1.06%) and Nova Açores (0.94%), while the remaining brands averaged 0.73%. CLA-c9*t*11 followed a similar trend, with higher levels in Milbona (0.58%) and Terra Nostra (0.55%), contrasting with minimum values (0.36%) in Agro, Gresso, and Mimosa. Regionally, milk from the Azores presented significantly higher concentrations of 18:1*t*11 (1.07%) and CLA-c9*t*11 (0.54%) compared to mainland Portugal milk (0.73% and 0.37%, respectively) ($P < 0.001$). Estimated *trans* FA intake from average milk consumption corresponded to 0.07% of daily energy, well below the 1% limit recommended by WHO.

This study characterized the lipid composition of milk marketed in Portugal, confirming the predominance of saturated FA and the presence of ruminant *trans* isomers, such as vaccenic acid and CLA-c9*t*11, at levels consistent with the literature and without nutritional risk. Significant differences were observed among brands and regions, with Azorean milk showing a more favorable profile, including higher levels of natural isomers and a better n-6/n-3 balance. These findings highlight the relevance of lipid characterization in assessing nutritional quality and point to the need for seasonal monitoring and analysis of other dairy products.

Keywords: Milk, geographical origin, *trans* fatty acid, saturated fatty acids, daily intake estimation.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Definição e nomenclatura dos ácidos gordos	2
2.2. Ácidos gordos <i>trans</i>	7
2.2.1. Origem Ácidos gordos <i>trans</i> nos géneros alimentícios	7
2.2.2. Efeitos dos Ácidos gordos <i>trans</i> na saúde	10
2.2.3. Recomendações nutricionais	11
2.3. Consumo e composição química do leite	12
2.3.1. Produção e consumo de leite	12
2.3.2. Composição química do leite.....	13
2.3.3. Ácidos gordos do leite	16
2.4. Origem dos ácidos gordos na gordura do leite de ruminantes	17
2.4.1. Metabolismo dos ácidos gordos no rúmen	17
2.4.2. Síntese da gordura do leite na glândula mamária.....	20
2.5. Fatores que influenciam o perfil em ácidos gordos <i>trans</i> do leite	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Plano de amostragem e colheita de amostras.....	23
4.2 Preparação das amostras.....	24
4.3 Transesterificação dos ácidos gordos	25
4.4 Análise por cromatografia gasosa.....	25
4.4 Cálculos e Análises estatísticas	26
5. RESULTADOS	28
5.1 Comparação do perfil de ácidos gordos do leite de vaca de diferentes marcas.....	28
5.2 Comparação do perfil de ácidos gordos do leite de vaca produzido nos Açores e em Portugal Continental.....	42
5.3 Estimativa da ingestão diária de ácidos gordos	46

6. DISCUSSÃO	46
6.1 Composição em ácidos gordos do leite de vaca inteiro comercializado no mercado português	46
6.2 Influência da origem geográfica na composição em ácidos gordos do leite de vaca	49
6.3 Avaliação nutricional da gordura do leite de vaca	50
7. CONCLUSÃO	52
8. REFERÊNCIAS	54
9. ANEXOS	64

Lista de figuras

Figura 1 - Representação esquemáticas das estruturas químicas de ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados.	4
Figura 2 - Configurações geométricas <i>cis</i> e <i>trans</i> das ligações duplas em ácidos gordos insaturados adaptado de (Lunn e Theobald 2006).	5
Figura 3 - Estruturas químicas representativas dos AGPI das famílias ómega-3 (n-3) e ómega-6 (n-6).	6
Figura 4 - Produção de leite, em milhares de litros por localização geográfica, adaptado de (INE 2024).	13
Figura 5 - Ingestão média diária de leite, em gramas. Adaptado de (Lopes et al. 2018).	14
Figura 6 - Vias normais e alteradas da biohidrogenação ruminal do ácido linoleico e linoléico (Alves e Bessa 2014).	21
Figura 7 - Vias de biossíntese do ácido linoleico conjugado em ruminantes, adaptado de (Koba e Yanagita 2014).	23
Figura 8 – Marcas de leites de vaca inteiros UHT.	26
Figura 9 -Processo de preparação de amostra. Divisão em tubos de centrífuga (a), centrifugação a 4000 rpm por 30 minutos (b), congelamento a -80°C em tubos de eppendorf (c).	27
Figura 10 - Cromatógrafo Shimadzu 2010-plus	28
Figura 11 – Biplot dos loadings e scores da análise de componentes principais utilizando as proporções de ácidos gordos da gordura de leite de vaca agrupados pelas diferentes marcas de leite de vaca comercializado em Portugal.	32
Figura 12 – Biplot dos loadings e scores da análise de componentes principais utilizando as proporções de ácidos gordos da gordura do leite de vaca dos Açores e Portugal continental.	43

Lista de tabelas

Tabela 1- Exemplo de nomes comuns e abreviaturas de ácidos gordos.	7
Tabela 2 - Nomenclatura sistemática e comum e fontes de alguns AG <i>trans</i> em alimentos (adaptado de Chiuchi et al. 2024).	9
Tabela 3 - Teor de ácidos gordos <i>trans</i> (média e intervalo) em produtos alimentares processados selecionados vendidos no mercado português (Costa et al. 2016).	10
Tabela 4 - Tabela Nutricional do leite de vaca inteiro.	26
Tabela 5 - Composição de ácidos gordos (g /100g total ácidos gordos) do leite de vaca das diferentes marcas analisadas.	38
Tabela 6 - Somatórios de AG (g/100g total AG), índices e rácios nutricionais no leite de vaca de acordo com a marca.	41

Tabela 7 - Composição de ácidos gordos (g /100g total AG) no leite de vaca produzido nos açores ou em Portugal continental.	43
Tabela 8 - Somatórios de AG (g/100g total AG), índices e rácios nutricionais no leite de vaca dos Açores e Portugal Continental.	45
Tabela 9 - Estimativa da ingestão de ácidos gordos proveniente do leite de vaca produzido em Portugal.	46

Lista de abreviatura, símbolos e unidades

AG - ácidos gordos;

AGCR – ácidos gordos de cadeia ramificada;

AGI – ácidos gordos insaturados;

AGMI – ácidos gordos monoinsaturados;

AGPI – ácidos gordos polinsaturados;

AGS – ácidos gordos saturados;

CLA – ácido linoleico conjugado (Conjugated Linoleic Acid);

HDL – lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoprotein);

IA – índice de aterogenicidade;

EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar;

INE, PT – Instituto Nacional de Estatística Português;

IUPAC – União internacional da Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry);

LDL – lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoprotein);

MGF – membrana do glóbulo de gordura;

OMS – Organização Mundial de Saúde;

rpm – rotações por minuto;

TFA - Trans fatty acid;

TI – índice de trombogenicidade;

UE – União Europeia;

UHT– ultra alta temperatura (Ultra High Temperature);

VET – valor energético total;

Δ – Delta;

α – Alfa;

β – Beta;

°C – graus celsius;

μg – micrograma;

μL – microlitro;

g- gramas;

L – litros;

mg – miligrama;

min – minutos;

mL – mililitros.

1. INTRODUÇÃO

O leite é um dos alimentos mais consumidos e mais completos no mundo, desempenha um papel fundamental na alimentação humana desde os estágios primários de vida até à vida adulta. Fornece uma combinação equilibrada de macronutrientes, como as proteínas de alto valor biológico, lípidos e hidratos de carbono e micronutrientes essenciais, como o cálcio, fósforo, potássio, vitaminas A, D, B2 (riboflavina) e B12 (Muehlhoff et al. 2013; Lorenzen et al. 2014). O leite tem um alto teor de cálcio biodisponível o que o torna particularmente relevante na prevenção da osteoporose na fase adulta e no desenvolvimento ósseo durante a fase da infância e adolescência (Cashman 2006).

O leite é composto por aproximadamente 87% de água, 4,6% de lactose, 4,2% de gordura, 3,4% de proteína, 0,8% de minerais e 0,1% de vitaminas (Walstra et al. 1999). A gordura do leite é composta por triacilgliceróis sintetizados a partir de uma grande variedade de ácidos gordos (AG), o que a torna uma das gorduras naturais mais complexas no que respeita à composição lipídica. A maioria dos AG estão presentes apenas em quantidades vestigiais, sendo que apenas cerca de 15% se encontram em concentrações iguais ou superiores a 1% (Lindmark Månsson 2008). Os mais abundantes são o ácido palmítico (16:0), o ácido oleico (18:1c9), o ácido mirístico (14:0) e o ácido esteárico (18:0) (Gottardo et al. 2017). Em geral, a gordura do leite contém cerca de 66% de ácidos gordos saturados, 30% ácidos gordos monoinsaturados, incluindo ácidos gordos *trans*, e 4% ácidos gordos polinsaturados (Jensen 2002; Lock e Bauman 2004). A variação de AG influencia o perfil de sabor, textura e estabilidade do leite e de seus derivados e também contribui para as suas características nutricionais (Nunes et al. 2010). A composição dos AG é assim um fator determinante na qualidade do leite e pode apresentar variações mesmo entre leites da mesma origem. Essas variações são influenciadas por diversos fatores, que podem ser de natureza genética, relacionados à dieta à qual os animais são submetidos e até mesmo à sazonalidade (Mansbridge e Blake 1997; Lindmark-Månsson et al. 2003; Rego et al. 2016).

Os estudos sobre os benefícios e malefícios do consumo de leite para a saúde humana têm-se mostrado bastante controversos e complexos. Martins et al. (2007); Miciński et al. (2012) demonstram que os ácidos gordos monoinsaturados de cadeia *cis* e polinsaturados presentes no leite são essenciais para a saúde humana, sendo que, diversos estudos indicam que reduzem os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), diminuem a viscosidade do sangue, diminuem a pressão sanguínea, ajudam na regulação da insulina, atenuam reações alérgicas. Destaca-se também no leite os AG com configuração *trans* como o ácido vacénico (18:1*trans*-11) e ruménico (18:2*cis*-9,*trans*-11), um dos ácidos conjugados do ácido

linoleico, conhecido como CLA-c9,t11, aos quais têm sido atribuídos efeitos benéficos para a saúde humana, nomeadamente propriedades hipocolesterolémicas, anticancerígenas, antiaterogénicas e melhoria da mineralização óssea (Sanhueza C et al. 2002; Markiewicz-Kęszycka et al. 2013a; Tudisco et al. 2015). No entanto, diversos estudos (Suzuki et al. , 2011; Mariana Srebernick et al., 2013; Stergiadis et al., 2014; Aued-Pimentel e Separovic, 2016; Kwon, 2016) associam o consumo de leite ao aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, devido ao teor em ácidos gordos saturados, sendo que, poderá contribuir para o aumento dos lípidos na corrente sanguínea, principalmente do colesterol total e do colesterol veiculado pelas lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Sabe-se também que alguns AG *trans*, poderão afetar negativamente a saúde humana, como os AG *trans* de origem industrial (essencialmente 18:1*trans*-9 e *trans*-10) presentes nos géneros alimentícios. No caso do leite, não há muitas informações sobre a concentração destes AG, nomeadamente do 18:1 *trans*-10, ou se estes se encontram abaixo dos limites máximos estabelecidos pela Comissão Europeia ou recomendados por outras agências oficiais.

Considerando a importância do leite na dieta da maioria da população portuguesa e a crescente preocupação relacionadas aos seus potenciais benéficos e malefícios para a saúde humana, este estudo assume uma importância crucial para a compreensão dos seus efeitos nutricionais. O principal objetivo é caracterizar o perfil dos AG, com especial atenção aos AG *trans*, presentes nos leites de vacas produzidos e comercializados em Portugal. Este tipo de investigação é fundamental para avaliar se o perfil lipídico do leite, dentro da amostragem analisada, é mais ou menos favorável à saúde humana, contribuindo para a definição de estratégias nutricionais e de produção que promovam benefícios para os consumidores.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definição e nomenclatura dos ácidos gordos

Os principais constituintes dos lípidos são os AG, compostos formados por uma cadeia alifática e um grupo carboxílico terminal. A maioria dos AG presentes na natureza possui um número par de átomos de carbono dispostos em uma cadeia linear, resultado de um processo biológico de alongação em que dois carbonos são adicionados em cada ciclo. No entanto, existem exceções, como AG com número ímpar de carbonos ou cadeias ramificadas, que podem ser observados nos alimentos derivados dos ruminantes, incluindo a gordura do leite (Fennema et al. 2010).

Os AG que apresentam apenas ligações simples (C-C) são chamados de ácidos gordos saturados (AGS), enquanto os que apresentam ligações duplas (C=C) entre os

carbonos são chamados de ácidos gordos insaturados (AGI). Nestes últimos, os que possuem apenas uma ligação dupla são designados por ácidos gordos monoinsaturados (AGMI), com mais que uma dupla ligação são designados ácidos gordos polinsaturados (AGPI), como exemplificado na Figura 1 (David et al. 2017).

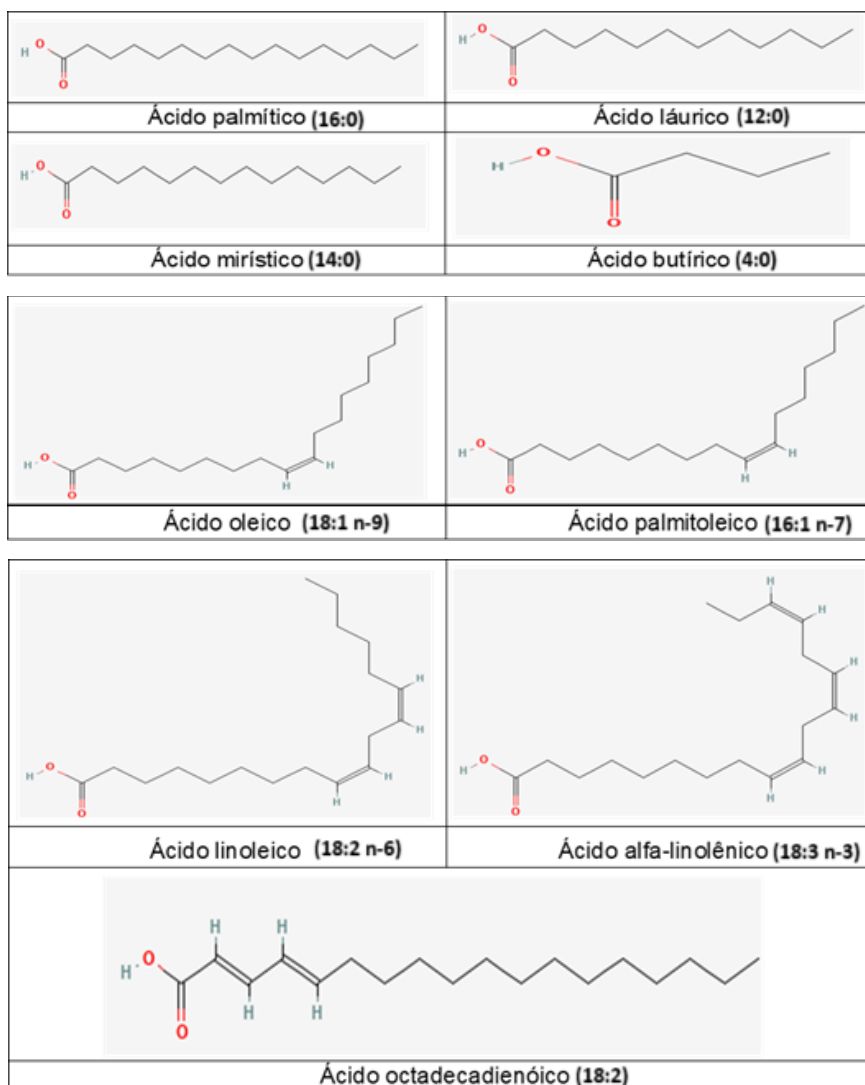


Figura 1 - Representação esquemáticas das estruturas químicas de ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados.

Os AGPI, podem ser di-, tri-, tetra-insaturado, entre outros, e referem-se ao número de ligações duplas presentes na cadeia. A posição dessas ligações pode ser indicada pelo sistema delta (Δ), que numera os átomos de carbono a partir da extremidade do grupo carboxílico (-COOH), especificando assim a localização precisa de cada ligação dupla (Belitz 2005).

As duplas ligações presentes nos AGI podem assumir duas configurações geométricas distintas: *cis* ou *trans*. Nos alimentos, as ligações duplas ocorrem predominantemente na configuração *cis*, em que ambos os átomos de hidrogénio estão localizados do mesmo lado

da cadeia carbonada do AG. Esta disposição confere à molécula uma curvatura que afeta as suas propriedades físico-químicas, como o ponto de fusão. Por outro lado, na configuração *trans*, os átomos de hidrogénio estão em lados opostos da cadeia, originando uma estrutura mais linear, semelhante à dos AGS (Figura 2). Os AG *trans* são menos comuns na natureza, mas podem ocorrer de forma natural em pequenas quantidades no leite e na gordura da carne de ruminantes, como resultado da biohidrogenação parcial no rúmen, mediada por microrganismos durante a digestão (Leblanc et al. 2006; Brouwer et al. 2010a).

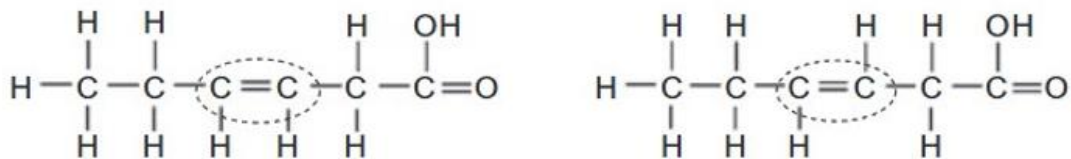


Figura 2 - Configurações geométricas *cis* e *trans* das ligações duplas em ácidos gordos insaturados adaptado de (Lunn e Theobald 2006).

Os AGMI e os AGPI podem ser classificados em famílias ómega (n-3, n-6, etc.), de acordo com a posição da primeira ligação dupla na cadeia carbonada, contando a partir do grupo metilo terminal (–CH₃). Todos os membros da família n-6 (ómega-6) possuem a sua primeira ligação dupla entre o sexto e o sétimo carbono a partir da extremidade metílica. Da mesma forma, os membros da família n-3 (ómega-3) apresentam a primeira ligação dupla entre o terceiro e o quarto carbono dessa extremidade (Figura 3). Esta classificação é importante, pois os AG das diferentes famílias desempenham funções fisiológicas distintas no organismo, especialmente na inflamação, imunidade e saúde cardiovascular (Simopoulos 2002; Lunn e Theobald 2006).

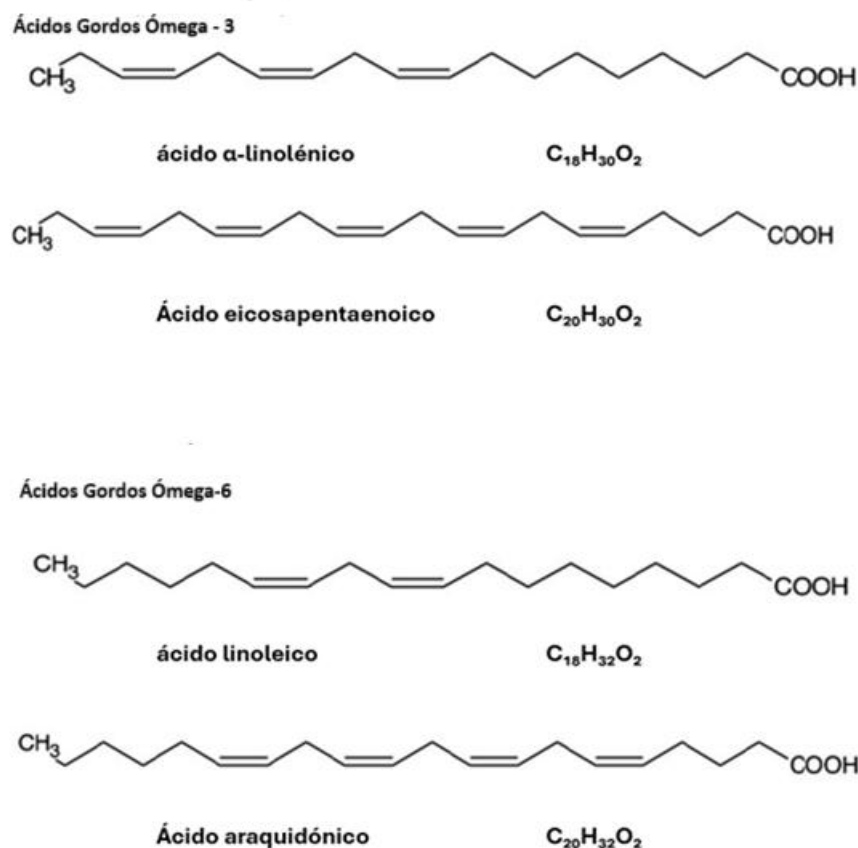


Figura 3 - Estruturas químicas representativas dos AGPI das famílias ómega-3 (n-3) e ómega-6 (n-6).

Os AG das famílias ómega, têm as duplas ligações separadas por grupos metileno, ou seja, contêm um carbono central separado por duas ligações simples (como exemplificado na Figura 3). Quando estas se encontram separadas apenas por uma ligação simples, diz-se que os AG têm ligações conjugadas.

Exemplos de AG conjugados, são os isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA). Este termo refere-se a um grupo de isómeros, tanto posicionais quanto geométricos, do ácido octadecadienóico, que são caracterizados por suas duplas ligações conjugadas, que ocorrem maioritariamente nas posições 9 e 11, 10 e 12 ou 11 e 13, sendo encontrados em todas as combinações possíveis de configurações *cis* e *trans* (Ha et al. 1987; Martin e Valeille 2002; Sebedio et al. 2020).

Na nomenclatura abreviada dos AG indicam-se, separadas por dois pontos, a extensão da cadeia carbonada e o número total de insaturações; por exemplo, 16:0 designa um AG linear com 16 átomos de carbono e sem ligações duplas. Quando o composto é insaturado, a localização de cada dupla ligação especifica-se pela configuração *cis* (c) ou

trans (*t*), seguida do número do carbono onde essa insaturação se encontra, contando a partir do grupo carboxílico.

Em alternativa, para AG com duplas ligações *cis*, pode adotar-se a designação “ ω -X” ou “n-X”, na qual X corresponde à posição da primeira ligação dupla a partir da extremidade metilo da cadeia. Assim, o ácido linoleico é descrito como 18:2 c9,c12 ou, de forma equivalente, 18:2 n-6 ou 18:2 ω -6 (Christie e Han 2012).

Segundo a nomenclatura sistemática estabelecida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), cada AG é designado a partir do hidrocarboneto correspondente, determinado pelo número de átomos de carbono da cadeia. Assim, um hidrocarboneto de dez carbonos denomina-se *decano*; quando possui o grupo terminal ácido carboxílico, o sufixo “-ano” é substituído por “-óico”, obtendo-se, por exemplo, *decanóico* (Favre e Powell 2013). Além da designação sistemática, existem nomes comuns para a maioria dos AG (Tabela 1).

Tabela 1- Exemplo de nomes comuns e abreviaturas de ácidos gordos.

ÁCIDO GORDO	NOME COMUM E ABREVIATURA
4:0	Butírico
6:0	Capróico
8:0	Caprílico
10:0	Cáprico
12:0	Láurico
14:0	Mirístico
14:1 <i>cis</i> -9	Miristoleico
16:0	Palmítico
16:1 <i>cis</i> -9	Palmitoleico
18:0	Esteárico
18:1 <i>cis</i> -9 ou n-9	Oleico
18:2n-6	Linoleico
18:3n-3	α -Linolénico
20:0	Araquídico
18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	Ácido linoleico conjugado, CLA-c9t12
20:4n-6	Araquidónico
22:0	Behenico
20:5n-3	Eicosapentaenóico, EPA
22:5n-3	Docosapentaenóico, DPA
22:6n-3	Docosahexaenóico, DHA

2.2. Ácidos gordos *trans*

2.2.1. Origem Ácidos gordos *trans* nos géneros alimentícios

Em termos de estrutura os AG *trans* são isómeros geométricos dos AGMI ou AGPI com pelo menos uma dupla ligação de configuração *trans* (Srebernich et al. 2013). Nos alimentos, podem existir AG *trans* de origem industrial ou AG *trans* de origem natural. Estes últimos provenientes dos alimentos derivados dos ruminantes. Segundo Pipoyan et al. (2021) atualmente, existem quatro fontes principais de AG *trans* consumidos pela população, nomeadamente: i) os produtos produzidos industrialmente através do processo de hidrogenação parcial de óleos vegetais, ii) os produzidos por processos térmicos (durante os processos de fritura), iii) os artificiais que são sintetizados para serem utilizados como suplemento dietético, e iv) os produzidos naturalmente que tem como fonte os ruminantes.

Os AG *trans* de origem industrial resultam da hidrogenação dos óleos vegetais, que envolve um processo catalítico em que se adiciona átomos de hidrogénio às duplas ligações entre os átomos de carbono, causando a saturação dessas ligações. Na indústria, pode ser realizada de forma total, quando todas as ligações duplas são saturadas, ou parcial, reduzindo apenas parte das insaturações na molécula (Damodaran et al. 2010; Gazzola e Depin 2016). Este processo é geralmente utilizado como forma de estabilizar os óleos vegetais que são ricos em AGPI e, portanto, mais suscetíveis à oxidação.

A desodorização na refinação dos óleos vegetais pode gerar até 3% de AG *trans*, devido à isomerização geométrica essencialmente dos ácidos linoleico e linolénico a temperaturas elevadas (Wolff et al., 1992; Sanibal e Filho 2002; Xiao et al., 2010). Bhat et al. (2022) demonstram que o aquecimento de óleos durante a confeção culinária promove um aumento significativo no teor de AG *trans*, sobretudo em temperaturas superiores a 200 °C e com tempos de exposição prolongados. Óleos ricos em AGPI, como os de soja e milho, revelam-se mais suscetíveis à isomerização térmica, originando predominantemente isómeros *trans*-18:1, *trans*-18:2 e *trans*-18:3. Assim, a temperatura e a duração do aquecimento constituem fatores determinantes na formação de AG *trans*, podendo representar uma fonte adicional de ingestão destes compostos na dieta

Os AG *trans* sintéticos incluem, suplementos alimentares de CLA, predominantemente formados por uma mistura equilibrada de dois isómeros, 18:2 *cis*-9,*trans*-11 e 18:2 *trans*-10,*cis*-12, juntamente com pequenas quantidades de isómeros conjugados *c/t*, *c/c*, *t/t*. Em contrapartida, a composição de AG conjugados nas gorduras dos ruminantes é significativamente diferentes das preparações comerciais de CLA, particularmente em relação

ao teor de 18:2-*trans*-10,*cis*-12, que se encontra apenas em quantidades vestigiais nas gorduras dos ruminantes (Sehat et al. 1998; Kramer et al. 2004; TFAMohammed et al. 2010).

Os AG *trans* de origem natural resultam da biohidrogenação ruminal dos AGI da dieta, geralmente AG com 18 carbonos, como o oleico, linoleico e linolénico que são convertidos em AG *trans* e AGS como produto final, pela ação de microrganismos do rúmen. De facto, os microrganismos no rúmen têm a capacidade de isomerizar e hidrogenar as duplas ligações dos AGI provenientes da alimentação dos ruminantes, formando intermediários como o ácido vacénico e os isómeros de CLA, como será explicado na seção 2.4.1. Exemplos de alguns tipos de AG *trans*, incluindo as suas nomenclaturas sistemáticas e comum, assim como as principais fontes alimentares estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Nomenclatura sistemática e comum e fontes de alguns AG *trans* em alimentos (adaptado de Chiuchi et al. 2024).

ABREVIATURA	NOME SISTEMÁTICO	NOME COMUM	FONTES
18:1 <i>trans</i> -9	<i>trans</i> -9-octadecenoico	Ácido elaídico	Batata frita, gelados, gorduras hidrogenadas, snacks
18:1 <i>trans</i> -11	<i>trans</i> -11-octadecenoico	Ácido vacénico	Carne de ruminantes, produtos lácteos
18:2 <i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11	<i>trans</i> -9,12-octadecadienoico	Ácido linolelaídico	Óleo de fritura, carne de ruminantes, produtos lácteos
16:1 <i>trans</i> -9	<i>trans</i> -9-hexadecenoico	Ácido <i>trans</i> -palmitoleico	Carne e leite de ruminantes
18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	<i>trans</i> -11-octadecadienoico	Ácido ruménico	Leite integral, queijos, carne dos ruminantes

No mercado português, Costa et al. (2016) analisou o teor em AG *trans* de diferentes classes de alimentos e verificou que a sua concentração é bastante variável, mesmo dentro da mesma classe de alimentos como apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Teor de ácidos gordos *trans* (média e intervalo) em produtos alimentares processados selecionados vendidos no mercado português (Costa et al. 2016).

GRUPO DE ALIMENTOS	N	TOTAL TFA(g/100G GORDURA)	< 2% TFA (N)	TRANS-C18:1 (g/100)	TRANS-C18:2 (g/100)	TRANS-C18:3 (g/100)	TOTAL AG TRANS (g/100)
Crems de chocolate	6	0,45 (0,14–0,86)	0	0,09 (nd–0,13)	0,17 (nd–0,57)	0,12 (nd–0,32)	0,18 (0,07–0,32)
Sopas instantâneas	5	0,51 (0,34–0,77)	0	0,15 (0,09–0,29)	0,28 (0,25–0,32)	0,02 (nd–0,04)	0,07 (0,02–0,18)
Batatas fritas e batatas chips	25	0,62 (0,17–1,26)	0	0,14 (0,02–0,89)	0,37 (0,06–0,72)	0,05 (nd–0,18)	0,18 (0,05–0,38)
Padaria e cereais de pequeno-almoço	7	0,71 (0,40–1,02)	0	0,26 (nd–0,82)	0,25 (0,03–0,48)	0,09 (0,01–0,37)	0,03 (0,01–0,07)
Snacks de chocolate	4	0,83 (0,26–2,00)	0	0,60 (nd–2,00)	0,18 (nd–0,47)	0,01 (nd–0,02)	0,32 (0,07–0,75)
Margarinas e gorduras vegetais	16	0,83 (0,26–2,16)	1	0,35 (nd–1,66)	0,34 (0,01–0,89)	0,09 (0,02–0,22)	0,56 (0,16–1,57)
Pipocas de micro-ondas	4	0,87 (0,50–1,54)	0	0,40 (0,10–1,27)	0,41 (0,24–0,62)	0,03 (0,02–0,03)	0,11 (0,08–0,13)
Sobremesas instantâneas	6	0,95 (0,06–3,05)	1	0,95 (0,06–3,05)	nd	nd	0,19 (0,01–0,78)
Caldos e temperos	5	1,10 (0,60–2,79)	1	0,59 (0,16–2,11)	0,39 (0,25–0,53)	0,08 (0,02–0,23)	0,28 (0,12–0,85)
Fast food	13	1,15 (0,38–3,07)	3	0,61 (0,05–2,10)	0,29 (0,11–0,50)	0,12 (0,05–0,25)	0,15 (0,06–0,40)
Pastelaria	120	1,96 (0,07–8,47)	35	1,47 (0,01–7,94)	0,36 (nd–0,69)	0,06 (nd–0,26)	0,49 (0,01–2,51)
Bolachas, waffles e biscoitos	53	3,42 (0,21–30,2)	9	2,89 (0,01–28,65)	0,42 (nd–1,73)	0,06 (nd–0,38)	0,72 (0,02–6,02)
(Manteiga)*	4	2,92 (2,07–3,58)	–4	1,95 (1,16–2,53)	0,58 (0,51–0,65)	0,17 (0,16–0,17)	1,46 (1,14–2,00)
Total geral	268	1,87 (0,06–30,2)	50**	1,38 (nd–28,6)	0,35 (nd–1,73)	0,06 (nd–0,38)	0,47 (0,01–6,02)

Abreviaturas: TFA - trans fatty acid ;*nd: não detectado.

2.2.2. Efeitos dos Ácidos gordos *trans* na saúde

Diversos estudos (Suzuki et al. 2011; Mariana Srebernick et al. 2013; Kwon 2016; Separovic e Aued-Pimentel 2016) demonstraram que o consumo de AG *trans* de origem industrial está associado a vários problemas de saúde, como obesidade, diabetes, hipertensão, aumento do colesterol LDL, redução do HDL, maior acumulação de gordura abdominal e visceral, além de estar relacionado com um risco acrescido de alguns tipos de cancro. Estes efeitos negativos devem-se, em grande parte, à configuração geométrica dos AG *trans* industriais, que se assemelha mais à dos AGS do que à dos AGI, conforme explicado por Nasciutti et al. (2015). Ao elevarem os níveis de LDL – lipoproteína que transporta colesterol do fígado para os tecidos – estes AG contribuem para a formação de placas nas artérias, aumentando o risco de doenças cardiovasculares (David e Guivant 2012). Para além disso, os AG *trans* industriais também alteram a estrutura das membranas celulares, desorganizando os fosfolípidos e comprometendo a fluidez da membrana. Este fenómeno afeta especialmente as células nervosas, uma vez que os AG *trans* podem ser incorporados na bicamada lipídica das membranas neuronais e na bainha de mielina, interferindo com a comunicação entre neurónios e podendo contribuir para défices cognitivos e perturbações psiquiátricas como ansiedade e depressão (Ginter e Simko 2016; Shimizu et al. 2020).

Por outro lado, AG *trans* de origem natural, presentes na gordura do leite e da carne de ruminantes, como o ácido vacénico (18:1*trans*-11) e o ácido ruménico (CLA *cis*-9,*trans*-11), têm demonstrado propriedades benéficas para a saúde. O CLA, tem sido associado a efeitos hipocolesterolémicos, anticancerígenos, antiaterogénicos, imunomoduladores e à melhoria da saúde óssea (Sanhueza C et al. 2002; Markiewicz-Kęszycka et al. 2013; Tudisco et al. 2015). O 18:1*trans*-11, precursor do CLA no organismo, por ação da enzima Δ -9-desaturase, também revela propriedades benéficas, como a redução do risco cardiovascular e a inibição do crescimento de células tumorais (Field et al. 2009). Além disso, tanto o 18:1*trans*-11 como o ácido oleico, encontrado no leite, ajudam a melhorar o perfil lipídico sanguíneo, sendo que o ácido oleico contribui para a redução do colesterol total e do LDL (Benito et al. 2006).

No entanto, nem todos os AG *trans* de origem ruminante apresentam efeitos favoráveis. O isómero 18:1 *trans*-10, embora de origem ruminante, pode exibir efeitos metabólicos e inflamatórios semelhantes aos observados com os AG *trans* industriais, como aumento do LDL e redução do HDL, promovendo alterações prejudiciais ao perfil lipídico e à função vascular (Stender et al. 2008; Alves et al. 2021).

2.2.3. Recomendações nutricionais

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda, desde 2002, que a ingestão de AG *trans* não ultrapasse 1% do valor energético total da dieta. Considerando uma dieta de referência de 2000 kcal/dia, este limite corresponde a aproximadamente 2,2 g de AG *trans* por dia. Este valor é utilizado como parâmetro para estimativas populacionais e comparações com a ingestão real, embora se reconheça que as necessidades energéticas variam entre indivíduos (Stroher et al. 2012). Em novembro de 2020, a OMS introduziu um programa de certificação destinado a reconhecer os países que conseguirem eliminar os AG *trans* de origem industrial dos seus sistemas alimentares. Para se qualificar para esta certificação, um país deve demonstrar a implementação de uma política de eliminação dos AG *trans* baseada em melhores práticas, bem como a existência de sistemas robustos de monitorização. Em 2023 os primeiros países a obter esta certificação foram a Dinamarca, Lituânia, Arábia Saudita e Tailândia (WHO, 2023). Na União Europeia o Regulamento (UE) nº 2019/649 da comissão de 24 de abril de 2019, refere ao teor máximo de AG *trans*, com exceção dos AG *trans* naturalmente presentes em lípidos de origem animal (produtos dos ruminantes), os alimentos destinados ao consumidor final e os alimentos destinados ao abastecimento do comércio retalhista não pode exceder 2 gramas por 100 gramas do total de lípidos. Este regulamento está em vigor desde 2 de abril de 2021 a todos os países da União Europeia, visando proteger a saúde dos consumidores. O Regulamento (UE) nº 1169/2011 do Parlamento Europeu e do conselho de 25 de outubro de 2011 referente a rotulagem de alimentos, não impõe a obrigatoriedade de declarar a quantidade de AG *trans* nos rótulos nutricionais dos alimentos pré-embalados, sendo essa informação de carácter facultativo.

Segundo o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física elaborado por Lopes et al. (2017) o consumo médio diário de AG *trans* pela população portuguesa é de 0,8 g de AG *trans* por dia, correspondendo a 0,4% do valor energético total (VET) estando abaixo da recomendação da OMS (ou seja < 1% VET). Os dados deste inquérito indicam que a ingestão de AG *trans* em Portugal resulta de forma relativamente equilibrada entre fontes naturais e industriais. Produtos de origem animal, como os lácteos (35,5%) e a carne, peixe e ovos (21,0%), representam uma proporção significativa da ingestão total, refletindo a presença natural destes compostos. No entanto, alimentos processados como bolachas, bolos e doces (18,9%), óleos e gorduras (15,9%) e snacks, salgados e pizzas (4,0%) também contribuem de forma relevante, evidenciando a presença considerável de AG *trans* de origem industrial.

Atualmente não existe uma recomendação oficial de ingestão diária de CLA por parte de entidades reguladoras como a EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar) ou a OMS. No entanto, com base em estudos experimentais e revisões científicas, foram propostos valores indicativos, com foco em efeitos benéficos. Estudos como o de (Pariza

1999) baseado em estudos com efeitos anticancerígenos e redução de gordura corporal em humanos e animais, sugere uma dose de ~3 g/dia. Siurana e Calsamiglia (2016) sugerem uma dose eficaz com base em evidência moderada e segura para humanos de 0,8 g/dia.

2.3. Consumo e composição química do leite

2.3.1. Produção e consumo de leite

A União Europeia (UE) destaca-se como um dos principais produtores mundiais de leite e derivados. Este produto é produzido em todos os Estados-Membros, representando uma proporção significativa do valor total da produção agrícola da região. A produção anual, estimada em 150,35 mil milhões de litros, evidencia a escala e a importância económica deste sector. Países como a Alemanha, França, Polónia, Países Baixos, Itália e Irlanda lideram a produção, sendo responsáveis por aproximadamente 70% do total comunitário. Nos últimos anos, tem-se observado uma redução no efetivo leiteiro da UE. Contudo, este decréscimo tem sido compensado por um aumento notável da produtividade por vaca leiteira, que atingiu, em média, 7.000 litros por animal em 2020. Este progresso reflete avanços significativos nas áreas de tecnologia, genética animal, práticas de manejo e nutrição. Paralelamente, a diminuição do número de vacas é indicativa de uma estratégia orientada para a eficiência produtiva e a sustentabilidade, alinhando-se com os objetivos ambientais estabelecidos pela EU (União Europeia 2025).

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (2024), Portugal em 2024 produziu um total de 1 970 milhões de litros de leite de vaca, sendo que, Portugal Continental produziu 1 359 971 litros seguido dos Açores com 607 923 litros e a Madeira com 1 797 litros produzidos (Figura 4).

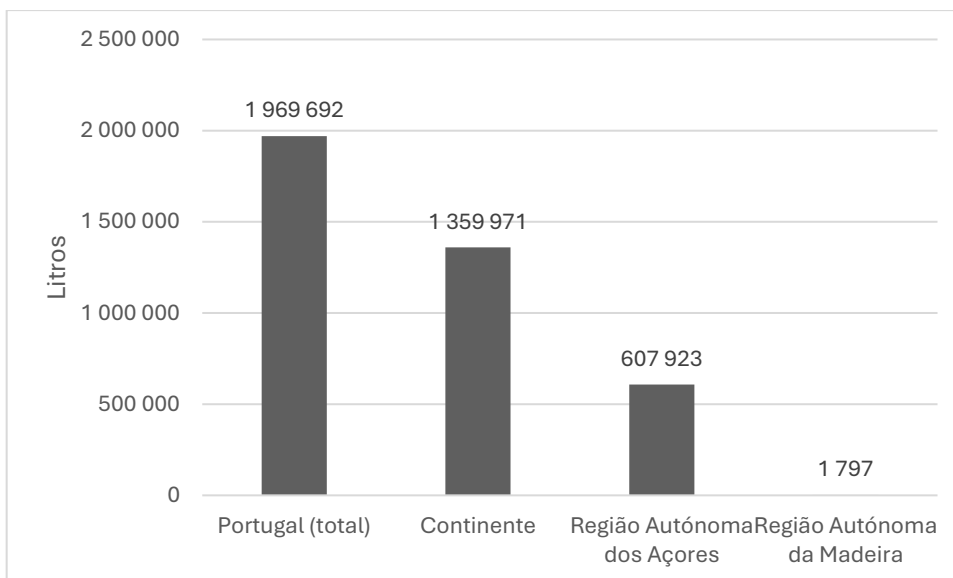


Figura 4 - Produção de leite, em milhares de litros por localização geográfica adaptado de (INE 2024).

De acordo com o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física elaborado por Lopes et al. (2018), os portugueses consomem cerca de 254 gramas de produtos lácteos, sendo 167 gramas diários de leite, esse consumo contribui para a ingestão de nutrientes importantes como o cálcio e proteínas (Figura 5).

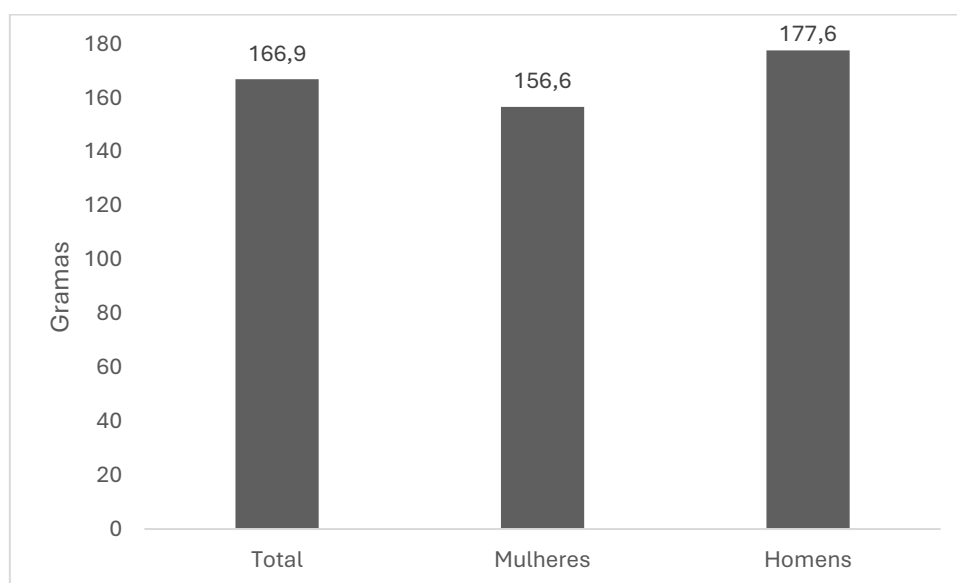


Figura 5 - Ingestão média diária de leite, em gramas. Adaptado de Lopes et al (2018).

2.3.2. Composição química do leite

O leite de vaca é composto por água 85–87%, lípidos 3,8–5,5%, proteínas 2,9–3,5% e hidratos de carbono cerca de 5%. A nível de micronutrientes, o leite contém diversos

compostos bioativos, incluindo vitaminas, minerais, ácidos orgânicos, nucleótidos, oligossacáridos e imunoglobulinas (Fox et al. 2015).

Os lípidos do leite estão contidos como glóbulos de gordura emulsificados em meio aquoso, cada glóbulo revestido por uma membrana derivada das glândulas secretoras, chamada de membrana do glóbulo de gordura (MGF) (Jensen et al. 1991). Cerca de 95-98% destes lípidos são formados por triacilgliceróis, lípidos neutros, sendo o restante composto por quantidade muito inferiores de diacilgliceróis cerca de (~2%), fosfolípidos (lípidos polares) entre (0,5 – 1%), esteróis com cerca de (0,2-0,5%), com destaque para o colesterol e vestígios de AG livres. Cada molécula de triacilglicerol é composta por um glicerol e três AG, estes representam a fração maioritária da gordura do leite (Jensen 2002).

As duas principais frações protéicas do leite são a caseína e as proteínas do soro. A caseína é a proteína mais abundante, representa cerca de 80% das proteínas totais do leite. As micelas de caseína formam-se pela interação entre várias proteínas de caseína e fosfato de cálcio, resultando em uma partícula coloidal de estrutura esférica. A caseína pode ser dividida nas frações α_1 -, α_2 -, β - e κ -caseína (Chandan 2007). As caseínas são fosfoproteínas que contêm grupos fosfato ligados por esterificação aos resíduos de serina. As frações α - e β -caseína apresentam caráter mais hidrofóbico e encontram-se majoritariamente no interior das micelas, ao passo que a κ -caseína se localiza predominantemente na superfície (Korhonen 2009). A outra fração proteica do soro do leite corresponde a aproximadamente 20% do total de proteínas do leite (Korhonen 2009). Esta fração inclui proteínas como a β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, lactoferrina, imunoglobulinas, albumina sérica bovina, entre outras enzimas. As proteínas do soro apresentam uma estrutura esférica mais ordenada comparativamente às caseínas, possuem ligações dissulfureto e precipitam principalmente em resposta ao calor, diferindo das caseínas que tendem a precipitar sob condições ácidas (Chandan 2007).

A lactose, um dissacárido constituído pelos monossacarídeos, glicose e galactose, é o principal hidrato de carbono presente no leite. Este açúcar fornece energia essencial para os mamíferos recém-nascidos e confere ao leite o seu sabor doce característico (Walstra et al. 2005).

As vitaminas presentes no leite e nos produtos lácteos constituem uma fração nutricionalmente relevante, estando representadas pelas 13 vitaminas essenciais. As suas concentrações variam de forma significativa: para as vitaminas C, B5 e B3, os teores podem atingir valores entre uma a vários milhares de microgramas por litro; as vitaminas A, E e B1 encontram-se geralmente nas centenas de microgramas por litro; a vitamina B9 surge em

concentrações na ordem de algumas dezenas de microgramas por litro; e, por fim, as vitaminas D e B12 apresentam teores inferiores a 10 µg/L (Graulet 2014).

A fração mineral do leite, embora represente uma proporção relativamente reduzida da sua composição, aproximadamente 8 a 9 gramas por litro é constituída por catiões, como cálcio, magnésio, sódio e potássio, e aniões, nomeadamente fosfato inorgânico, citrato e cloreto. Estes iões assumem um papel fundamental na estrutura e estabilidade das micelas de caseína (Pieter Walstra e Robert Jenness 1984; Holt 1997).

Os ácidos orgânicos, compostos que possuem o grupo funcional carboxila (-COOH), encontram-se no leite em concentrações baixas ou são gerados durante a fermentação. Durante a fermentação, o papel principal das bactérias ácido-lácticas é a produção de ácido láctico e de outros ácidos orgânicos, tais como o ácido acético, ácido cítrico e ácido butírico (Kumar 2015). A fermentação do leite é um processo natural mediado por bactérias ácido-lácticas, que promovem a coagulação do leite, aumentam a sua acidez e simplificam as moléculas orgânicas, tornando-as mais facilmente digeríveis. Este processo contribui também para a conservação dos alimentos perecíveis, melhora as suas características sensoriais e representa a principal forma de fornecer probióticos ao organismo, reforçando o sistema imunitário (Kaur et al. 2020).

Os nucleótidos resultam da fosforilação dos nucleósidos, apresentando um, dois ou três grupos fosfato ligados, maioritariamente, ao carbono 5 da ribose. Esta distinção estrutural é fundamental para as suas funções biológicas, uma vez que os nucleótidos participam em processos vitais como a síntese de ácidos nucleicos, o metabolismo energético e a regulação da sinalização celular (Gill et al. 2011). A sua presença no leite bovino, sob diferentes formas químicas, tem vindo a ser estudada devido ao seu potencial papel como nutrientes semi-essenciais na dieta humana, sobretudo em fases de rápido crescimento, stress metabólico ou imaturidade imunológica (Gill et al. 2012).

Os oligossacarídeos são definidos, de forma rigorosa, como hidratos de carbono constituídos por três a dez resíduos de monossacarídeos ligados covalentemente através de ligações glicosídicas. No leite de vaca, encontram-se apenas em quantidades vestigiais, sendo que as concentrações mais elevadas ocorrem no colostro. Com o avanço da lactação após o parto, os níveis destes compostos diminuem rapidamente, o que dificulta a sua extração e análise laboratorial (Gopal e Gill 2000).

As imunoglobulinas são proteínas globulares com funções antimicrobianas e imunomoduladoras, presentes no soro, colostro e leite em concentrações variáveis, dependendo da espécie. No leite, refletem a exposição antigénica materna, sendo maioritariamente do tipo imunoglobulina secretora, produzida localmente na glândula mamária

por plasmócitos originados a partir de linfócitos B intestinais, sob controlo hormonal e de citocinas. Atua na mucosa intestinal do neonato, promovendo a colonização seletiva por microbiota comensal e contribuindo para o desenvolvimento da resposta imune (Butler 1986; Hurley 2003).

2.3.3. Ácidos gordos do leite

A composição de AG do leite é representada por aproximadamente 70% de AGS, destacando-se os de cadeia longa, como o palmítico, mirístico e o esteárico, e os de cadeia curta, como o butírico e o capróico (Lindmark Månsson 2008). Entre os AGS presentes, encontram-se também os ácidos gordos de cadeia ramificada (AGCR) constituem um grupo particular de AGS caracterizados pela presença de um ou mais grupos metilo ligados lateralmente à cadeia principal de carbono. A localização dessa ramificação permite classificá-los, de forma geral, em dois tipos estruturais: iso, quando o grupo metilo se encontra no penúltimo carbono da cadeia, e anteiso, quando a ramificação ocorre no antepenúltimo carbono. Em gorduras provenientes de ruminantes já foram identificadas mais de cinquenta variantes de AGCR. Contudo, os isómeros mono-metil das séries iso e anteiso, com cadeias entre 14 e 17 átomos de carbono, representam a fração predominante destes compostos no perfil lipídico do leite (Ran-Ressler et al. 2014; Yan et al. 2017; Unger et al. 2020). Os produtos da via biossintética dos AGCR são iso-14:0 e iso-16:0, derivados da valina; iso-15:0 e iso-17:0, derivados da leucina; e anteiso-15:0 e anteiso-17:0, derivados da isoleucina (Taormina et al. 2020).

Os AGI compreendem 30%, com ênfase para o ácido oleico com cerca de 25% da composição (USDA 2020), sendo a concentração de AGPI de aproximadamente 2-5%, com o ácido linoleico (ómega-6) e o ácido α -linolénico (ómega-3) os maioritários.

O leite ainda contém isómeros *trans* de origem natural, variando geralmente entre 2-5%, dos quais se destacam o ácido vacénico (18:1*t*11) e os isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA), sendo o CLA *cis*-9,*trans*-11 (ácido ruménico) o maioritário (Guillocheau et al. 2020; Zongo et al. 2021).

O CLA é um grupo de isómeros do ácido linoleico com ligações duplas conjugadas. Estudos indicam que os isómeros *cis*-9,*trans*-11 (ácido ruménico) e *trans*-10,*cis*-12 possuem efeitos biológicos distintos e relevantes para a saúde humana (Wahle et al. 2004; Collomb et al. 2006). A variação do teor de CLA em produtos lácteos tem sido associada a fatores genéticos, como raça e espécie, a características individuais, como idade, e a condições ambientais (Jahreis 1999). Contudo estudos como os (Bessa et al. 2000; Ward et al. 2003) sugerem que a dieta é considerada o fator determinante na modulação do teor de CLA na

gordura do leite. Neste contexto, Pestana et al. (2009) observaram que o leite e os produtos lácteos de origem bovina provenientes dos Açores apresentam concentrações significativamente elevadas de CLA, em comparação com produtos equivalentes de outras regiões, incluindo os de Portugal Continental. Este efeito foi atribuído à elevada qualidade das pastagens e às condições de pastejo no arquipélago açoriano, que favorecem um aumento do teor de CLA no leite, refletindo-se de forma consistente nos queijos e na manteiga.

Embora o leite de vaca faça parte da dieta humana há muito tempo, os consumidores têm vindo a substituí-lo por bebidas vegetais, considerando-os alternativas viáveis. Contudo, a composição nutricional destes produtos não se assemelha à do leite de vaca e varia consideravelmente entre tipos e marcas (Antunes et al. 2022). Estudos como o de Antunes et al. (2024) evidenciam que a análise dos lípidos totais e dos índices de qualidade lipídica revela diferenças significativas entre os leites de vaca e as alternativas vegetais. O leite de vaca apresentou um perfil lipídico mais complexo, contendo 54 AG e colesterol total, enquanto as bebidas vegetais possuem apenas 15 AG e não apresentam colesterol. Apesar de algumas bebidas vegetais, como as de soja ou aveia, apresentarem maior proporção de AGPI (~46–62 %) a riqueza em AG torna o leite de vaca uma opção mais completa para efeitos nutricionais e de saúde.

2.4. Origem dos ácidos gordos na gordura do leite de ruminantes

Os AG da gordura do leite podem ter duas origens, podem ser captados da circulação sanguínea que chega à glândula mamária (AG pré-formados) ou serem sintetizados de novo dentro das células epiteliais mamárias. Os AG de cadeia curta (4 a 8 carbonos) e os AG de cadeia média (10 a 14 carbonos) resultam quase exclusivamente da síntese de novo. Os AG de cadeia longa, em especial de cadeia C18 derivam da absorção de lípidos circulantes, que provêm ou da mobilização dos lípidos de reserva ou da absorção no intestino delgado. Estes são essencialmente AG que vieram da dieta ou resultantes das transformações dos lípidos da dieta durante os processos digestivos no rúmen, incluindo AG de origem microbiana. Os AG com 16 carbonos na cadeia carbonada têm origem em ambas as fontes (Bauman e Griinari 2003).

2.4.1. Metabolismo dos ácidos gordos no rúmen

O complexo sistema estomacal dos ruminantes, composto por rúmen, retículo, omaso e abomaso, possibilita uma fermentação pré-gástrica que modifica de forma substancial a composição da digesta antes de ser direcionada ao intestino delgado, resultando em uma composição diferente em relação aos nutrientes originalmente ingeridos (Harmon e Swanson 2020). Esse processo metabólico afeta a composição de AG presentes na carne e no leite

dos ruminantes, onde AGI como o ácido α -linolénico e o ácido linoleico, embora abundantes na dieta dos ruminantes, acabam sendo encontrados em concentrações significativamente menores nos produtos finais, como carne e leite (Adam Banks e Percy Hilditch 1931; Jenkins et al. 2008).

A metabolização dos lípidios no rúmen inclui a lipólise e biohidrogenação, os quais através de várias etapas enzimáticas, promovem a hidrólise dos AG e a conversão dos AGI da dieta em AGS através da ação de microrganismos, com o objetivo de converter AGI em formas menos tóxicas, ou seja, AGS. Esse processo é essencial para a saúde dos ruminantes, visto que, alguns AGI de origem vegetal podem ser tóxicos para algumas espécies microbianas presentes no rúmen (Van Nevel Demeyer 1996; Vasta e Bessa 2012).

Assim, quando há a ingestão dos lípidos através da dieta, estes no rúmen estão sujeitos ao processo de hidrólise inicial mediada por lípases microbianas principalmente bactérias lipolíticas, incluindo *Anaerovibrio lipolytica* e várias espécies de *Butyrivibrio*. Este processo é crucial, pois resulta na formação de glicerol e AG. A formação dos AG na forma livre é essencial para que ocorra o processo da biohidrogenação. (Van Nevel Demeyer 1997; Jarvis e Moore 2010).

Após a libertação dos AG, pode ocorrer a isomerização dos AGPI, na qual as duplas ligações de configuração *cis* são convertidas em configuração *trans*. Isso resulta na formação de AG *trans*, como o ácido vacénico (18:1*trans*-11). Essa isomerização é promovida por enzimas específicas, que são produzidas principalmente por microrganismos dos géneros *Butyrivibrio* e *Clostridium* (Jarvis e Moore 2010).

As vias principais da biohidrogenação ruminal dos AGI como o 18:2n-6 (ácido linoleico) e 18:3n-3 (ácido linolénico), abundantes nas dietas dos ruminantes, começam com a isomerização da ligação *cis*-12, a qual é reposicionada no carbono 11, sendo convertida de *cis* para *trans*. Esse processo forma intermediários conjugados, o ácido 18:2 *cis*-9,*trans*-11 (CLA *cis*-9,*trans*-11) a partir do linoleico e os 18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 a partir do linolénico. A seguir à formação desses intermediários, eles passam por sucessivas hidrogenações, sendo que na via do 18:2n-6, o principal intermediário gerado é o ácido 18:1 *trans*-11, enquanto na via do 18:3n-3, o intermediário resultante é o 18:2 *trans*-11,*cis*-15, podendo ser depois hidrogenado em 18:1 *trans*-11 ou 18:1 *cis*-15. O passo final da biohidrogenação ruminal envolve a hidrogenação dos AG monoinsaturados, sendo estes completamente saturados, resultando no ácido esteárico 18:0 como produto final (Jenkins et al., 2008).

As vias de biohidrogenação ruminal dos AGI são intensamente moduladas pela dieta do animal e pelas condições ruminais, como o pH. Em condições em que a dieta contém baixas proporções de forragem e elevadas proporções de alimentos compostos, ricos em

amido, baixa fibra e suplementadas com lípidos, pode haver desvios nas vias de biohidrogenação principal. De facto, é conhecido que essas condições, favorecem a formação do isómero 18:1 *trans*-10 como intermediário principal que é formado no rúmen, em vez do 18:1 *trans*-11, conforme discutido por Griinari et al. (1999). Esta alteração é conhecida como “*trans*-10 shift” e foi proposta de ser identificada em amostras de conteúdos digestivos, na carne, nos depósitos de gordura ou no leite de ruminantes, quando o rácio 18:1 *trans*-10/18:1 *trans*-11 é superior a 1 (Bessa et al. 2015).

Estudos de Alves e Bessa (2014) exploraram as vias alternativas da biohidrogenação ruminal dos AGP, principalmente o *trans*-10 shift, e os intermediários que são formados durante essa alteração metabólica permitindo identificar pela primeira vez, um dos intermediários da via da biohidrogenação alternativa do 18:3n-3, isto é, o 18:2 *trans*-10,*cis*-15 (Figura 6). No entanto, na via alterada do 18:2n-6, para além do 18:1 *trans*-10, forma-se o CLA, 18:2 *trans*-10,*cis*-12, que está associado à inibição da síntese da gordura do leite (Bauman e Griinari 2003).

Para além das vias de biohidrogenação principais dos AGPI 18:2n-6 e 18:3n-3, diversas vias minoritárias levam à formação de outros AG *trans* de cadeia 18:1, 18:2 ou 18:3, que podem fluir do rúmen e serem absorvidos no intestino delgado, e posteriormente depositados nos produtos dos ruminantes. É em grande parte devido a estes processos que ocorrem no rúmen que a composição da gordura do leite dos ruminantes é bastante complexa (Dewanckele et al. 2020).

A composição lipídica dos microrganismos ruminais, inclui AG ramificados, de cadeia iso e anteiso, e de cadeia ímpar. Este perfil varia, no entanto, com a espécie das bactérias ruminais, como avaliado por Miyagawa (1982). Estes AG podem também deixar o rúmen e serem absorvidos no intestino delgado, e após chegarem à glândula mamária serem incorporados na gordura do leite. De facto, como revisto por Vlaeminck et al. (2006) a gordura do leite contém relevantes concentrações dos AG ramificados iso-14:0, iso-15:0, iso-16:0, iso-17:0, iso-18:0, anteiso-15:0, e anteiso-17:0.

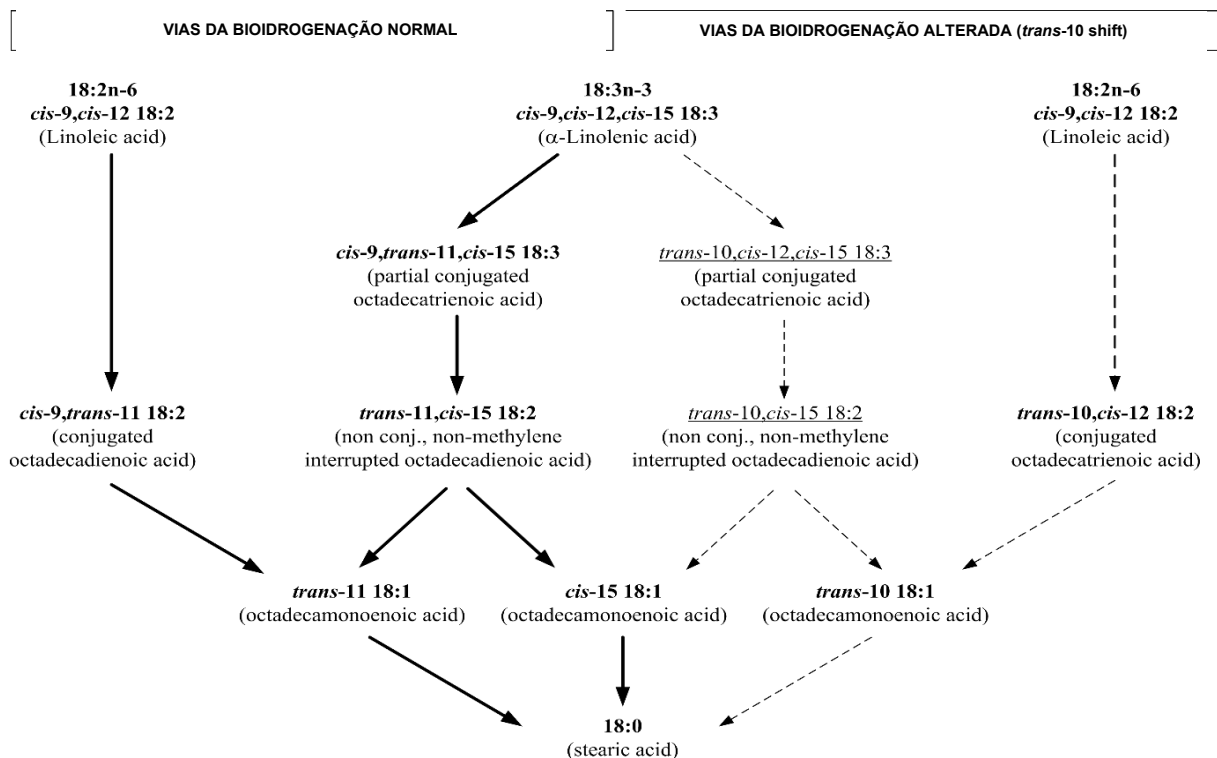


Figura 6 - Vias normais e alteradas da biohidrogenação ruminal do ácido linoleico e linolênico (Alves e Bessa 2014).

2.4.2. Síntese da gordura do leite na glândula mamária

Como já referido anteriormente, a biossíntese da gordura do leite nos ruminantes utiliza duas fontes principais de AG, sendo que, cerca de 40% são sintetizados de novo na glândula mamária e outros 60% são provenientes da circulação sanguínea. Os precursores da síntese de novo utilizam o acetato e o β -hidroxibutirato, ambos com origem da fermentação ruminal dos hidratos de carbono da dieta, para produzir AG de cadeia curta e média, como o 4:0, 14:0 e 16:0 (Barber et al. 1997). A enzima acetil-CoA carboxilase catalisa a conversão do acetato em malonil-CoA, enquanto a síntese de AG promove ciclos de condensação entre malonil-CoA e acetil-CoA, formando 16:0 (Foster 2012).

Os AG de cadeia longa pré-formados derivam da dieta metabolizada no rúmen e da mobilização das reservas lipídicas corporais durante o balanço energético negativo da lactação. O transporte desses AG é efetuado na forma de triacilgliceróis associados a lipoproteínas ou como AG não esterificados, e captados para a glândula mamária por meio da enzima lipoproteína lípase (LPL) (Baldwin et al. 1980; Chazal e Chilliard 1986).

Na glândula mamária, especificamente no retículo endoplasmático liso das células secretoras, ocorre a síntese de triacilgliceróis a partir dos AG que foram captados do sangue

ou sintetizados de novo. Estes AG podem ser utilizados como substrato da enzima stearoyl-CoA desaturase (Δ -9-desaturase, SCD), que envolve a introdução de uma dupla ligação no carbono 9. Exemplo deste processo é a síntese de isómeros de CLA no leite (Figura 7) a partir ácido vacénico ($18:1$ *trans*-11), um dos intermediários da biohidrogenação ruminal que é absorvido no intestino e transportado até às glândulas mamárias. Nas células secretoras da glândula mamária, a enzima Δ 9-desaturase atua sobre o $18:1$ *trans*-11, inserindo uma dupla ligação entre os carbonos 9 e 10 da molécula. Isto converte o $18:1$ *trans*-11 em CLA, especificamente no isómero $18:2$ *cis*-9,*trans*-11 (Bauman e Griinari 2003; Sieber et al. 2004; Gorissen et al. 2010).

De facto, estima-se que 78% do CLA presente no leite é formado pela conversão enzimática, sendo que, o restante é formado diretamente no rúmen, durante a biohidrogenação do $18:2n-6$ e incorporado no leite já pré-formado. A enzima Δ 9-desaturase tem assim um papel crucial na concentração final de CLA *cis*-9,*trans*-11 do leite (Bauman e Griinari 2003b; Sieber et al. 2004), sendo esta influenciada pela quantidade que de $18:1$ *trans*-11 que está disponível para a absorção intestinal (Lor et al. 2003). Assim, o $18:1$ *trans*-11 não resulta apenas da biohidrogenação ruminal, mas também serve de substrato preferencial para a formação de CLA, reforçando o seu interesse em estratégias nutricionais e tecnológicas que visem valorizar alimentos de origem ruminantes (Bessa et al. 2000). No entanto, limitações como a composição da dieta, que influencia a ocorrência do *trans*-10 shift no rúmen, ou uma baixa atividade da enzima Δ 9-desaturase, podem condicionar a quantidade de CLA no leite. De facto, quando ocorre o *trans*-10 shift no rúmen, o principal isómero formado no rúmen e disponível para absorção no intestino é o $18:1$ *trans*-10, o qual não pode ser convertido em CLA na glândula mamária uma vez que os vertebrados não expressam a enzima delta-10 (Bessa et al. 2000).

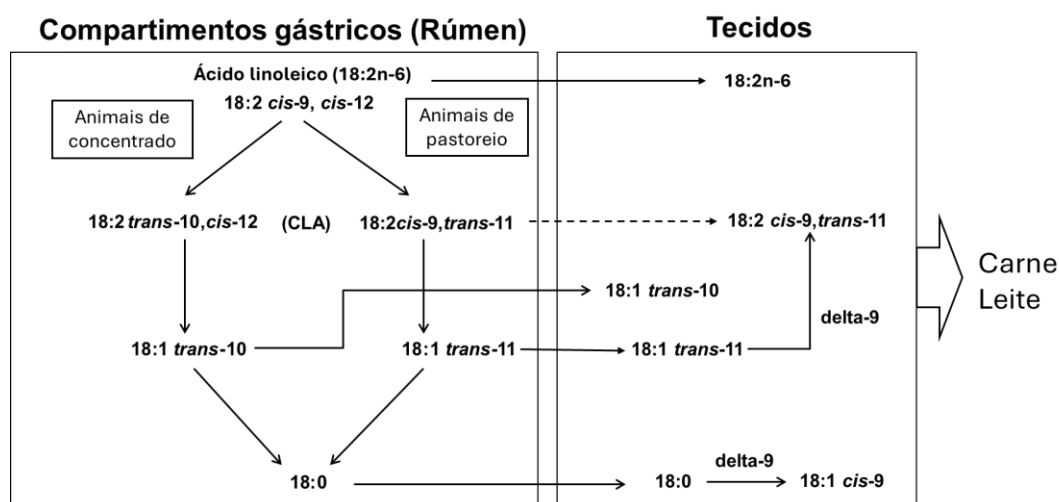


Figura 7 - Vias de biossíntese do ácido linoleico conjugado em ruminantes, adaptado de (Koba e Yanagita 2014).

2.5. Fatores que influenciam o perfil em ácidos gordos *trans* do leite

Uma combinação de fatores influencia diretamente o perfil em AG, incluindo os AG *trans* no leite dos ruminantes, que incluem a alimentação dos animais, o estado fisiológico do animal, a genética e raça e até mesmo fatores ambientais como a estação do ano, o manejo e o ambiente.

No entanto, diversos estudos mostram que a alimentação é um dos fatores principais que influenciam o perfil de AG *trans* do leite, nomeadamente os isómeros 18:1 *trans* e os isómeros de CLA (Chilliard et al., 2007; O'Callaghan et al., 2016; Magan et al., 2021). A dieta base, nomeadamente a proporção de forragem e concentrado, é determinante se o perfil em AG *trans* no leite é mais benéfico ou prejudicial à saúde humana. De facto, como foi descrito anteriormente dietas à base de forragem promovem biohidrogenações ruminais dos AGPI com a formação do 18:1*trans*-11 e CLA *cis*-9,*trans*-11, enquanto dietas à base de alimentos compostos, com baixo teor de fibra e elevado teor de hidrocarbonatos não fibrosos, levam à formação de AG *trans*-10, que diminuem a quantidade e qualidade nutricional do leite. Estratégias para aumentar a concentração dos AG *trans* benéficos no leite e derivados envolvem aumentar a proporção de forragem na alimentação, a suplementação com óleos vegetais ou oleaginosas, promovendo uma fonte extra de AGPI. A modulação da biohidrogenação ruminal utilizando diversas estratégias como a utilização de fontes de taninos, também tem sido explorada para melhorar a composição em AG do leite.

Stergiadis et al. (2014) mostraram o impacto da suplementação com oleaginosas na melhoria dos AG do leite produzido no inverno por vacas em regime intensivo de alimentação e o aumento dos níveis de AG benéficos, como o CLA e os AG ómega-3, enquanto houve a redução de AGS.

Segundo Stoop et al. (2009) a fase da lactação e do estado energético tem influência na composição de AG do leite. O estudo mostrou que nas primeiras fases da lactação há uma maior concentração de AGS e nas fases finais os AGI possuem uma maior concentração. Além que, os leites de vacas em déficit energético apresentaram uma diminuição nos AGI e um aumento nos AGS, com esses resultados, é seguro afirmar que o estado energético e a fase de lactação devem ser considerados para a otimização da composição do leite.

Arnould e Soyeurt (2009) mostraram em seu estudo que a composição de AG no leite varia entre indivíduos e raças. Eles identificaram marcadores genéticos associados a diferentes perfis de AG, como AGS e AGI e como esses perfis podem ser influenciados pela seleção genética. O estudo sugere que a seleção de vacas com características genéticas

específicas pode melhorar a composição do leite, aumentando os AG benéficos como o CLA e ómega-3 e reduzindo os AGS.

Os resultados dos estudos de Bohlouli et al. (2021); Dauria et al. (2022); Razzaghi et al. (2023) mostram que o ambiente e o stress térmico são um fator determinante na composição do leite. Os resultados encontrados foram que o stress devido às altas temperaturas ou mudanças sazonais podem afetar negativamente a composição de leite. Tendo como o resultado a diminuição de AGI e o aumento de AGS. Além disso, o stress pode afetar a saúde geral das vacas, levando a uma menor síntese de lípidos no tecido mamários.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar e quantificar o perfil em AG, principalmente em AG *trans* do leite de vaca produzido em Portugal, e disponível para a venda nos estabelecimentos comerciais de retalho na região de Lisboa. Também se pretende estimar a contribuição para a ingestão de AG *trans* na dieta dos consumidores portugueses e relacionar a sua ingestão com as atuais recomendações nutricionais.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil em AG do leite de vaca, com ênfase nos AG *trans*;
- Avaliar diferenças na composição em AG entre leites comercializados por diferentes marcas ou de diferentes regiões do país (Portugal continental vs Açores).
- Avaliar nutricionalmente as diferentes marcas, estimando sua contribuição para a ingestão diária de AG *trans*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Plano de amostragem e colheita de amostras

As amostras de leite utilizadas neste estudo foram adquiridas em diversos estabelecimentos comerciais localizados na área metropolitana de Lisboa, no período de novembro de 2024 a agosto de 2025. Foram recolhidas amostras de cada marca, sempre com lotes distintos, o que fez um total de 81 amostras analisadas. Selecionamos 8 marcas distintas de leite de vaca inteiro UHT, sendo: Mimosa (n=10), Terra Nostra (n=12), Agro

(n=11), Milbona (n=13), Nova Açores (n=8), Continente (n=11), Pingo Doce (n=7) e Gresso (n=9), todas provenientes de leite produzido em Portugal continental e Açores, como ilustra a Figura 8. Adicionalmente, foi consultada a tabela nutricional de cada marca (Tabela 4), disponibilizada nos rótulos originais das embalagens, a fim de caracterizar o perfil declarado de macronutrientes.



Figura 8 – Marcas de leites de vaca inteiros UHT.

Tabela 4 - Tabela Nutricional do leite de vaca inteiro.

MARCA	ENERGIA (kJ/kcal)	LÍPIDOS (g)	SATURADOS (g)	HIDRATOS DE CARBONO (g)	AÇUCARES (g)	PROTEÍNAS (g)	SAL (g)
Mimosa	273/65	3,6	2,3	4,9	4,9	3,3	0,1
Terra Nostra	273/65	3,6	2,6	5	4,7	3,2	0,1
Agro	273/65	3,6	2,3	4,9	4,9	3,3	0,1
Milbona	268/64	3,5	2,2	4,8	4,8	3,2	0,1
Nova Açores	266/64	3,5	2,2	4,8	4,8	3,2	0,1
Continente	271,96/65	3,6	2,3	4,9	4,9	3,3	0,1
Pingo Doce	271/64	3,6	2,5	4,9	4,9	3,2	0,1
Gresso	273/65	3,6	2,3	4,9	4,9	3,3	0,1

Valores médios por 100 mL.

4.2 Preparação das amostras

Após a receção das amostras no laboratório, estas foram divididas em dois tubos de centrífuga de 50 mL cada e submetidas a centrifugação (Universal 320, Hettich) a 4000 rpm durante 30 minutos a 3°C para recolha da gordura do leite. A fração sólida resultante foi transferida para tubos Eppendorf de 2 mL e imediatamente congelada a -80°C até processamento (Figura 10).



Figura 9 -Processo de preparação de amostra. Divisão em tubos de centrifuga (a), centrifugação a 4000 rpm por 30 minutos (b), congelamento a -80°C em tubos de eppendorf (c).

4.3 Transesterificação dos ácidos gordos

Os AG da gordura de leite foram transesterificados em ésteres metílicos segundo o método adaptado de Molkentin e Precht (2000). Para tal, foram pesados 50 mg da gordura de leite para tubos de ensaio, aos quais se adicionaram 1 mL de n-hexano, 1 ml de éster metílico de 19:0 (padrão interno) e 0,2 mL de solução de KOH em metanol. As amostras foram agitadas durante 1 hora em vortex.

Após este período, adicionaram-se duas gotas de ácido acético glacial, utilizando uma pipeta de Pasteur, com agitação adicional de 10 segundos em vortex. Seguidamente, foram adicionados aproximadamente 0,5g de sulfato de sódio anidro, seguido de nova agitação por 30 segundos em vortex.

As amostras foram então centrifugadas durante 5 minutos, e a fase superior (n-hexano) foi cuidadosamente transferida para vials de cromatografia gasosa, utilizando uma pipeta de Pasteur, evitando a ressuspensão do sulfato de sódio. Os vials foram imediatamente fechados e armazenados a baixa temperatura (congelador) até à análise por cromatografia gasosa.

4.4 Análise por cromatografia gasosa

Para a separação e quantificação dos AG sob a forma de ésteres metílicos utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu 2010-Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão) com detetor de ionização de chama (GC-FID) e equipado com uma coluna capilar de sílica-fundida, SP-2560 (100 m x 0,25 mm x 0,20 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA) (Figura 10). A temperatura do injetor e o detetor foram mantidos a 250°C e 280°C, respetivamente. Utilizou-se hélio como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 mL/min e foi injetada 1 µL de amostra com um split ratio de 1:50. O forno foi programado para iniciar a uma temperatura de 50°C que foi mantida durante 1 minuto,

seguidamente a temperatura subiu até aos 150°C a uma velocidade de 50°C/min, e esta temperatura foi mantida durante 20 minutos, posteriormente a temperatura subiu até aos 190°C a uma velocidade de 1°C/min, e por fim a temperatura subiu até aos 220°C a uma velocidade de 2°C/min onde foi mantida durante 30 minutos, perfazendo um tempo total de 108 minutos. Os AG foram identificados por comparação dos tempos de retenção com misturas de padrões disponíveis comercialmente e por comparação com o perfil cromatográfico validado previamente no laboratório.

As áreas dos AG foram corrigidas utilizando os fatores de correção teóricos de Ackman (2002) e expressos em proporção do total de AG identificados em cada amostra.

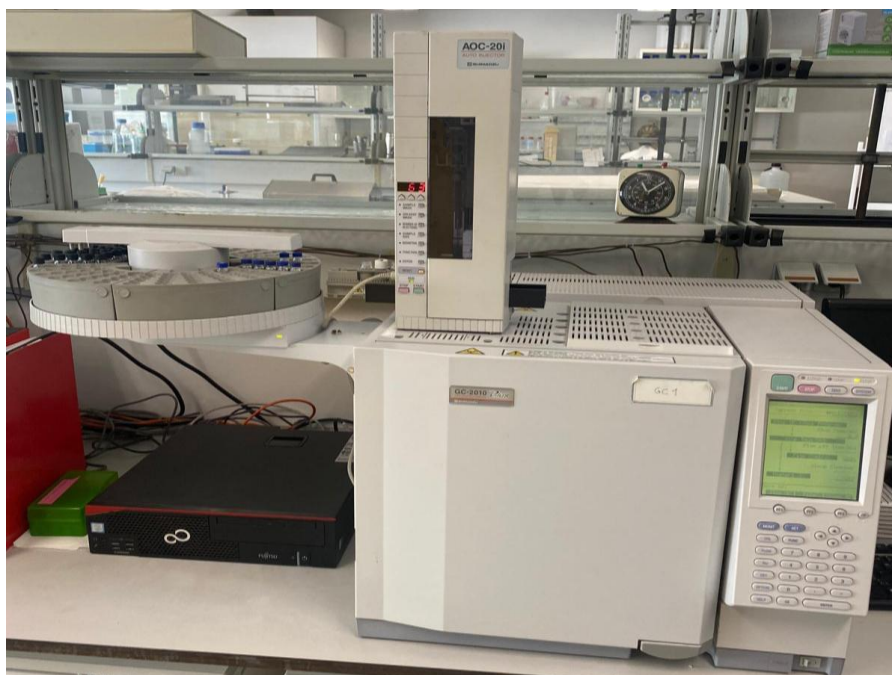


Figura 10 - Cromatógrafo Shimadzu 2010-plus

4.4 Cálculos e Análises estatísticas

A composição em AG foi também utilizada para estimar diversos indicadores de interesse nutricional.

O índice de aterogenicidade (IA) e de trombogenicidade (TI) foram calculados conforme (Ulbricht e Southgate 1991):

Índice de aterogenicidade (IA):

$$\frac{12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0}{\Sigma MUFA + \Sigma(n-6) + \Sigma(n-3)}$$

Índice de trombogenicidade (TI):

$$\frac{14:0 + 16:0 + 18:0}{0.5 \times \Sigma MUFA + 0.5 \times \Sigma(n-6) + 3 \times \Sigma(n-3) + \frac{\Sigma(n-3)}{\Sigma(n-6)}}$$

Para além destes, determinaram-se ainda:

Rácio P/S (AGPI/AGS), de acordo com o Department of Health (1994):

Rácio AGPI/AGS (P/S):

$$\frac{18:2n-6 + 18:3n-3}{14:0 + 16:0 + 18:0}$$

Rácio n-6/n-3:

$$\frac{\Sigma(n-6)}{\Sigma(n-3)}$$

Trans-Colesterémico: 18:1t9 + 18:1t10

Trans-Benéficos: 18:1t11 + CLA-c9t11

A estimativa da contribuição do consumo de leite para a ingestão de AG *trans* e AGS na população adulta portuguesa foi efetuada considerando a ingestão média diária de leite para adultos de 149,2 g/dia. a Ingestão energética diária média para adultos de 1962 kcal/dia (Lopes et al. 2018), e os fatores de conversão de lipídios de Sheppard (1992).

Quantidade de AG (g/dia):

$$AG (g/dia) = \frac{\text{Consumo de leite (g/dia)} \times \text{Teor de AG no leite (g/100g)}}{100}$$

Energia proveniente do AG (kcal/dia):

$$\text{Energia AG (kcal/dia)} = AG (g/dia) \times 9$$

Percentagem da ingestão energética diária (%):

$$\text{Contribuição AG (\%IED)} = \frac{\text{Energia AG (Kcal/da)}}{\text{Ingestão energética diária (kcal/dia)}} \times 100$$

A análise estatística foi conduzida com o SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), recorrendo ao procedimento proc mixed e considerando a marca do leite como fator fixo. As comparações múltiplas de Tukey permitiram detetar diferenças significativas, e avaliou-se também a heterogeneidade de variâncias entre tratamentos, ajustando o modelo sempre que necessário. Foram tidas em conta diferenças para $P < 0,05$ e tendências para $P < 0,10$.

Foi realizada análise dos componentes principais com as proporções dos ácidos gordos presentes na gordura de leite utilizando o programa Jamovi v2.3.2 (2025) e o módulo snowCluster v7.5.4. (Seol, 2025).

5. RESULTADOS

5.1 Comparação do perfil de ácidos gordos do leite de vaca de diferentes marcas

A composição em AG do leite de vaca em função da marca é reportada na Tabela 5. Os ácidos gordos saturados mais abundantes na gordura do leite foram o 16:0 que variou significativamente ($P < 0,001$) entre marcas, sendo o valor mais baixo de 31% (Milbona) e o mais elevado de 35,43% (Pingo Doce). O 14:0 variou significativamente entre marcas apresentando valores entre 11,41% (Pingo Doce) e 12,12% (Nova Açores), no entanto, as marcas Agro, Gresso e Mimosa não diferiram de nenhuma das outras. O 18:0 registou o valor mais elevado no Milbona (9,98%) contrastando com os mais baixos nas marcas Continente, Pingo Doce, Mimosa e Agro (8,84%, 8,77%, 9,00% e 9,01%, respetivamente) (Tabela 5).

O perfil em ácidos gordos ramificados também variou significativamente entre marcas, assim como o perfil em ácidos gordos monoinsaturados de cadeia *cis* ($P < 0,001$), com exceção do 12:1c9 ($P = 0,180$). Entre os monoinsaturados *cis*, o 18:1c9 foi mais abundante na gordura de leite, apresentando o valor mais elevado nos leites Terra Nostra (20,23%) e Agro (19,94%) e o mais baixo no leite Pingo Doce (18,85%) ($p < 0,001$), sendo que os outros leites apresentaram valores intermédios e não significativos entre si.

O perfil dos isómeros *trans* na gordura de leite variou significativamente entre marcas ($P < 0,001$), sendo o 18:1t11 e o 18:1t10 os mais abundantes. O 18:1t11 apresentou valores significativamente superiores ($P < 0,001$) no leite Milbona (1,17%), seguido do Terra Nostra (1,06%), e Nova Açores (0,94%) enquanto as restantes marcas não diferiram entre si e apresentaram uma proporção média de 0,73%. O CLA-c9t11 seguiu a mesma tendência, com teores mais elevados no Milbona (0,58%) e na Terra Nostra (0,55%), contrastando com os valores mínimos de (0,36%) registados no Agro, Gresso e Mimosa.

Tabela 5 - Composição de ácidos gordos (g /100g total ácidos gordos) do leite de vaca das diferentes marcas analisadas: (média ± erro padrão da média).

Ácidos gordos	Agro	Continente	Grosso	Milbona	Mimosa	Nova Açores	Pingo Doce	Terra Nostra	P value
Saturados									
4:0	1,56 ± 0,149	1,42 ± 0,149	1,67 ± 0,165	1,75 ± 0,137	1,63 ± 0,156	1,66 ± 0,175	1,46 ± 0,187	1,61 ± 0,143	0,807
6:0	1,71 ± 0,080	1,64 ± 0,080	1,73 ± 0,088	1,87 ± 0,074	1,75 ± 0,084	1,83 ± 0,094	1,67 ± 0,100	1,69 ± 0,077	0,477
8:0	1,27 ^{ab} ± 0,028	1,25 ^b ± 0,028	1,27 ^{ab} ± 0,031	1,37 ^a ± 0,026	1,28 ^{ab} ± 0,029	1,33 ^{ab} ± 0,033	1,25 ^{ab} ± 0,035	1,28 ^{ab} ± 0,027	0,028
10:0	3,15 ^{ab} ± 0,042	3,11 ^b ± 0,042	3,14 ^{ab} ± 0,047	3,29 ^a ± 0,039	3,14 ^{ab} ± 0,044	3,18 ^{ab} ± 0,049	3,12 ^{ab} ± 0,053	3,12 ^{ab} ± 0,040	0,047
11:0 +10:1	0,39 ± 0,008	0,37 ± 0,008	0,38 ± 0,009	0,39 ± 0,008	0,39 ± 0,009	0,39 ± 0,010	0,37 ± 0,010	0,37 ± 0,008	0,374
12:0	3,80 ^b ± 0,046	3,72 ^b ± 0,046	3,75 ^b ± 0,050	4,10 ^a ± 0,042	3,78 ^b ± 0,048	3,90 ^{ab} ± 0,053	3,70 ^b ± 0,057	4,03 ^a ± 0,044	<0,001
13:0	0,12 ^b ± 0,004	0,13 ^{ab} ± 0,004	0,12 ^b ± 0,004	0,10 ^c ± 0,003	0,12 ^b ± 0,004	0,09 ^c ± 0,004	0,14 ^a ± 0,004	0,09 ^c ± 0,003	<0,001
14:0	11,76 ^{ab} ± 0,088	11,54 ^b ± 0,088	11,75 ^{ab} ± 0,097	12,05 ^a ± 0,081	11,77 ^{ab} ± 0,092	12,12 ^a ± 0,103	11,41 ^b ± 0,110	12,03 ^a ± 0,084	<0,001
15:0	1,14 ^{bc} ± 0,014	1,17 ^{ab} ± 0,014	1,13 ^{bc} ± 0,015	1,03 ^d ± 0,013	1,10 ^c ± 0,015	1,03 ^d ± 0,016	1,24 ^a ± 0,017	0,97 ^d ± 0,013	<0,001
16:0	33,78 ^{bc} ± 0,288	34,76 ^{ab} ± 0,288	33,88 ^{bc} ± 0,318	31,39 ^e ± 0,265	33,98 ^{abc} ± 0,302	33,10 ^{cd} ± 0,337	35,43 ^a ± 0,361	31,94 ^{de} ± 0,275	<0,001
17:0	0,50 ^a ± 0,006	0,50 ^a ± 0,006	0,50 ^a ± 0,006	0,47 ^{bc} ± 0,005	0,50 ^a ± 0,006	0,46 ^c ± 0,007	0,49 ^{ab} ± 0,007	0,46 ^c ± 0,005	<0,001
18:0	9,01 ^c ± 0,104	8,84 ^c ± 0,104	9,29 ^{bc} ± 0,115	9,98 ^a ± 0,095	9,00 ^c ± 0,109	9,81 ^{ab} ± 0,122	8,77 ^c ± 0,130	9,61 ^{ab} ± 0,099	<0,001
20:0	0,10 ^{ab} ± 0,003	0,10 ^{ab} ± 0,003	0,11 ^{ab} ± 0,003	0,11 ^a ± 0,003	0,11 ^{ab} ± 0,003	0,12 ^a ± 0,003	0,10 ^b ± 0,004	0,11 ^a ± 0,003	0,000
Ramificados									
i-14:0	0,09 ^{ab} ± 0,003	0,07 ^d ± 0,003	0,10 ^a ± 0,003	0,09 ^{ab} ± 0,003	0,09 ^{ab} ± 0,003	0,08 ^{bc} ± 0,003	0,07 ^{cd} ± 0,004	0,08 ^{bc} ± 0,003	<0,001
i-15:0	0,21 ^a ± 0,004	0,19 ^c ± 0,004	0,21 ^{ab} ± 0,004	0,20 ^{abc} ± 0,003	0,21 ^{abc} ± 0,004	0,22 ^a ± 0,004	0,17 ^d ± 0,005	0,19 ^{bc} ± 0,004	<0,001
a-15:0	0,47 ^a ± 0,005	0,43 ^b ± 0,005	0,47 ^a ± 0,005	0,47 ^a ± 0,004	0,46 ^a ± 0,005	0,46 ^a ± 0,006	0,41 ^b ± 0,006	0,46 ^a ± 0,005	<0,001
i-16:0	0,25 ^a ± 0,005	0,20 ^c ± 0,005	0,25 ^a ± 0,006	0,23 ^{ab} ± 0,005	0,24 ^{ab} ± 0,005	0,23 ^{ab} ± 0,006	0,18 ^c ± 0,006	0,22 ^b ± 0,005	<0,001
i-17:0	0,31 ^{abc} ± 0,005	0,30 ^{cd} ± 0,005	0,32 ^{abc} ± 0,005	0,32 ^a ± 0,004	0,30 ^{bcd} ± 0,005	0,32 ^{ab} ± 0,005	0,28 ^d ± 0,006	0,33 ^a ± 0,004	<0,001
a-17:0	0,48 ^a ± 0,005	0,44 ^{cd} ± 0,005	0,48 ^{ab} ± 0,005	0,44 ^d ± 0,005	0,48 ^{ab} ± 0,005	0,43 ^d ± 0,006	0,43 ^d ± 0,006	0,46 ^{bc} ± 0,005	<0,001
AGMI-cis									
12:1c9	0,09 ± 0,003	0,09 ± 0,003	0,09 ± 0,004	0,10 ± 0,003	0,10 ± 0,004	0,09 ± 0,004	0,09 ± 0,004	0,10 ± 0,003	0,180
14:1c9	1,10 ^{ab} ± 0,015	1,02 ^{cd} ± 0,015	1,06 ^{bcd} ± 0,017	1,11 ^{ab} ± 0,014	1,11 ^{ab} ± 0,016	1,10 ^{abc} ± 0,018	1,01 ^d ± 0,019	1,15 ^a ± 0,015	<0,001
16:1c7	0,18 ^c ± 0,003	0,18 ^c ± 0,003	0,18 ^{bc} ± 0,004	0,20 ^{ab} ± 0,002	0,18 ^c ± 0,003	0,19 ^{abc} ± 0,004	0,18 ^c ± 0,004	0,20 ^a ± 0,003	<0,001

16:1c9	1,74 ^a ± 0,021	1,68 ^a ± 0,021	1,66 ^a ± 0,023	1,47 ^b ± 0,019	1,74 ^a ± 0,022	1,51 ^b ± 0,024	1,73 ^a ± 0,026	1,55 ^b ± 0,020	<0,001
17:1c9	0,21 ^a ± 0,004	0,20 ^{ab} ± 0,004	0,20 ^{ab} ± 0,004	0,19 ^b ± 0,003	0,21 ^a ± 0,004	0,19 ^b ± 0,004	0,20 ^{ab} ± 0,005	0,19 ^b ± 0,004	<0,001
18:1c9	19,94 ^a ± 0,157	19,24 ^{bc} ± 0,157	19,73 ^{ab} ± 0,174	19,87 ^{ab} ± 0,144	19,86 ^{ab} ± 0,165	19,52 ^{abc} ± 0,184	18,85 ^c ± 0,197	20,23 ^a ± 0,150	<0,001
18:1c11	0,77 ^{ab} ± 0,014	0,75 ^b ± 0,014	0,75 ^{ab} ± 0,015	0,57 ^c ± 0,013	0,76 ^{ab} ± 0,014	0,60 ^c ± 0,016	0,82 ^a ± 0,017	0,61 ^c ± 0,013	<0,001
18:1c12	0,27 ^{bc} ± 0,006	0,31 ^a ± 0,006	0,27 ^{bc} ± 0,007	0,22 ^E ± 0,006	0,26 ^{cd} ± 0,006	0,21 ^E ± 0,007	0,30 ^{ab} ± 0,008	0,23 ^{dE} ± 0,006	<0,001
18:1c13	0,06 ^{ab} ± 0,003	0,05 ^b ± 0,003	0,06 ^{ab} ± 0,004	0,07 ^{ab} ± 0,003	0,06 ^{ab} ± 0,003	0,06 ^{ab} ± 0,004	0,06 ^{ab} ± 0,004	0,07 ^a ± 0,003	0,006
18:1c15	0,04 ^d ± 0,004	0,06 ^{cd} ± 0,004	0,05 ^d ± 0,004	0,09 ^a ± 0,003	0,06 ^{bcd} ± 0,004	0,08 ^{ab} ± 0,004	0,06 ^{bcd} ± 0,005	0,07 ^{bc} ± 0,004	<0,001
20:1c11	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,017
AGMI-trans									
18:1t6/7/8	0,28 ^{ab} ± 0,005	0,28 ^{ab} ± 0,005	0,27 ^{bc} ± 0,005	0,27 ^b ± 0,004	0,27 ^{bc} ± 0,005	0,24 ^c ± 0,006	0,25 ^c ± 0,006	0,30 ^a ± 0,005	<0,001
18:1t9	0,23 ^{ab} ± 0,004	0,23 ^{ab} ± 0,004	0,22 ^{ab} ± 0,004	0,22 ^b ± 0,004	0,22 ^{ab} ± 0,004	0,20 ^c ± 0,005	0,21 ^{bc} ± 0,005	0,24 ^a ± 0,004	<0,001
18:1t10	0,47 ^C ± 0,015	0,55 ^b ± 0,015	0,45 ^{cd} ± 0,017	0,48 ^{bc} ± 0,014	0,45 ^c ± 0,016	0,38 ^d ± 0,018	0,48 ^{bc} ± 0,019	0,65 ^a ± 0,015	<0,001
18:1t11	0,73 ^d ± 0,022	0,78 ^d ± 0,022	0,72 ^d ± 0,024	1,17 ^a ± 0,020	0,72 ^d ± 0,023	0,94 ^c ± 0,026	0,72 ^d ± 0,027	1,06 ^b ± 0,021	<0,001
18:1t12	0,42 ^b ± 0,009	0,47 ^a ± 0,009	0,42 ^{bc} ± 0,009	0,42 ^b ± 0,008	0,41 ^{bc} ± 0,009	0,38 ^c ± 0,010	0,44 ^{ab} ± 0,011	0,44 ^{ab} ± 0,008	<0,001
18:1t15	0,28 ^{cd} ± 0,008	0,31 ^{abc} ± 0,008	0,27 ^{dE} ± 0,009	0,34 ^a ± 0,007	0,25 ^E ± 0,008	0,34 ^{ab} ± 0,009	0,30 ^{bcd} ± 0,009	0,33 ^{ab} ± 0,008	<0,001
18:1t16/c14	0,25 ^F ± 0,005	0,28 ^{cd} ± 0,005	0,25 ^{EF} ± 0,006	0,34 ^a ± 0,005	0,24 ^F ± 0,006	0,31 ^{bc} ± 0,006	0,27 ^{dE} ± 0,007	0,32 ^b ± 0,005	<0,001
Outros - trans									
CLA-c9t11	0,37 ^C ± 0,012	0,40 ^c ± 0,012	0,36 ^c ± 0,013	0,58 ^a ± 0,011	0,36 ^c ± 0,012	0,46 ^b ± 0,014	0,37 ^c ± 0,015	0,55 ^a ± 0,011	<0,001
AGPI									
18:2n-6	1,90 ^{Cd} ± 0,023	2,33 ^a ± 0,023	1,90 ^{cd} ± 0,025	1,98 ^{bc} ± 0,021	1,88 ^{cd} ± 0,024	1,80 ^d ± 0,027	2,33 ^a ± 0,029	2,07 ^b ± 0,022	<0,001
18:3n-3	0,26 ^d ± 0,013	0,31 ^{bcd} ± 0,013	0,28 ^{cd} ± 0,014	0,38 ^a ± 0,012	0,27 ^d ± 0,014	0,39 ^a ± 0,015	0,34 ^{abc} ± 0,016	0,35 ^{ab} ± 0,012	<0,001
20:3n-6	0,09 ^b ± 0,006	0,12 ^a ± 0,006	0,08 ^b ± 0,007	0,11 ^{ab} ± 0,006	0,09 ^{ab} ± 0,006	0,10 ^{ab} ± 0,007	0,10 ^{ab} ± 0,008	0,09 ^b ± 0,006	0,001
20:4n-6	0,14 ^a ± 0,003	0,14 ^a ± 0,003	0,14 ^a ± 0,003	0,12 ^c ± 0,002	0,13 ^{ab} ± 0,003	0,12 ^c ± 0,003	0,14 ^a ± 0,003	0,12 ^{bc} ± 0,003	<0,001

Abreviaturas: AGMI, ácidos gordos monoinsaturados; AGPI, ácidos gordos polinsaturados. Médias na mesma linha que apresentem letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05).

De acordo com a Tabela 6, a proporção de SFA variou significativamente entre marcas, sendo que a proporção mínima (67,31%) foi detetada na gordura de leite da marca Terra Nostra e as proporções máximas de 69,16% e 69,01% nos leites Pingo Doce e Nova Açores, respetivamente, com valores intermédios nas restantes marcas ($P < 0,001$). Nos AGR, os valores oscilaram entre 1,55% no leite Pingo Doce e 1,82% no leite Agro, verificando-se também diferenças significativas entre marcas ($P < 0,001$).

Relativamente aos AGMI, as proporções mais elevadas foram registadas no leite Terra Nostra (27,77%), contrastando com o valor mínimo no Pingo Doce (26,01%) ($p < 0,001$). Nos *cis*-AGPI, as maiores proporções foram encontradas nos leites das marcas Agro (24,46%) e Terra Nostra (24,45%), enquanto o mais baixo ocorreu no Pingo Doce (23,33%). Já nos *trans*-AGMI, destacaram-se os valores superiores nos leites Terra Nostra (3,33%) e Milbona (3,25%), contrastando com os mínimos no Mimosa (2,56%) e Gresso (2,60%) ($P < 0,001$).

Nos AGPI, observaram-se proporções mais elevadas nos leites Continente (3,30%) e Pingo Doce (3,28%), enquanto os valores mais baixos foram registados nos leites Mimosa (2,74%) e Agro (2,76%) ($P < 0,001$). O rácio AGPI/AGS acompanhou estas diferenças, sendo mais alto nos leites das marcas Continente, Milbona, Pingo Doce e Terra Nostra (0,05%) e mais baixo nas restantes marcas (0,04%).

Os AGPI ómega-6 variaram de 2,01% do total de AG nos leites da marca Nova Açores a 2,59% da marca Continente e 2,57% do Pingo Doce. Já os ómega-3 apresentaram valores mais elevados no leite Milbona (0,38%) e Nova Açores (0,39%), contrastando com os mais baixos nos leites Agro (0,26%) e Mimosa 0,27% ($P < 0,001$).

A proporção total de AG *trans* foi significativamente superior nos leites Terra Nostra (3,87%) e Milbona (3,82%), enquanto os valores mínimos foram observados nos leites Mimosa (2,56%) e Gresso (2,6%) ($P < 0,001$).

Quanto aos rácios nutricionais, o rácio n-6/n-3 variou significativamente ($P < 0,001$) entre marcas com valor mínimo de 5,14% encontrado no leite da marca Nova Açores e os máximos de 8,63% e 8,60% nos leites do Continente e Agro, respetivamente. O índice de aterogenicidade foi inferior no leite Terra Nostra (2,77%), e mais elevado no leite Nova Açores (2,97%), não havendo diferenças entre as outras marcas.

Por fim, a fração *trans*-colesterolémica foi mais elevada nos leites Terra Nostra (0,88%), contrastando com o valor mais baixo no Nova Açores (0,57%). Já os *trans*-benéficos foram superiores ($P < 0,001$) no leite da marca Milbona (1,74%), seguido de Terra Nostra (1,61%), e Nova Açores (1,4), enquanto os valores mais baixos foram verificados nos restantes leites (em média 1,11% do total de AG).

Tabela 6 - Somatórios de AG (g/100g total AG), índices e rúcios nutricionais no leite de vaca de acordo com a marca. (médica ± erro padrão da média).

	<i>Agro</i>	<i>Continente</i>	<i>Grosso</i>	<i>Milbona</i>	<i>Mimosa</i>	<i>Nova Açores</i>	<i>Pingo Doce</i>	<i>Terra Nostra</i>	<i>P value</i>
AGS	68,31 ^{ab} ± 0,215	68,55 ^{ab} ± 0,215	68,72 ^{ab} ± 0,238	67,92 ^{bc} ± 0,198	68,55 ^{ab} ± 0,226	69,01 ^a ± 0,252	69,16 ^a ± 0,270	67,31 ^c ± 0,206	<0,001
AGR	1,82 ^a ± 0,017	1,62 ^d ± 0,017	1,82 ^{ab} ± 0,019	1,75 ^{bc} ± 0,016	1,78 ^{abc} ± 0,018	1,74 ^{abc} ± 0,020	1,55 ^d ± 0,021	1,74 ^c ± 0,016	<0,001
AGMI	27,11 ^{ab} ± 0,189	26,53 ^{bc} ± 0,189	26,69 ^{bc} ± 0,209	27,18 ^{ab} ± 0,174	26,93 ^{bc} ± 0,199	26,37 ^{bc} ± 0,222	26,01 ^c ± 0,237	27,77 ^a ± 0,181	<0,001
<i>cis</i> -AGMI	24,46 ^a ± 0,165	23,62 ^c ± 0,165	24,10 ^{abc} ± 0,182	23,94 ^{abc} ± 0,151	24,38 ^{ab} ± 0,173	23,59 ^{bc} ± 0,193	23,33 ^c ± 0,206	24,45 ^a ± 0,158	<0,001
<i>trans</i> -AGMI	2,65 ^c ± 0,048	2,91 ^b ± 0,048	2,60 ^c ± 0,053	3,25 ^a ± 0,044	2,56 ^c ± 0,051	2,78 ^{bc} ± 0,057	2,68 ^{bc} ± 0,060	3,33 ^a ± 0,046	<0,001
AGPI	2,76 ^b ± 0,035	3,30 ^a ± 0,035	2,77 ^b ± 0,038	3,16 ^a ± 0,032	2,74 ^b ± 0,036	2,87 ^b ± 0,041	3,28 ^a ± 0,044	3,17 ^a ± 0,033	<0,001
shift t10	0,65 ^{ab} ± 0,020	0,71 ^a ± 0,020	0,62 ^{ab} ± 0,022	0,42 ^c ± 0,018	0,63 ^{ab} ± 0,021	0,40 ^c ± 0,023	0,67 ^{ab} ± 0,025	0,61 ^b ± 0,019	<0,001
AGPI/AGS	0,04 ^b ± 0,001	0,05 ^a ± 0,001	0,04 ^b ± 0,001	0,05 ^a ± 0,001	0,04 ^b ± 0,001	0,04 ^b ± 0,001	0,05 ^a ± 0,001	0,05 ^a ± 0,001	<0,001
ómega-6	2,13 ^{Cd} ± 0,025	2,59 ^a ± 0,025	2,12 ^{cd} ± 0,028	2,20 ^{bc} ± 0,023	2,11 ^{cd} ± 0,026	2,01 ^d ± 0,029	2,57 ^a ± 0,031	2,27 ^b ± 0,024	<0,001
ómega-3	0,26 ^d ± 0,013	0,31 ^{bcd} ± 0,013	0,29 ^{cd} ± 0,014	0,38 ^a ± 0,012	0,27 ^d ± 0,014	0,39 ^a ± 0,015	0,34 ^{abc} ± 0,016	0,35 ^{ab} ± 0,012	<0,001
<i>trans</i> -Total	3,02 ^{cd} ± 0,056	3,31 ^b ± 0,056	2,96 ^d ± 0,062	3,82 ^a ± 0,052	2,92 ^d ± 0,059	3,24 ^{bc} ± 0,066	3,05 ^{bcd} ± 0,071	3,87 ^a ± 0,054	<0,001
Rúcios e outros valores									
n-6/n-3	8,60 ^a ± 0,338	8,63 ^a ± 0,338	7,46 ^{ab} ± 0,373	5,93 ^{cd} ± 0,310	8,06 ^{ab} ± 0,354	5,14 ^d ± 0,396	7,56 ^{abc} ± 0,423	6,59 ^{bcd} ± 0,323	<0,001
aterogenicidade	2,87 ^{ab} ± 0,035	2,88 ^{ab} ± 0,035	2,91 ^{ab} ± 0,039	2,82 ^{ab} ± 0,032	2,90 ^{ab} ± 0,037	2,97 ^a ± 0,041	2,93 ^{ab} ± 0,044	2,77 ^b ± 0,034	0,007
trombogenicidade	3,52 ^a ± 0,041	3,54 ^a ± 0,041	3,57 ^a ± 0,045	3,34 ^b ± 0,037	3,55 ^a ± 0,043	3,53 ^a ± 0,048	3,60 ^a ± 0,051	3,30 ^b ± 0,039	<0,001
<i>trans</i> -colesterolémico	0,70 ^c ± 0,017	0,78 ^b ± 0,017	0,67 ^c ± 0,019	0,70 ^c ± 0,016	0,68 ^c ± 0,018	0,57 ^d ± 0,020	0,69 ^{bc} ± 0,022	0,88 ^a ± 0,017	<0,001
<i>trans</i> -benéficos	1,10 ^d ± 0,032	1,18 ^d ± 0,032	1,08 ^d ± 0,035	1,74 ^a ± 0,029	1,08 ^d ± 0,033	1,40 ^c ± 0,037	1,09 ^d ± 0,040	1,61 ^b ± 0,031	<0,001

Abreviaturas: AGS, AG saturados; AGR, AG de cadeia ramificadas; AGMI, AG monoinsaturados; *cis*-AGMI, AG configuração *cis*; *trans*-AGMI, AG monoinsaturados em configuração *trans*; AGPI, AG polinsaturados; Shift-t10, rácio entre 18:1t10/18:1t11; AGPI/AGS, rácio entre AG polinsaturados e saturados; n-6/n-3, rácio entre ómega-6 e ómega-3

5.2 Comparação do perfil de ácidos gordos do leite de vaca produzido nos Açores e em Portugal Continental

A Tabela 7 mostra que a proporção de diversos ácidos gordos varia com a origem do leite de vaca, sendo que dos AG saturados, o 12:0, 14:0, 17:0, 18:0 e 20:0 apresentaram valores mais elevados no leite dos Açores face ao Continente (11,66%), enquanto o 16:0, o AGS em maior proporção na gordura de leite, apresentou valores superiores no leite do Continente (34,30%) em comparação com os Açores (32,00%) ($P < 0,001$).

Entre os monoinsaturados *cis*, o C18:1*c*9 foi mais elevado nos Açores (19,92%) do que no Continente (19,56%) ($p = 0,013$). Nos isómeros *trans*, o 18:1*t*11 apresentou valores significativamente superiores no leite dos Açores (1,07%) em relação ao Continente (0,73%) ($P < 0,001$). O CLA-*c*9*t*11 seguiu a mesma tendência, com teor mais alto nos Açores (0,54%) face ao Continente (0,37%) ($P < 0,001$).

Nos polinsaturados, o 18:2*n*-6 foi ligeiramente superior no leite do Continente (2,06%) comparado com os Açores (1,97%) ($P = 0,035$). Já o 18:3*n*-3 foi mais elevado nos Açores (0,38%) relativamente ao Continente (0,29%) ($P < 0,001$) (Tabela 7).

A análise de componentes principais (Figura 12) evidenciou uma separação clara entre os leites provenientes dos Açores e do Continente na Componente 1, que explica 30,2% da variabilidade. As amostras dos Açores do lado direito agruparam-se em associação com 18:1*t*11, CLA-*c*9*t*11, C18:3*n*-3 e outros insaturados benéficos. Em contraste, as amostras do Continente do lado esquerdo apresentaram maior proximidade com 16:0, 18:2*n*-6 e outros saturados.

20:0	0.11 ± 0.0016	0.10 ± 0.001	<0,001
Ramificados			
i-14:0	0,08 ± 0,003	0,08 ± 0,002	0,787
i-15:0	0,20 ± 0,003	0,20 ± 0,002	0,326
a-15:0	0,46 ± 0,004	0,45 ± 0,003	0,093
i-16:0	0,22 ± 0,004	0,22 ± 0,004	0,719
i-17:0	0,32 ± 0,003	0,30 ± 0,002 ^b	<0,001
a-17:0	0,044 ± 0,004	0,046 ^a ± 0,003	<0,001
AGMI-cis			
12:1c9	0,01 ± 0,002	0,093 ± 0,001	0,095
14:1c9	1,11 ± 0,01	1,063 ± 0,008	<0,001
16:1c7	0,20 ± 0,001	0,18 ± 0,001	<0,001
16:1c9	1,51 ± 0,013	1,71 ± 0,010	<0,001
17:1c9	0,19 ± 0,002	0,20 ± 0,001	<0,001
18:1c9	19,92 ± 0,106	19,56 ± 0,088	0,013
18:1c11	0,60 ± 0,008	0,77 ± 0,007	<0,001
18:1c12	0,22 ^b ± 0,004	0,28 ± 0,004	<0,001
18:1c13	0,07 ± 0,002	0,06 ± 0,001	0,010
18:1c15	0,08 ± 0,003	0,05 ± 0,002	<0,001
20:1c11	0,042 ± 0,001	0,04 ± 0,001	0,103
AGMI-trans			
18:1t6/7/8	0,27 ± 0,004	0,26 ± 0,003	0,339
18:1t9	0,22 ± 0,002	0,22 ± 0,002	0,120
18:1t10	0,52 ± 0,015	0,48 ± 0,012	0,080
18:1t11	1,07 ± 0,016	0,73 ± 0,013	<0,001
18:1t12	0,42 ± 0,006	0,43 ± 0,005	0,115
18:1t15	0,34 ± 0,005	0,28 ± 0,004	<0,001
18:1t16/c14	0,32 ± 0,004	0,26 ± 0,003	<0,001
Outros -trans			
CLA-c9t11	0,54 ± 0,009	0,37 ± 0,007	<0,001
AGPI			
18:2n-6	1,97 ± 0,033	2,06 ± 0,028	0,035
18:3n-3	0,38 ± 0,008	0,29 ± 0,007	<0,001
20:3n-6	0,097 ± 0,004	0,098 ± 0,003	0,887
20:4n-6	0,12 ± 0,002	0,14 ± 0,001	<0,001

Abreviaturas: AGMI, ácidos gordos monoinsaturados; AGPI, ácidos gordos polinsaturados, EPM, erro padrão da média. (P<0,001).

Segundo a Tabela 8, o teor de AGS foi mais elevado no leite do Continente (68,61%) em comparação com os Açores (67,97%) (P < 0,001). Pelo contrário, o teor de AGMI foi superior nos Açores (27,20%) relativamente ao Continente (26,70%) (P = 0,004), diferença que se

refletiu também nos *trans*-MUFA e no total de AG *trans*, mais elevados nos Açores (3,16% e 3,7%, respetivamente) comparados com o Continente (2,70% e 3,06%, respetivamente) ($P = 0,016$). Nos polinsaturados, observou-se maior valor de AGPI no leite dos Açores (3,09%) em comparação com o Continente (2,96%) ($P < 0,001$). Em termos de classes, o ómega-3 foi significativamente superior nos Açores (0,37%) contra do Continente (0,29%) ($P < 0,001$), enquanto o ómega-6 foi mais alto no Continente (2,30%) que dos Açores (2,19) ($P = 0,015$).

O rácio n-6/n-3 foi mais favorável nos Açores (5,98) do que no Continente (8,12) ($P < 0,001$). O índice de trombogenicidade foi mais baixo no leite dos Açores (3,37) comparado com o Continente (3,55) ($P < 0,001$), também a proporção de AG *trans*-benéficos apresentou valores muito superiores nos Açores (1,61) relativamente ao Continente (1,11) ($p < 0,001$) (Tabela 9). Não se verificaram diferenças nos AG *trans*-colesterémicos ($P=0,197$).

Tabela 8 - Somatórios de AG (g/100g total AG), índices e rácios nutricionais no leite de vaca dos Açores e Portugal Continental (média \pm erro padrão da média).

	Açores	Continente	P value
AGS	67,97 \pm 0,14	68,61 \pm 0,12	<0,001
AGR	1,74 \pm 0,018	1,73 \pm 0,014	0,472
AGMI	27,20 \pm 0,13	26,70 \pm 0,11	0,004
<i>cis</i> -AGMI	24,04 \pm 0,11	24,18 \pm 0,095	0,887
<i>trans</i> -AGMI	3,16 \pm 0,04	2,70 \pm 0,033	0,016
AGPI	3,09 \pm 0,043	2,96 \pm 0,036	<0,001
Shift- t_{10}	0,49 \pm 0,016	0,66 \pm 0,013	<0,001
AGPI/AGS	0,046 \pm 0,001	0,044 \pm 0,001	0,007
Ómega-6	2,19 \pm 0,036	2,30 \pm 0,03	0,015
Ómega-3	0,37 \pm 0,008	0,29 \pm 0,007	<0,001
<i>trans</i> -Total	3,70 \pm 0,047	3,06 \pm 0,039	<0,001
Rácios e outros valores			
n-6/n-3	5,98 \pm 0,21	8,12 \pm 0,17	<0,001
Aterogenicidade	2,84 \pm 0,021	2,90 \pm 0,018	0,042
Trombogenicidade	3,37 \pm 0,026	3,55 \pm 0,020	<0,001
<i>Trans</i> -Colesterémico	0,74 \pm 0,018	0,71 \pm 0,015	0,197
<i>Trans</i> -benéficos	1,61 \pm 0,024	1,11 \pm 0,02	<0,001

Abreviaturas: AGS, AG saturados; AGR, ácidos gordos de cadeia ramificadas; AGMI, AG monoinsaturados; *cis*-AGMI, AG configuração *cis*; *trans*-AGMI, AG monoinsaturados em configuração *trans*; AGPI, AG polinsaturados; Shift- t_{10} , rácio entre 18:1 t_{10} /18:1 t_{11} ; AGPI/AGS, rácio entre AG polinsaturados e saturados; n-6/n-3, rácio entre ómega 6 e ómega-3.

5.3 Estimativa da ingestão diária de ácidos gordos

A Tabela 9 apresenta a estimativa média da ingestão diária das diversas classes de ácidos gordos pelo consumo do leite de vaca inteiro. Os valores foram calculados considerando, para um adulto, um consumo médio diário de leite de 149,2 g e uma ingestão energética diária média de 1962 kcal/dia, segundo o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física IAN-AF (Lopes et al., 2018). Os resultados mostram que a ingestão diária estimada de ácidos gordos saturados e *trans* é bem inferior aos limites máximos recomendados em percentagem da ingestão diária de energia (1,67% IED e 0,07% IED, respetivamente). Também a ingestão de ácidos gordos polinsaturados, ómega-6 e ómega-3 é inferior aos limites mínimos recomendados, contribuindo apenas com 1,2%, 2,4% e 2% para as doses diárias mínimas recomendadas, respetivamente.

Tabela 9 – Estimativa¹ da ingestão de ácidos gordos proveniente do leite de vaca produzido em Portugal.

	Média	Erro-padrão	DDR ²
Ingestão em g/dia			
Total AG	5,34	0,000	
AG Saturados	3,65	0,005	
AG <i>trans</i>	0,15	0,002	
AG polinsaturados	0,16	0,002	
omega-6	0,12	0,001	
omega-3	0,02	0,000	
Ingestão em % IED³			
Total AG	2,45	0,000	20-35%
AG Saturados	1,67	0,002	<10
AG <i>trans</i>	0,07	0,001	<1%
AG polinsaturados	0,07	0,001	6-11%
omega-6	0,06	0,001	2,5-9%
omega-3	0,01	0,000	0,5-2%

¹Valores calculados considerando para um adulto um consumo médio de 149,2 g de leite/dia e uma ingestão energética diária (IED) de referência de 1962 kcal/dia segundo Lopes et al. (2018).

²DDR – Doses diárias recomendadas (FAO, 2010).

³IED – Ingestão de AG em percentagem da ingestão energética diária média.

6. DISCUSSÃO

6.1 Composição em ácidos gordos do leite de vaca inteiro comercializado no mercado português

Em relação à composição em AG no leite de vaca, os resultados obtidos neste estudo confirmam o perfil lipídico já reportado na Tabela da Composição de alimentos (Instituto

Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge 2023), evidenciando o predomínio dos AGS, seguidos pelos AGMI e em menores proporções pelo AGPI e AG *trans*. A comparação direta evidencia que as proporções de AG encontradas estão em consonância com os valores descritos na base de dados nacional, o que reforça a representatividade da amostra analisada face ao mercado português. A partir desta caracterização global, discutem-se em seguida as diferenças observadas para cada grupo de AG.

Apesar da amplitude de variação ser reduzida, os teores de AGS foram mais elevados nas marcas Pingo Doce e Nova Açores, enquanto a Terra Nostra apresentou os valores mais baixos. Ainda assim, todos os resultados obtidos enquadram-se nos valores normalmente reportados para o leite de vaca 65-70% (Jensen 2002), o valor encontrado na Terra Nostra pode ser considerado mais favorável do ponto de vista nutricional, dada a associação entre o consumo de AGS e o risco cardiovascular (Mensink e Katan 1992). No que diz respeito aos AGCR, a marca Agro e Gresso se destacaram com maiores teores, enquanto, Continente e Pingo Doce registaram os mais baixos. Estas diferenças poderão estar relacionadas com o sistema de produção e alimentação dos animais, no entanto, neste trabalho não temos informação sobre o sistema de produção ou a dieta dos animais, uma vez que os leites foram adquiridos em superfícies comerciais. Mas, de acordo com Vlaeminck et al. (2006) e Fievez et al. (2012) dietas com maior proporção de concentrados favorecem bactérias amilolíticas, que produzem predominantemente ácidos anteiso, enquanto dietas baseadas em forragem promovem a síntese de iso por bactérias celulolíticas. Assim, a predominância relativa de anteiso pode ter contribuído para os valores mais altos observados nos leites de sistemas menos forrageiros, sem que isso contrarie os mecanismos descritos na literatura. Nos últimos anos, a importância desses AG tem recebido atenção especial, com estudos indicando que os AGCR podem trazer benefícios para a saúde humana (Goździk et al. 2023). Nos leites analisados neste estudo, apesar das diferenças entre marcas, a proporção total de AGCR encontra-se dentro dos valores encontrados para o leite de vaca (1,66-3,44% total AG) como revisto por Susana Alves (2020).

No grupo dos MUFA, a Terra Nostra destacou-se com maior proporção do total de AGMI e AGMI-*cis*, predominantemente ácido oleico, composto associado a efeitos cardioprotetores e anti-inflamatórios (Lordan e Zabetakis 2017; Lordan et al. 2018). Para os AGMI-*trans*, os teores mais elevados foram registados no Terra Nostra e no Milbona. Estes isómeros resultam da bioidrogenação ruminal, sendo o ácido vacénico o mais representativo. Ao contrário dos AG *trans* de origem industrial, os *trans* de origem ruminante podem exercer efeitos neutros ou até benéficos para a saúde, em particular pelo seu papel como precursores de CLA (Field et al. 2009; Brouwer et al. 2010). O presente estudo evidenciou diferenças marcantes entre marcas no teor de ácido vacénico (18:1 Δ 11) e de CLA-*cis*-9,*trans*-11. As

marcas Milbona e Terra Nostra apresentaram os valores mais elevados de ambos os AG, seguidas pela Nova Açores, com valores intermédios, enquanto as restantes marcas exibiram teores significativamente mais baixos. A variação entre marcas pode estar associada às diferenças na alimentação dos animais e nos sistemas de produção. É amplamente documentado que sistemas baseados em pastagem resultam em maior teor de vacénico e CLA no leite, devido à biohidrogenação incompleta dos ácidos linoleico (18:2n-6) e α -linolénico (18:3n-3) no rúmen (Lock e Bauman 2004; Rego et al. 2016). No caso da Terra Nostra, observou-se uma particularidade relevante: esta marca apresentou simultaneamente valores elevados de 18:1t10, de vacénico (18:1t11) e de CLA-c9,t11. Este perfil pode ser explicado pela diversidade de explorações fornecedoras e pela combinação de regimes alimentares: pastagem e suplementação com concentrados que favorecem tanto a via biohidrogenativa associada ao isómero t10 como a produção de t11 (Maia et al. 2007). Além disso, a elevada disponibilidade de vacénico contribui para o aumento do CLA através da ação da Δ 9-desaturase no tecido mamário (Griinari et al. 2000; Shingfield et al. 2010).

O *trans*-10 shift, que é calculado pelo rácio 18:1t10/18:1t11, quando superior a 1 está geralmente associado a dietas ricas em concentrados e pobres em pastagem. Segundo Alves et al. (2021), níveis elevados deste rácio refletem um desvio no metabolismo ruminal e estão ligados a uma menor qualidade nutricional da gordura, aproximando-se em parte dos efeitos dos AG *trans* de origem industrial, embora não existam evidências conclusivas do mesmo impacto negativo. Nos resultados deste estudo, marcas como Continente apresentaram valores mais elevados de shift-t10, enquanto Nova Açores e Milbona exibiram os mais baixos, o que pode indicar diferenças na alimentação animal e reforça a utilidade deste marcador como indicador do sistema de produção. De forma consistente com este resultado, os AG *trans* totais também apresentaram variação significativa entre marcas. Os maiores valores foram registados no Terra Nostra e Milbona, enquanto Mimosa e Gresso exibiram os mais baixos. Estes achados confirmam que a presença de *trans* no leite não é uniforme.

Já no grupo dos AGPI, a marca Continente e a Terra Nostra apresentaram as maiores proporções, refletindo-se também em rácios AGPI/AGS mais elevados, considerados mais favoráveis à saúde cardiovascular (FAO/WHO, 2010). Em contrapartida, os leites de vaca das marcas Agro, Gresso, Mimosa e Nova Açores registaram valores mais baixos. Dentro deste grupo, os AG ω -6 foram mais abundantes no Continente e no Pingo Doce, enquanto os ω -3 foram significativamente superiores no Nova Açores e no Milbona, resultando num rácio n-6/n-3 mais equilibrado nestas últimas marcas, sendo este perfil preferível do ponto de vista nutricional, dada a associação entre excesso de ω -6 e processos pró-inflamatórios (Simopoulos 2002).

As diferenças observadas entre marcas podem ser explicadas sobretudo por fatores ligados à produção animal: dietas com maior proporção de forragem promovem a síntese de ácido vacénico, CLA e ómega-3, enquanto dietas mais ricas em concentrados favorecem a deposição de ácido oleico e ómega-6 (Kalač e Samková 2010; Shingfield et al. 2013; Silva et al. 2019). Para além da alimentação, outros fatores como a raça, o estágio de lactação e a sazonalidade influenciam o perfil lipídico do leite, afetando simultaneamente os níveis de AGMI, *trans* e AGPI (Palmquist et al. 1993; Stoop et al. 2008; Stoop et al. 2009; Hanus et al. 2018). Assim, as diferenças entre marcas refletem menos o processamento industrial e mais as condições de produção, que determinam a composição final dos AG do leite.

6.2 Influência da origem geográfica na composição em ácidos gordos do leite de vaca

Globalmente as diferenças na composição em AG da gordura do leite inteiro entre as diversas marcas sugerem diferenças relevantes entre os leites Nova Açores, Terra Nostra e Milbona, originalmente dos Açores, comparativamente com os produzidos no continente, possivelmente devido às características únicas do sistema de produção de leite dos Açores. Assim, decidiu-se agrupar os leites pela sua origem geográfica: Açores (Terra Nostra, Nova Açores e Milbona) vs Portugal Continental (Mimosa, Agro, Gresso, Continente e Pingo Doce).

Na comparação entre regiões, o leite dos Açores apresentou um perfil lipídico globalmente mais equilibrado do que o do Continente, pois a proporção em AGS foi mais baixa. O leite açoriano apresentou também maior teor de AGMI totais, *trans* totais, em particular o 18:1*t*11 (ácido vacénico), cuja proporção foi significativamente superior nos Açores. Este isómero é considerado o mais relevante entre os *trans* ruminantes por ser precursor direto do CLA *cis*-9,*trans*-11 na via Δ 9-desaturase (Griinari et al. 1999; Field et al. 2009), ambos com potenciais efeitos benéficos à saúde humana. A presença mais elevada de 18:1*t*11 no leite açoriano sugere o efeito positivo da alimentação à base de pastagem, tal como descrito por (Alves et al. 2021).

Em contrapartida, o 18:1*t*10, associado ao fenómeno “*trans*-10 shift”, foi mais abundante no Continente, ainda que sem diferença significativa. Este resultado é consistente com o papel das dietas ricas em concentrados na promoção da via *t*10 em detrimento da via *t*11, reduzindo a formação de vacénico e CLA (Griinari et al. 1999; Alves et al. 2021). Nos Açores também se observaram valores superiores para os isómeros 18:1*t*15 e 18:1*t*16/*c*14, ambos relacionados com dietas ricas em forragem (Shingfield et al. 2013), reforçando o padrão associado ao pastoreio.

Os AGPI totais foram também mais elevados nos Açores, traduzindo-se num rácio AGPI/AGS superior. Este rácio expressa a relação entre AGPI e AGS, sendo amplamente utilizado como indicador da qualidade nutricional da gordura (Department of Health 1994). Por essa razão, organismos internacionais como a FAO/WHO (2010) recomendam rácios mais elevados, nomeadamente acima de 0,4 na dieta global. Ambas as regiões apresentaram rácios superiores aos valores recomendados; contudo, as diferenças relativamente pequenas observadas entre elas indicam uma composição lipídica mais equilibrada e nutricionalmente mais favorável no leite proveniente dos Açores. O leite açoriano evidenciou um teor superior de AG ómega-3 e um rácio n-6/n-3 mais equilibrado, resultado associado a sistemas de produção baseados em pastagem (Butler *et al.*, 2011; Leskinen *et al.*, 2019). Importa salientar que a literatura recomenda rácios dietéticos reduzidos de n-6/n-3, idealmente entre 1:1 e 4:1, pela sua relevância na prevenção de doenças crónicas (Simopoulos e Cleland 2003).

6.3 Avaliação nutricional da gordura do leite de vaca

Sob a perspetiva nutricional, a evidência científica relaciona o consumo de AG *trans* de origem industrial com um maior risco de doenças cardiovasculares. Nesse sentido, têm sido adotadas regulamentações específicas visando a sua eliminação da cadeia alimentar (Alves *et al.* 2021). Conforme apresentado nas secções [2.4](#) e [2.4.1](#) os AG *trans* presentes em produtos de origem ruminante, como carne e leite, resultam da bioidrogenação ruminal e são designados como *trans* naturais. A evidência científica não os associa de forma consistente aos efeitos adversos observados para os AG *trans* de origem industrial. Por esse motivo, as recomendações internacionais e a legislação europeia distinguem ambas as origens. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2019) recomenda que a ingestão de *trans* industrial de origem industrial não exceda 1% da energia total da dieta (2,2 g/dia numa dieta de 2000 kcal). De igual modo, o Regulamento (UE) 2019/649 da Comissão estabelece que o teor de *trans* industrial não deve ultrapassar 2 g/100 g de lípidos. Contudo, alguns dos ácidos *trans* das gorduras dos ruminantes podem ter efeitos semelhantes aos de origem industrial (ex. 18:1 Δ 9 e 18:1 Δ 10), justificando o interesse em avaliar não só o teor total em AG *trans* na gordura do leite, mas também o perfil dos isómeros *trans*.

No presente estudo, a ingestão estimada de AG *trans* a partir do consumo médio de leite em Portugal foi de aproximadamente 0,2 g/dia (0,07 % IED), valor muito inferior ao limite definido pela OMS. De salientar, no entanto, que o leite utilizado no nosso estudo foi leite inteiro por ter maior proporção de gordura, mas possivelmente a informação sobre o consumo médio de leite do IAN-AF seja maioritariamente leite meio-gordo, com menor teor em gordura. Ainda que os valores estimados da ingestão de AG *trans* em % IED não ultrapassem os limites máximos recomendados, quando expressos em % do total de AG, claramente o valor médio

excede 2 g / 100 g de gordura de leite em todas as marcas analisadas, excedendo assim o valor recomendado no Regulamento (UE) 2019/649. No entanto, se considerarmos apenas os AG *trans* com potenciais efeitos colesterémicos (i.e. 18:1*t*9 + 18:1*t*10), a proporção não excede 0,9 g / total de AG. Assim, ainda que o leite contenha *trans* de origem natural, com potenciais efeitos biológicos distintos, estes não representam risco nutricional relevante, o que reforça a importância de distinguir as diferentes origens e impactos fisiológicos destes isómeros.

Considerando também as recomendações nutricionais de ingestão de gordura (20-35% IED) ou AGS (<10%), os valores médios verificados nos leites analisados estão de acordo com as recomendações. No entanto, se considerarmos a ingestão de AGPI totais, ómega-6 ou ómega-3 estimadas a partir dos leites de vaca do nosso estudo, estas estão bem abaixo das recomendações nutricionais. Este facto, era esperado uma vez que a gordura de leite não é uma boa fonte alimentar de AGPI. Estes resultados reforçam que a ingestão de leite deve ser acompanhada por uma dieta variada e equilibrada.

Relativamente aos índices nutricionais estimados a partir da composição em AG, o Terra Nostra apresentou valores mais favoráveis, com menor AI e TI, embora tenha registado os teores mais elevados de AG *trans* totais e colesterólémicos, evidenciando um perfil misto entre parâmetros benéficos e desfavoráveis. O Nova Açores, apesar do maior teor de ómega-3 e melhor rácio n-6/n-3, apresentou o AI mais elevado, possivelmente devido à maior proporção de SFA de cadeia média. O Milbona destacou-se pelo maior teor de *trans* benéficos, em linha com a literatura que associa o consumo de pastagem a um aumento destes isómeros. Em contraste, o Pingo Doce revelou o perfil menos favorável, com mais SFA e ómega-6, menos MUFA e pior TI, resultado que poderá refletir diferenças na dieta animal ou na mistura de leites de diferentes origens. Importa salientar que todas as marcas com parâmetros mais favoráveis tiveram origem nos Açores.

De facto, quando se fez a comparação entre leites produzidos em Portugal Continental e os produzidos nos Açores, verificou-se que o rácio n-6/n-3 foi significativamente mais baixo nos Açores, refletindo um perfil lipídico mais equilibrado. Valores reduzidos deste rácio são nutricionalmente desejáveis, dado que o excesso de AG ómega-6 em relação ao ómega-3 está associado a processos pró-inflamatórios e aumento do risco de doenças crónicas, enquanto rácios mais baixos promovem efeitos anti-inflamatórios e cardioprotetores (Simopoulos 2002). A predominância de pastagem nos sistemas açorianos explica este resultado, pois dietas forrageiras são ricas em precursores de ómega-3 que se incorporam diretamente no leite (Elgersma 2015).

Nos índices de risco cardiovascular, o leite dos Açores apresentou valores inferiores tanto de AI como de TI, indicadores desenvolvidos por Ulbricht e Southgate (1991) para estimar o impacto do perfil lipídico em favorecer alterações vasculares aterogénicas e trombogénicas. Valores mais baixos refletem um perfil mais protetor, e neste estudo confirmam a vantagem do leite proveniente de sistemas em pastagem. Por outro lado, não se observaram diferenças significativas no índice *trans*-colesterolémico, que expressa a contribuição dos AG *trans* para a alteração do perfil lipídico plasmático. Ainda assim, como discutido anteriormente, a maior proporção de *trans* benéficos (como o CLA *cis*-9, *trans*-11) nos Açores pode compensar parcialmente o impacto negativo dos *trans* totais.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho permitiu caracterizar o perfil em AG do leite de vaca produzido e comercializado em Portugal, com especial enfoque nos AG *trans*. Confirmou-se que a gordura do leite é constituída maioritariamente por AGS, seguidos dos AGMI e, em menor proporção, dos AGPI. Verificou-se igualmente a presença de isómeros *trans* de origem ruminante, em particular o ácido vacénico e o ácido ruménico (CLA-*c9,t11*), em concentrações compatíveis com as descritas na literatura.

A análise comparativa entre marcas e origens geográficas demonstrou diferenças relevantes na composição lipídica. Os leites provenientes dos Açores apresentaram um perfil mais favorável do ponto de vista nutricional, com maior teor de isómeros *trans* de origem natural e melhor equilíbrio entre AG n-6 e n-3, quando comparados com os leites do continente.

A estimativa da ingestão de AG *trans* através do consumo médio de leite pela população portuguesa revelou valores muito inferiores ao limite recomendado pela Organização Mundial da Saúde, não constituindo risco nutricional significativo. Apesar de a gordura láctea apresentar uma proporção relativa de AG *trans* superior à observada em outras matrizes alimentares, trata-se de isómeros de origem ruminante. Estes isómeros, de origem ruminante, não estão abrangidos pelo limite legal estabelecido pela União Europeia, que incide apenas sobre os AG *trans* de produção industrial. Esta distinção baseia-se no facto de apresentarem implicações metabólicas diferentes.

Em síntese, este estudo contribui para o conhecimento atualizado sobre a composição lipídica do leite comercializado em Portugal e reforça a importância de integrar a sua caracterização na avaliação global da qualidade nutricional dos géneros alimentícios.

Futuramente, será pertinente aprofundar a monitorização da variabilidade sazonal e a avaliação de outros produtos lácteos disponíveis no mercado nacional.

8. REFERÊNCIAS

- Ackman RG. 2002. The gas chromatograph in practical analyses of common and uncommon fatty acids for the 21st century. *Anal Chim Acta*. 465(1–2):175–192. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00098-3).
- Alves SP, Vahmani P, Mapiye C, McAllister TA, Bessa RJB, Dugan MER. 2021. Trans-10 18:1 in ruminant meats: A review. *Lipids*. 56(6):539–562. doi:10.1002/lipd.12324.
- Alves SP, Bessa RJB. 2014. The trans-10,cis-15 18:2: a Missing Intermediate of trans-10 Shifted Rumen Biohydrogenation Pathway? *Lipids*. 49(6):527–541. <https://doi.org/10.1007/s11745-014-3897-4>
- Simopoulos AP, Cleland LG, Christiansen EN. 2004. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio: the scientific evidence. *Scandinavian Journal of Nutrition*. 48(1):49–50. doi:10.1080/11026480410026465.
- Anklam E. 2005. H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle: Food Chemistry, Third Edition. *Anal Bioanal Chem*. 382(1):10–11. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-3036-9>.
- Antunes IC, Bexiga R, Pinto C, Roseiro LC, Quaresma MAG. 2023. Cow's Milk in Human Nutrition and the Emergence of Plant-Based Milk Alternatives. *Foods*. 12:99. <https://doi.org/10.3390/foods12010099>.
- Arnould VM-R, Soyeurt H. 2009. Genetic variability of milk fatty acids. *J Appl Genet*. 50(1):29–39. <https://doi.org/10.1007/BF03195649>.
- Baldwin RL, Smith NE, Taylor J, Sharp M. 1980. Manipulating Metabolic Parameters to Improve Growth Rate and Milk Secretion. *J Anim Sci*. 51(6):1416–1428. <https://doi.org/10.2527/jas1981.5161416x>.
- Banks A, Hilditch TP. 1931. The glyceride structure of beef tallows. *Biochemical Journal*. 25(4):1168–1182. <https://doi.org/10.1042/bj0251168>.
- Barber, M. C., Clegg, R. A., Travers, M. T., & Vernon, R. G. (1997). Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochimica et biophysica acta*, 1347(2-3), 101–126. [https://doi.org/10.1016/s0005-2760\(97\)00079-9](https://doi.org/10.1016/s0005-2760(97)00079-9).
- Bauman DE, Griinari JM. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr*. 23(1):203–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>.
- Benito P, Caballero J, Moreno J, Gutiérrez-Alcántara C, Muñoz C, Rojo G, Soriguer FC. 2006. Effects of milk enriched with ω -3 fatty acid, oleic acid and folic acid in patients with metabolic syndrome. *Clin Nutr*. 25(4):581–587. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2005.11.010>.
- Bessa RJB, Alves SP, Santos-Silva J. 2015. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *Eur J Lipid Sci Technol*. 117(9):1325–1344. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400468>.
- Bessa RJB, Santos-Silva J, Ribeiro JMR, Portugal AV. 2000. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livest Prod Sci*. 63(3):201–211. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00117-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00117-7).
- Bhat S, Maganja D, Huang L, Wu JHY, Marklund M. 2022. Influence of heating during cooking on trans fatty acid content of edible oils: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 14(7):1489. <https://doi.org/10.3390/nu14071489>.

- Bohlouli M, Yin T, Hammami H, Gengler N, König S. 2021. Climate sensitivity of milk production traits and milk fatty acids in genotyped Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 104(6):6847–6860. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19411>.
- Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB. 2010. Effect of Animal and Industrial Trans Fatty Acids on HDL and LDL Cholesterol Levels in Humans – A Quantitative Review. *PLoS One.* 5(3):e9434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009434>
- Butler G, Stergiadis S, Seal C, Eyre M, Leifert C. 2011. Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J Dairy Sci.* 94(1):24–36. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3331>.
- Butler JE, Seawright GL, McGivern PL, Gilsdorf M. 1986. Preliminary evidence for a diagnostic immunoglobulin G1 antibody response among culture-positive cows vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 and challenge exposed with strain 2308. *Am J Vet Res.* 47(6):1258–1264.
- Cashman KD. 2006. Milk minerals (including trace elements) and bone health. *Int Dairy J.* 16(11):1389–1398. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.017>.
- Chandan RC. 2007. Milk Composition, Physical and Processing Characteristics. In: Handbook of Food Products Manufacturing. Wiley; p 347–377. <https://doi.org/10.1002/9780470113554.ch64>.
- Chazal M-P, Chilliard Y. 1986. Effect of stage of lactation, stage of pregnancy, milk yield and herd management on seasonal variation in spontaneous lipolysis in bovine milk. *J Dairy Res.* 53(4):529–538. <https://doi.org/10.1017/S0022029900033057>.
- Chilliard Y, et al. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur J Lipid Sci Technol.* 109(8):828–855. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700080>.
- Chiuchi ACGR, Feiten MC, Gilioli A, Fagundes C, Foralosso FB, Gonzalez SL. 2024. Ácidos graxos trans: uma revisão integrativa. *Cad Ciênc Tecnol.* 41:e27310. <https://doi.org/10.35977/0104-1096.cct2024.v41.27310>.
- Christie WW, Han X. 2012. Lipids: their structures and occurrence. In: Lipid Analysis. Elsevier; p 3–19. <https://doi.org/10.1533/9780857097866.3>.
- Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler D, Ryhänen EL. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. *Int Dairy J.* 16(11):1347–1361. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.021>.
- Committee on Medical Aspects of Food Policy. 1994. *Nutritional aspects of cardiovascular disease*. Report on Health and Social Subjects no. 46. London (UK): Department of Health.
- Costa N, Cruz R, Graça P, Breda J, Casal S. 2016. Trans fatty acids in the Portuguese food market. *Food Control.* 64:128. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.010>.
- Damodaran Srinivasan, Parkin KL., Fennema OR. 2017. Fennema's Food Chemistry, Fifth Edition. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315372914>.
- Dauria BD, Sigdel A, Petrini J, Bóscollo PP, Pilonetto F, Salvian M, Rezende FM, Pedrosa VB, Bittar CMM, Machado PF, Coutinho LL, Wiggans GR, Mourão GB. 2022. Genetic effects of heat stress on milk fatty acids in Brazilian Holstein cattle. *J Dairy Sci.* 105(4):3296–3305. doi:10.3168/jds.2021-20914.
- David L. Nelson MMC. 2017. Lehninger Principles of Biochemistry. Vol 7.

- David ML, Guivant JS. 2012. A gordura trans: entre as controvérsias científicas e as estratégias da indústria alimentar. *Política & Sociedade*. 11(20). <https://doi.org/10.5007/2175-7984.2012v11n20p49>.
- Dewanckele L, Toral PG, Vlaeminck B, Fievez V. 2020. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. *J Dairy Sci*. 103(9):7655–7681. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17662>.
- Elgersma A. 2015. Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 117(9):1345–1369. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400469>.
- European Commission. 2025. *Milk and dairy products* [Internet]. Brussels (BE): European Commission; [citado 2025 Fev 11]. Disponível em: <https://agriculture.ec.europa.eu/farming/animal-products/milk-and-dairy-products>.
- Eurostat. 2025. *Fat content and protein contents (cow's milk) – annual data* [Internet]. Luxembourg (LU): Eurostat; [citado 2025 Set 19]. Disponível em: <https://ec.europa.eu/eurostat>
- Favre HA, Powell WH. 2013. Nomenclature of Organic Chemistry. The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781849733069>.
- Field CJ, Blewett HH, Proctor S, Vine D. 2009. Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 34(5):979–991. <https://doi.org/10.1139/H09-079>.
- Fievez V, Colman E, Castro-Montoya JM, Stefanov I, Vlaeminck B. 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. *Anim Feed Sci Technol*. 172(1–2):51–65. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.008>.
- Food and Agriculture Organization (FAO), World Health Organization (WHO). 2010. *Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation*. FAO Food and Nutrition Paper 91. Rome (IT): FAO.
- Foster DW. 2012. Malonyl-CoA: the regulator of fatty acid synthesis and oxidation. *Journal of Clinical Investigation*. 122(6):1958–1959. <https://doi.org/10.1172/JCI63967>.
- Fox PF, Uniacke-Lowe T, McSweeney PLH, O'Mahony JA. 2015. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>.
- Gazzola J, Depin M. 2016. Associação entre consumo de gordura trans e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV). *Extensio Rev Eletr Extens*. 12:90. <https://doi.org/10.5007/1807-0221.2015v12n20p90>.
- Gill BD, Indyk HE, Manley-Harris M. 2011. Determination of total potentially available nucleosides in bovine milk. *Int Dairy J*. 21(1):34–41. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.07.004>.
- Gill BD, Indyk HE, Manley-Harris M. 2012. Determination of total potentially available nucleosides in bovine, caprine, and ovine milk. *Int Dairy J*. 24(1):40–43. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.11.011>.
- Ginter E, Simko V. 2016. New data on harmful effects of trans-fatty acids. *Bratisl. Lek. Listy*. 117(5):251–253. https://doi.org/10.4149/BLL_2016_048.

- Gopal PK, Gill HS. 2000. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *Br. J. Nutr.* 84(S1):69–74. <https://doi.org/10.1017/S0007114500002270>.
- Gorissen L, Raes K, Weckx S, Dannenberger D, Leroy F, De Vuyst L, De Smet S. 2010. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. *Appl Microbiol Biotechnol.* 87(6):2257–2266. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2713-1>.
- Gottardo P, Penasa M, Righi F, Lopez-Villalobos N, Cassandro M, De Marchi M. 2017. Fatty acid composition of milk from Holstein-Friesian, Brown Swiss, Simmental and Alpine Grey cows predicted by mid-infrared spectroscopy. *Ital J Anim Sci.* 16(3):380–389. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1298411>.
- Gozdzik P, Magkos F, Sledzinski T, Mika A. 2023. Monomethyl branched-chain fatty acids: Health effects and biological mechanisms. *Prog Lipid Res.* 90:101226. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101226>.
- Graulet B. 2014. Ruminant milk: A source of vitamins in human nutrition. *Anim. Front.* 4(2):24–30. <https://doi.org/10.2527/af.2014-0011>.
- Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. 2008. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 144(1–2):1–15. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.006>.
- Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KV, Bauman DE. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ -desaturase. *J Nutr.* 130(9):2285–2291. <https://doi.org/10.1093/jn/130.9.2285>.
- Guillocheau E, Legrand P, Rioux V, Durand G, Sebedio JL, Chardigny JM. 2020. Current intakes of trans-palmitoleic (trans-C16:1 n-7) and trans-vaccenic (trans-C18:1 n-7) acids in France are exclusively ensured by ruminant milk and ruminant meat: A market basket investigation. *Food Chem X.* 5:100081. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100081>.
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis.* 8(12):1881–1887. <https://doi.org/10.1093/carcin/8.12.1881>.
- Hanus O, Samkova E, Krizova L, Hasonova L, Kala R. 2018. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability—a review. *Molecules.* 23(7):1636. <https://doi.org/10.3390/molecules23071636>.
- Harmon DL, Swanson KC. 2020. Review: Nutritional regulation of intestinal starch and protein assimilation in ruminants. In: *Animal.* Vol. 14. Cambridge University Press; p S17–S28. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003136>.
- Holt C. 1997. The milk salts and their interaction with casein. In: Fox PF, editor. *Advanced Dairy Chemistry.* Vol. 3. p 233–254. Hurley WL. 2003. In: Fox PF, McSweeney PLH, editors. *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins.* 3rd ed. Kluwer Academic; p 421–447. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8602-3_5.
- Instituto Nacional de Estatística (INE). 2024. *Estatísticas agrícolas 2020.* Lisboa (PT): INE. ISSN 0079-4139. [citado 2025 Fev 11].
- Instituto Nacional de Estatística (INE). 2024. *Estatísticas agrícolas 2023.* Lisboa (PT): INE. ISSN 0079-4139. [citado 2025 Fev 25].
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). 2023. *Tabela da composição de alimentos.* Versão 6.0 [Internet]. Lisboa (PT): INSA. [citado 2025 Set 20]. Disponível em: <https://portfir.insa.pt>

- Jahreis G, FJ; KJ. 1999. Species-dependent, seasonal, and dietary variation of conjugated linoleic acid in milk. In: Yurawecz MP et al., editors. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Vol. 1. AOCS Press; p 215–225.
- Jarvis GN, Moore ERB. 2010. Lipid Metabolism and the Rumen Microbial Ecosystem. In: *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Springer Berlin Heidelberg; p 2245–2257. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_163.
- Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. 2008. Board-Invited Review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J Anim Sci*. 86(2):397–412. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0588>.
- Jensen RG, Ferris AM, Lammi-Keefe CJ. 1991. The Composition of Milk Fat. *J Dairy Sci*. 74(9):3228–3243. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78509-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78509-3).
- Jensen RG. 2002. The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci*. 85(2):295–350. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4).
- Kalač P, Samková E. 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech J. Anim. Sci.* 55(12):521–537. <https://doi.org/10.17221/2485-CJAS>.
- Kaur H, Gupta T, Kapila S, Kapila R. 2020. Role of fermented dairy foods in human health. *Indian J. Dairy Sci*. 73(02):97–110. <https://doi.org/10.33785/IJDS.2020.v73i02.001>.
- Korhonen HJ. 2009. Bioactive Components in Bovine Milk. In: *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley; p 13–42. <https://doi.org/10.1002/9780813821504.ch2>.
- Kramer JK, Cruz-Hernandez C, Deng Z, Zhou J, Jahreis G, Dugan ME. 2004. Analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am J Clin Nutr*. 79(6):1137S–1145S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.6.1137S>.
- Kumar RKM, Ghosh A, Singh B, Ramesh PV, Thakur A. 2015. Natural and cultured buttermilk. In: Kwon Y, editor. *Fermented milk and dairy products*. 1st ed. Boca Raton (FL): CRC Press; p. 203–225.
- Kwon Y. 2016. Effect of trans-fatty acids on lipid metabolism: Mechanisms for their adverse health effects. *Food Rev Int*. 32(3):323–339. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1075214>.
- Leblanc C, Colin C, Cosse A, Delage L, La Barre S, Morin P, Fiévet B, Voiseux C, Ambroise Y, Verhaeghe E, et al. 2006. Iodine transfers in the coastal marine environment: the key role of brown algae and of their vanadium-dependent haloperoxidases. *Biochimie*. 88(11):1773–1785. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.09.001>.
- Leskinen H, Ventto L, Kairenius P, Shingfield KJ, Vilkki J, Vanhatalo A. 2019. Temporal changes in milk fatty acid composition during diet-induced milk fat depression in lactating cows. *J Dairy Sci*. 102(6):5148–5160. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15860>.
- Lindmark Månsson H. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr Res*. 52(1):1821. <https://doi.org/10.3402/fnr.v52i0.1821>.
- Lindmark-Månsson H, Fondén R, Pettersson HE. 2003. Composition of Swedish dairy milk. *Int Dairy J*. 13(6):409–425. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00032-3).
- Lock AL, Bauman DE. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*. 39(12):1197–1206. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1348-6>.
- Loor JJ, Lin X, Herbein JH. 2003. Effects of dietary cis 9, trans 11-18:2, trans 10, cis 12-18:2, or vaccenic acid (trans 11-18:1) during lactation on body composition, tissue fatty acid

- profiles, and litter growth in mice. *Br. J. Nutr.* 90(6):1039–1048. <https://doi.org/10.1079/BJN20031002>.
- Lopes C, Torres D, Oliveira A, Severo M, Alarcão V, Guiomar S, Mota J, Teixeira P, Rodrigues S, Lobato L, Magalhães V, Correia D, Carvalho C, Pizarro A, Marques A, Vilela S, Oliveira L, Nicola P, Soares S, Ramos E. 2018. National Food, Nutrition, and Physical Activity Survey of the Portuguese General Population (2015-2016): Protocol for design and development. *JMIR Res Protoc.* 7(2): e42. <https://doi.org/10.2196/resprot.8990>.
- Lopes C, Torres D, Oliveira A, Severo M, Alarcão V, Guiomar S, Mota J, Teixeira P, Rodrigues S, Lobato L, Magalhães V, Correia D, Carvalho C, Pizarro A, Marques A, Vilela S, Oliveira L, Nicola P, Soares S, Ramos E. 2017. *Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016*. Porto (PT): Universidade do Porto. ISBN: 978-989-746-181-1.
- Lordan R, Tsoupras A, Mitra B, Zabetakis I. 2018. Dairy Fats and Cardiovascular Disease: Do We Really Need to Be Concerned? *Foods.* 7(3):29. <https://doi.org/10.3390/foods7030029>.
- Lordan R, Zabetakis I. 2017. Invited review: The anti-inflammatory properties of dairy lipids. *J Dairy Sci.* 100(6):4197–4212. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12224>.
- Lorenzen JK, Jensen SK, Astrup A. 2014. Milk minerals modify the effect of fat intake on serum lipid profile: results from an animal and a human short-term study. *Br. J. Nutr.* 111(8):1412–1420. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003826>.
- Lunn J, Theobald HE. 2006. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr Bull.* 31(3):178–224. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2006.00571.x>.
- Magan JB, O’Callaghan TF, Kelly AL, McCarthy NA. 2021. Compositional and functional properties of milk and dairy products derived from cows fed pasture or concentrate-based diets. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 20(3):2769–2800. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12751>.
- Maia MRG, Chaudhary LC, Figueres L, Wallace RJ. 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 91(4):303–314. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9118-2>.
- Mansbridge RJ, Blake JS. 1997. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. *Br. J. Nutr.* 78(1):S37–S47. <https://doi.org/10.1079/bjn19970133>.
- Markiewicz-Kęszycka M, Czyżak-Runowska G, Lipińska P, Wójtowski J. 2013a. Fatty Acid Profile of Milk - A Review. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 57(2):135–139. <https://doi.org/10.2478/bvip-2013-0026>.
- Martin J-C, Valeille K. 2002. Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? *Reprod Nutr Dev.* 42(6):525–536. <https://doi.org/10.1051/rnd:2002042>.
- Martins SV, Lopes PA, Alfaia CM, Ribeiro VS, Guerreiro TV, Fontes CMGA, Castro MF, Soveral G, Prates JAM. 2007. Contents of conjugated linoleic acid isomers in ruminant-derived foods and estimation of their contribution to daily intake in Portugal. *Br J Nutr.* 98(6):1206–1213. <https://doi.org/10.1017/S0007114507781448>.
- Mensink RP, Katan MB. 1992. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb.* 12(8):911–919. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.12.8.911>.
- Miciński J, Zwierzchowski G, Kowalski IM, Szarek J, Pierożyński B, Raistenskis J. 2012. The effects of bovine milk fat on human health. *Pol Ann Med.* 19(2):170–175. <https://doi.org/10.1016/j.poamed.2012.07.004>.

- Miyagawa E. 1982. Cellular fatty acid and fatty aldehyde composition of rumen bacteria. *J Gen Appl Microbiol.* 28(5):389–408. <https://doi.org/10.2323/jgam.28.389>.
- Mohammed R, Stanton C, Kennelly JJ, Kramer JKG, Mee JF, Glimm DR, O'Donovan M, Murphy JJ. 2010. Effect of grain type and processing method on rumen fermentation and milk rumenic acid production. *Animal.* 4(8):1425–1444. <https://doi.org/10.1017/S175173111000039X>.
- Molkentin J, Precht D. 2000. Validation of a gas-chromatographic method for the determination of milk fat contents in mixed fats by butyric acid analysis. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102(3):194–201. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1438-9312\(200003\)102:3<194::AID-EJLT194>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1438-9312(200003)102:3<194::AID-EJLT194>3.0.CO;2-3).
- Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D. 2013. *Milk and dairy products in human nutrition*. Rome (IT): Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Nasciutti PR, Silva RC, Silva RMR, Oliveira MRM, Silva Júnior JF, Silva Júnior AG, Silva Júnior JG. 2015. Ácidos graxos e o sistema cardiovascular. *Enciclop Biosf.* 11:11–29. https://doi.org/10.18677/enciclopedia_biosfera_2015_066.
- Nunes GFM, Paula AV de, Castro HF de, Santos JC dos. 2010. Modificação bioquímica da gordura do leite. *Quim Nova.* 33(2):431–437. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200034>.
- O'Callaghan TF, Hennessy D, McAuliffe S, Kilcawley KN, O'Donovan M, Dillon P, Ross RP, Stanton C. 2016. Effect of pasture versus indoor feeding systems on raw milk composition and quality over an entire lactation. *J Dairy Sci.* 99(12):9424–9440. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10985>.
- Palmquist DL, Denise Beaulieu A, Barbano DM. 1993. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *J Dairy Sci.* 76(6):1753–1771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77508-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77508-6).
- Pariza M. 1999. Conjugated linoleic acid and the control of cancer and obesity. *Toxicol. Sci.* 52(90001):107–110. https://doi.org/10.1093/toxsci/52.suppl_1.107.
- Pestana JM, Martins SV, Alfaia CM, Lopes PA, Costa ASH, Ribeiro VS, Fontes CMGA, Castro MF, Bessa RJB, Prates JAM. 2009. Content and distribution of conjugated linoleic acid isomers in bovine milk, cheese and butter from Azores. *Dairy Sci Technol.* 89(2):193–200. <https://doi.org/10.1051/dst/2008040>.
- Pieter Walstra, Robert Jenness. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. 1a ed.
- Pipoyan D, Stepanyan S, Beglaryan M, Costantini L, Molinari R, Merendino N. 2021. The effect of trans fatty acids on human health: regulation and consumption patterns. *Foods.* 10(8):1–20. <https://doi.org/10.3390/foods10102452>.
- Ran-Ressler RR, Sim D, Gorczyca L, Kleiman R, Kazimi S, Lawrence P, Brenna JT. 2014. Branched-chain fatty acid content of foods and estimated intake in the USA. *Br J Nutr.* 112(4):565–572. <https://doi.org/10.1017/S0007114514001081>.
- Razzaghi A, Ghaffari MH, Rico DE. 2023. The impact of environmental and nutritional stresses on milk fat synthesis in dairy cows. *Domest Anim Endocrinol.* 83:106784 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2022.106784>.
- Rego OA, Alves SP, Antunes LM, Rosa HJD, Alfaia CM, Prates JAM, Cabrita ARJ, Fonseca AJM, Bessa RJB. 2016. Changes in milk production and milk fatty acid composition of cows switched from pasture to a total mixed ration diet and back to pasture. *Ital J Anim Sci.* 15(1):76–86. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1141330>.

- Sanhueza C J, Nieto K S, Valenzuela B. A. 2002. Ácido linoleico conjugado: un ácido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. *Revista chilena de nutrición*. 29(2). <https://doi.org/10.4067/S0717-75182002000200004>.
- Sanibal E, Filho J. 2002. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. *Food Ingrid South Am*. 18:64–71 Scientific and technical assistance on trans fatty acids. 2018. EFSA Supporting Publications. 15(6). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1433>
- Sebedio J-L, Christie WW, Adlof R. 2020. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. 1st ed. Sébédio J-L, Christie WW, Adlof R, editors. AOCS Publishing. <https://doi.org/10.4324/9780429270703>
- Sehat N, Kramer JKG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Roach JAG, Eulitz K, Morehouse KM, Ku Y. 1998. Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids*. 33(10):963–971. <https://doi.org/10.1007/s11745-998-0293-8>.
- Seol H. 2025. *snowCluster: multivariate analysis* (version 7.5.4) [jamovi module]. Disponível em: <https://jamovi.org>
- Separovic L, Aued-Pimentel S. 2016. Biscoitos de polvilho do comércio do estado de São Paulo, Brasil: composição da gordura com destaque para os ácidos graxos trans. *Vigil Sanit Debate*. 4(2). <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00600>.
- Sheppard AJ. 1992. *Lipid Manual: Methodology Suitable for Fatty Acid-cholesterol Analysis*. Wm. C. Brown Publishers. https://books.google.pt/books?id=h_hFAAAAYAAJ.
- Shimizu T, Ishikawa T, Kamikubo E, Katayama T, Hasegawa-Ishii S, Urano T, Sadahiro M, Kitamura N. 2020. Social defeat stress in adolescent mice induces depressive-like behaviors with reduced oligodendrogenesis. *Neuroscience*. 443:218–232. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.002>.
- Shingfield KJ, Bernard L, Leroux C, Chilliard Y. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*. 4(7):1140–1166. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000510>.
- Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*. 7:132–162. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001681>
- Sieber R, Collomb M, Aeschlimann A, Jelen P, Eyer H. 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products - a review. *Int Dairy J*. 14(1):1–15. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00151-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00151-1).
- Silva DA, Silva FF, Silva LDF, Silva RR, Oliveira RL, Bezerra LR, Oliveira JS, Silva SP. 2019. Chemical and fatty acid composition of milk from crossbred cows subjected to feed restriction. *Pesqui Agropecu Bras*. 54:e00051. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00051>.
- Simopoulos A.P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 56(8):365–379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6).
- Simopoulos Artemis P. 2002. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. *J Am Coll Nutr*. 21(6):495–505. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719248>

- Siurana A, Calsamiglia S. 2016. A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Anim Feed Sci Technol.* 217:13–26. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.04.013>.
- Srebernick SM, Gonçalves GMS, Baggio SR. 2013. Perfil de ácidos graxos e teor de ácidos graxos trans em biscoitos recheados sabor chocolate. *Rev Ciênc Méd.* 22(2):95–103. <https://doi.org/10.24220/2318-0897v22n2a2131>.
- Stender S, Astrup A, Dyerberg J. 2008. Ruminant and industrially produced trans fatty acids: health aspects. *Food Nutr Res.* 52(1):1651. <https://doi.org/10.3402/fnr.v52i0.1651>.
- Stergiadis S, Leifert C, Seal CJ, Eyre MD, Nielsen JH, Larsen MK, Slots T, Nielsen DS, Sinninghe Damsté JS, Butler G. 2014. Improving the fatty acid profile of winter milk from housed cows with contrasting feeding regimes by oilseed supplementation. *Food Chem.* 164:293–300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.021>.
- Stoop WM, van Arendonk JAM, Heck JML, van Valenberg HJF, Bovenhuis H. 2008. Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of Dutch Holstein-Friesians. *J Dairy Sci.* 91(1):385–394. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0181>.
- Stoop WM, Bovenhuis H, Heck JML, van Arendonk JAM. 2009. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *J Dairy Sci.* 92(4):1469–1478. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1468>.
- Stroher GL, Souza CFV, Visentainer JV, Matsushita M. 2012. Quantificação de ácidos graxos em diferentes tipos de biscoitos com ênfase nos ácidos graxos trans. *Acta Sci Technol.* 34(1):105–110. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v34i1.10304>.
- Suzuki RM, Montanher PF, Visentainer JV, Souza NE de. 2011. Proximate composition and quantification of fatty acids in five major Brazilian chocolate brands. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 31(2):541–546. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200040>.
- Taormina VM, Unger AL, Schiksnis MR, Kraft J. 2020. Branched-chain fatty acids—an underexplored class of dairy-derived fatty acids. *Nutrients.* 12(9):2875. <https://doi.org/10.3390/nu12092875>.
- The jamovi project. 2025. *jamovi* (version 2.7) [computer software]. Disponível em: <https://www.jamovi.org>
- Tudisco R, Cutrignelli MI, Calabrò S, Piccolo G, Bovera F, Guglielmelli A, Moniello G, Infascelli F. 2015. Effect of hydrogenated palm oil dietary supplementation on milk yield and composition, fatty acids profile and Stearoyl-CoA desaturase expression in goat milk. *Small Rumin Res.* 132:72–78. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.006>.
- Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet.* 338(8773):985–992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M).
- Unger AL, Bourne DE, Walsh H, Kraft J. 2020. Fatty Acid Content of Retail Cow’s Milk in the Northeastern United States—What’s in It for the Consumer? *J Agric Food Chem.* 68(14):4268–4276. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07390>.
- União Europeia. 2011. Regulamento (UE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia.* L 304:22 Nov.
- União Europeia. 2013. Regulamento (UE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de dezembro de 2013, que estabelece uma organização comum dos mercados dos produtos agrícolas. *Jornal Oficial da União Europeia.* L 347:20 Dez.

- United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service. 2020. *FoodData Central: Milk, whole, 3.25% milkfat, with added vitamin D – Components – Foundation* [Internet]. Beltsville (MD): USDA. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov>
- Van Nevel C, Demeyer D. 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reprod Nutr Dev.* 36(1):53–63. <https://doi.org/10.1051/rnd:19960105>.
- Vasta V, Bessa RJB. 2012. Manipulating ruminal biohydrogenation by the use of plants bioactive compounds. In: *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Vol. 9789400739260. Springer Netherlands; p 263–284. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3926-0_9.
- Vlaeminck B, Fievez V, Cabrita ARJ, Fonseca AJM, Dewhurst RJ. 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review. *Anim Feed Sci Technol.* 131(3–4):389–417. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017>.
- Wahle KWJ, Heys SD, Rotondo D. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog Lipid Res.* 43(6):553–587. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.08.002>.
- Walstra P. 1999. *Dairy Technology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780824746414>.
- Walstra P., Walstra Pieter, Wouters JTM, Geurts TJ. 2005. *Dairy Science and Technology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028010>
- Ward AT, Wittenberg KM, Przybylski R. 2003. Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. *J Dairy Sci.* 86(5):1742–1750. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73760-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73760-6).
- Wolff RL. 1992. Trans-Polyunsaturated fatty acids in French edible rapeseed and soybean oils. *J Am Oil Chem Soc.* 69(2):106–110. <https://doi.org/10.1007/BF02540558>.
- World Health Organization (WHO). 2018. *REPLACE trans-fat: an action package to eliminate industrially produced trans-fatty acids* [Internet]. Geneva (CH): World Health Organization; [citado 2025 Jul 26]. Report No.: WHO/NMH/NHD/18.4. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NMH-NHD-18.4>.
- Yan Y, Wang Y, Li X, Luo X, Zhang H, Wang J, Wang X, Xu J, Wang X, Zhang Y. 2017. Branched chain fatty acids positional distribution in human milk fat and common human food fats and uptake in human intestinal cells. *J Funct Foods.* 29:172–177. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.12.024>.
- Zongo K, Zhang H, Zhang Y, Wang X, Xu J, Wang X, Luo X, Li X, Wang Y, Yan Y. 2021. Total conjugated linoleic acid content of ruminant milk: the world status insights. *Food Chem.* 334:127555. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127555>.

9. ANEXOS

Análise de ácidos gordos em gordura de leite por transesterificação direta (adaptado de Molquentin e Precht 2000).

Reagentes e soluções:

- Metanol;
- Hidróxido de potássio (KOH);
- n-Hexano com a adição de 25 mg/L de BHT;
- Preparar solução KOH 2M em metanol, por adição muito lenta e com agitação do metanol ao KOH (reação exotérmica);
- Padrão interno, C19:0 éster metílico (1 mg/mL em n-hexano) - FACULTATIVO

Nota: Método para análise de ácidos gordos de gordura de leite (previamente coletada por centrifugação do leite, ou liofilizada) em amostras que não tenham sido armazenadas por longos períodos (i.e. que não estejam sujeitas a hidrólise). O método quantifica o total de ácido gordos em percentagem do total de ácidos gordos. No caso de se querer quantificar também o teor total em gordura deverá adicionar-se padrão interno C19:0.

Procedimento:

1. Pesar 50 mg de gordura de leite para um tubo de ensaio;
2. Adicionar 2 mL de n-hexano (ou apenas 1 mL, no caso de se adicionar também 1 mL de padrão interno) e 0,2 mL de solução KOH em metanol;
3. Agitar em vortex durante 1 hora;
4. Adicionar com uma pipeta de pasteur 2 gotas de ácido acético glacial e agitar em vortex (10 seg);
5. Adicionar aproximadamente 0,5 g de sulfato de sódio anidro;
6. Agitar em vortex durante 30 seg e centrifugar durante 5 min;
7. Retirar a fase de n-hexano com uma pipeta de pasteur (com bastante cuidado para não ressuspender o sulfato de sódio) para um vial de GC;
8. Fechar bem o vial para não ocorrer evaporação dos ácidos gordos de cadeia curta e guardar no congelador até análise por cromatografia gasosa.