

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA
COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E DO VALOR NUTRICIONAL
DE LEITES E PRODUTOS LÁCTEOS DOS AÇORES

MESTRADO EM CONTROLO DA QUALIDADE E TOXICOLOGIA DOS ALIMENTOS

José Miguel Pestana Assunção

Lisboa

2007

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA
COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E DO VALOR NUTRICIONAL
DE LEITES E PRODUTOS LÁCTEOS DOS AÇORES

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em Controlo da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, orientada por Prof. Doutor José António Mestre Prates e Prof^a. Doutora Matilde da Luz dos Santos Duque da Fonseca e Castro.

MESTRADO EM CONTROLO DA QUALIDADE E TOXICOLOGIA DOS ALIMENTOS

José Miguel Pestana Assunção

Lisboa

2007

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL).

RESUMO

A fracção lipídica do leite é maioritariamente composta por triacilgliceróis, incluindo também, pequenas quantidades de vitaminas lipossolúveis, fosfolípidos e colesterol. Os principais ácidos gordos distribuem-se pelas várias famílias, sendo característico o elevado teor em ácidos gordos saturados, nomeadamente os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0) e mirístico (14:0). Relativamente ao teor em ácidos gordos insaturados, destacam-se os ácidos oleico (18:1c9), linoleico (18:2n-6) e α -linolénico (18:3n-3). Para além destes ácidos gordos, apresenta ainda, os isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA) que representa a mistura de isómeros geométricos e posicionais conjugados do ácido linoleico (18:2). O objectivo do presente trabalho foi caracterizar o perfil de ácidos gordos, isómeros individuais do CLA, colesterol, vitaminas antioxidantes lipossolúveis e índices nutricionais do leite, queijo e manteiga dos Açores comercializados em Portugal. Os ácidos gordos foram extraídos, separados, identificados e quantificados segundo a NP-EN ISO 5508. Os ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) foram analisados por GC-FID. Os ésteres metílicos dos isómeros do CLA foram individualmente separados e quantificados por HPLC-DAD. O colesterol e as vitaminas antioxidantes lipossolúveis foram extraídos das amostras após saponificação com solução metanólica de KOH saturada. O colesterol foi quantificado por HPLC-UV enquanto que as vitaminas antioxidantes lipossolúveis foram analisadas por HPLC-FD. De um modo geral, as composições lipídicas do leite, queijo e manteiga não apresentaram diferenças significativas. O leite, queijo e manteiga revelaram uma relação n-6/n-3 adequada para a dieta humana. No entanto, a concentração de PUFA e o índice PUFA/SFA são baixos, o que está de acordo com a gordura relativamente saturada característica destes produtos. Para além disso, os leites e produtos lácteos dos Açores sugerem um teor específico de CLA próximo dos teores máximos descritos por outros autores, bem como níveis de colesterol e de α -tocoferol superiores aos teores máximos da literatura consultada. Por último, não houve diferenças significativas na composição lipídica entre leite e produtos lácteos produzidos na mesma e em Ilhas diferentes do Arquipélago dos Açores.

Palavras-chave: composição lipídica, valor nutricional, leite, queijo, manteiga, Açores

ABSTRACT

The bovine milk fat is mainly composed by triacylglycerides, but also includes small amounts of lipid-soluble antioxidant vitamins, phospholipids and cholesterol. Saturated fatty acids are the main fatty acid class, composed, predominantly, by palmitic acid (16:0), stearic acid (18:0) and myristic acid (14:0). Regarding unsaturated fatty acids, the most predominant ones are oleic acid (18:1), linoleic acid (18:2n-6) and α -linolenic acid (18:3n-3). Moreover, milk fat presents conjugated linoleic acid (CLA), a mixture of conjugated positional and geometric isomers of linoleic acid (18:2n-6). The aim of this study was to characterise the fatty acid composition, CLA isomers, cholesterol, lipid-soluble antioxidant vitamins and nutritional index in milk, cheese and butter from Azorean region. FAME were extracted, separated, identified and quantified as described by NP-EN ISO 5508. From the same FAME solution, methyl esters of CLA isomers were individually separated by Ag⁺-HPLC using DAD detector. Lipid-soluble antioxidant vitamins and cholesterol were extracted, after saponification, with saturated methanolic KOH solution. Cholesterol was quantified by HPLC-UV and lipid-soluble antioxidant vitamins were analysed by HPLC-FD. In general, no major differences were found in the fat composition of milk, cheese and butter. The values of n-6/n-3 index in milk, cheese and butter are inside the recommended values for the human diet. However, PUFA concentration and PUFA/SFA ratio are lower, which is in agreement with the saturated fats characteristics of these products. Milk and dairy products from Azores presented specific CLA contents near the maximum reported for other authors. In relation to cholesterol and α -tocopherol concentrations, the values were higher than those reported in the literature. Finally, no major differences were observed for the fat composition of the milk and dairy products produced within the same Island or among different Islands of Azores.

Key-words: fat composition, nutritional value, milk, cheese, butter, Azores

Aos meus Pais e irmã.

AGRADECIMENTOS

Agradeço calorosamente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV, UTL) particularmente, às suas secções de Bioquímica e Nutrição Animal, as facilidades concedidas para a realização da parte experimental da presente dissertação de mestrado. Muito obrigado pelo acolhimento, apesar de não pertencer à “casa”, senti-me em casa.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa (FF, UL) em particular, a todos docentes do mestrado, pela sapiência, empenho e disponibilidade sempre demonstrada. Foi uma grande honra fazer parte desta grande instituição.

À Estação Zootécnica Nacional, ao Departamento de Nutrição pela disponibilização do cromatógrafo para a determinação do perfil de ácidos gordos em particular ao Dr. Rui Bessa e à Susana Alves.

Ao Professor Doutor. José António Mestre Prates, agradeço de um modo muito especial a orientação incondicional do presente trabalho, e expesso o meu sincero reconhecimento pelo empenho sempre demonstrado em reunir todas as condições para a sua realização, pelas sugestões e conselhos sempre pertinentes ao longo do trabalho e durante a leitura atenta desta dissertação. Agradeço ainda o seu grande profissionalismo, conhecimentos científicos que me transmitiu, dedicação, incentivo, disponibilidade, amizade e paciência que sempre demonstrou.

À Professora Doutora Matilde Fonseca e Castro, pela amizade, dedicação, disponibilidade e paciência sempre demonstrada ao longo deste trabalho. Obrigado pela leitura atenta da dissertação e por todos os conhecimentos científicos que me transmitiu, mas principalmente pelo gosto que me incutiu pela área dos compostos bioactivos presentes nos alimentos, desde as aulas em que tive o prazer de ser seu aluno.

À Susana Martins o meu muito OBRIGADO nem por isto nem por aquilo...por tudo! Obrigado pelas “dicas de laboratório”, pelo esclarecimento estatístico, informático, intercâmbio de alguma bibliografia, sugestões geniais a nível estético ao longo de todo o trabalho. Muito obrigado pela amizade, carinho, paciência, compreensão, prontidão, simpatia e boa disposição...que sempre dispensou.

À Paula Lopes, o meu muito muito obrigado pelos esclarecimentos informáticos, as imprescindíveis ideias e sugestões a nível estético, conselhos e incentivo. Agradeço ainda pela amizade, carinho, paciência, prontidão, simpatia e boa disposição sempre demonstrada.

À Cristina Alfaia, pela simpatia, boa disposição e disponibilidade, apoio técnico para a execução do trabalho experimental.

Ao Mário Quaresma, pelas “dicas laboratoriais”, opiniões e conselhos, pela simpatia e boa disposição expressa durante este trabalho.

À D^a Ana, agradeço a atenção dispensada e prontidão demonstrada em ter o material sempre disponível na realização do trabalho experimental.

À Teresa, Cristina, Benedita, Patrícia e Márcia, obrigado pelo café “desanuviador” ou apenas por uma palavra de incentivo.

A todos os meus amigos, em particular...todos! Obrigado pela amizade, boa disposição, companheirismo, simpatia, disponibilidade e apoio sempre demonstrado ao longo dos anos. Obrigado pelas noites fantásticas e pelas palavras de incentivo.

Aos meus Pais e à minha irmã pelo incessante apoio, carinho, força e incentivo demonstrado nos momentos mais difíceis e que foram imprescindíveis e fundamentais na motivação para a realização e conclusão do presente trabalho.

...e a todos os que a memória me atraiçoa mas a amizade não.

ÍNDICE GERAL	
ÍNDICE DE QUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
ÍNDICE DE SÍMBOLOS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. A importância da fracção lipídica do leite	3
2.2. Os lípidos na alimentação humana	6
2.2.1. <i>Ácidos gordos saturados</i>	8
2.2.2. <i>Ácidos gordos insaturado</i>	8
2.2.2.1. Ácidos gordos monoinsaturados	9
2.2.2.2. Ácidos gordos poli-insaturados	9
2.2.3. <i>Razão de PUFA n- 6/n- 3</i>	10
2.2.4. <i>Ácidos gordos trans</i>	12
2.2.5. <i>Isómeros conjugados do ácido linoleico</i>	13
2.2.5.1. Formação de alguns isómeros conjugados do ácido linoleico	15
2.2.6. <i>Colesterol</i>	18
2.2.7. <i>Rácios nutricionais da fracção lipídica</i>	19
2.2.7.1. Razão PUFA/SFA	20
2.2.7.2. Razão entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos	20
2.2.7.3. Razão PUFA n-6/n-3	21
2.2.7.4. Razão CLA/(SFA+CHR)	21
2.2.7.5. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade	22
2.2.8. <i>Vitaminas antioxidantes lipossolúveis</i>	22
2.2.8.1. Vitamina E	22
2.2.8.2. Vitamina A	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Amostragem	25

<i>3.1.1. Critérios de escolha do material de análise</i>	25
<i>3.1.2. Plano de amostragem e colheita de amostras</i>	26
<i>3.1.3. Acondicionamento e preparação das amostras para análise</i>	26
3.1.3.1. Material e equipamento	26
3.1.3.2. Procedimento técnico	27
<i>3.1.3.2.1. Leite</i>	27
<i>3.1.3.2.2. Queijo</i>	27
<i>3.1.3.2.3. Manteiga</i>	27
3.2. Determinação dos ácidos gordos constituintes da fracção lipídica	27
<i>3.2.1. Reagentes e soluções</i>	27
3.2.1.1. Extracção da gordura	27
3.2.1.2. Preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos	28
<i>3.2.2. Material e equipamento</i>	28
<i>3.2.3. Técnica analítica</i>	28
3.2.3.1. Extracção e transesterificação dos ácidos gordos	28
<i>3.2.3.1.1. Leite</i>	28
<i>3.2.3.1.2. Queijo</i>	29
<i>3.2.3.1.3. Manteiga</i>	29
3.2.3.2. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos ácidos gordos	30
<i>3.2.3.2.1. Cálculos</i>	30
3.3. Determinação do perfil de isómeros conjugados do ácido linoleico	31
<i>3.3.1. Material e equipamento</i>	31
<i>3.3.2. Reagentes e soluções</i>	31
<i>3.3.3. Técnica analítica</i>	31
<i>3.3.4. Cálculo e controlo do método</i>	32
3.4. Determinação simultânea do colesterol e de vitaminas E e A	32
<i>3.4.1. Reagentes químicos e soluções</i>	32
<i>3.4.2. Material e equipamento</i>	33
<i>3.4.3. Técnica analítica</i>	33
3.4.3.1. Técnica da saponificação e extracção do colesterol e vitaminas E e A	33
3.4.3.2. Determinação por HPLC em fase normal	34
3.4.3.3. Cálculos e controlo dos métodos	34

3.5. Avaliação nutricional da gordura de leites e produtos lácteos dos Açores	35
3.5.1. Índice PUFA n-6/n-3	35
3.5.2. Índice PUFA/SFA	35
3.5.3. Índice AG-h/AG-H	35
3.5.4. Índice de aterogenicidade	36
3.5.5. Índice de trombogenicidade	36
3.5.6. Índice CLA/(SFA + CHR)	36
3.6. Análise estatística	37
4. RESULTADOS	38
4.1. Teor de gordura total	38
4.1.1. Teor de gordura total das duas marcas comerciais de leite	38
4.1.2. Teor de gordura total das três marcas comerciais de queijo	38
4.1.3. Teor de gordura total das três marcas comerciais de manteiga	39
4.2. Perfil lipídico	40
4.2.1. Teores de ácidos gordos das duas marcas comerciais de leite	40
4.2.2. Teores de ácidos gordos das três marcas comerciais de queijo	43
4.2.3. Teores de ácidos gordos das três marcas comerciais de manteiga	47
4.3. Isómeros conjugados do ácido linoleico	51
4.3.1. Caracterização das duas marcas comerciais de leite	51
4.3.2. Caracterização das três marcas comerciais de queijo	53
4.3.3. Caracterização das três marcas comerciais de manteiga	55
4.4. Perfil de colesterol	57
4.4.1. Caracterização das duas marcas comerciais de leite	58
4.4.2. Caracterização das três marcas comerciais de queijo	58
4.4.3. Caracterização das três marcas comerciais de manteiga	58
4.5. Teor de vitaminas antioxidantes lipossolúveis	59
4.5.1. Caracterização das vitaminas A e E das duas marcas comerciais de leite	60
4.5.2. Caracterização das vitaminas A e E das três marcas comerciais de queijo	61

<i>4.5.3. Caracterização das vitaminas A e E das três marcas comerciais de manteiga</i>	63
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	65
5.1. Teor de gordura total	65
5.2. Caracterização da composição em ácidos gordos do leite e produtos lácteos dos Açores	66
<i>5.2.1. Ácidos gordos saturados</i>	66
<i>5.2.2. Ácidos gordos monoinsaturados</i>	70
<i>5.2.3. Ácidos gordos trans</i>	71
<i>5.2.4. Ácidos gordos poli-insaturados n-6 e n-3</i>	73
5.3. Avaliação dos parâmetros nutricionais	74
<i>5.3.1. Índice PUFA n-6/n-3</i>	74
<i>5.3.2. Índice PUFA/SFA</i>	76
<i>5.3.3. Índice AG-h/AG-H</i>	77
<i>5.3.4. Índice CLA/(SFA+CLA)</i>	78
<i>5.3.5. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade</i>	79
5.4. Isómeros conjugados do ácido linoleico	80
5.5. Teor de colesterol	86
5.6. Teor de vitaminas antioxidantes lipossolúveis	88
5.7. Estimativa do valor nutricional dos parâmetros analisados para o consumo <i>per capita</i> diário de leite, queijo e manteiga	90
5.8. Comparação dos principais parâmetros analisados com valores da literatura	93
6. CONCLUSÕES	97
6.1. Conclusões	97
6.2. Perspectivas Futuras	99
7. BIBLIOGRAFIA	100

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Composição nutricional do leite UHT meio-gordo, queijo e manteiga com sal (valores por 100 g de parte edível).	6
Quadro 2: Diferentes índices de avaliação nutricional.	20
Quadro 3: Plano de amostragem e colheita de amostras.	26
Quadro 4: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos nos dois leites (n=10).	42
Quadro 5: Valores médios (\pm DP) dos teores totais de colesterol, teores totais de SFA, somatórios parciais dos ácidos gordos, índices de avaliação nutricional na gordura do leite Nova Açores e Terra Nostra e recomendações nutricionais para a dieta humana.	43
Quadro 6: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos do queijo Loreto, Terra Nostra e Valformoso (n=10).	45
Quadro 7: Média (\pm DP) do teor de colesterol total, teor total de SFA, somatório parcial dos ácidos gordos, índices de avaliação nutricional na gordura dos queijos e recomendações nutricionais para a dieta humana.	47
Quadro 8: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos da manteiga Loreto, manteiga Milhafre dos Açores e manteiga Nova Açores (n=10).	49
Quadro 9: Média (\pm DP) do teor total de colesterol, teor total de SFA, somatório parcial dos ácidos gordos e índices de avaliação nutricional na gordura das manteigas e recomendações nutricionais para a dieta humana.	50
Quadro 10: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isómeros do CLA e teor total e específico do CLA, referente ao leite Nova Açores e leite Terra Nostra.	53
Quadro 11: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isómeros do CLA e teor total e específico do CLA referente aos três queijos.	55
Quadro 12: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isómeros do CLA e teor total e específico do CLA referente às três manteigas.	57
Quadro 13: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/ml leite) e colesterol específico (mg/g lípidos) do leite meio-gordo.	58
Quadro 14: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/g lípidos) e colesterol específico (mg/g lípidos) dos três queijos.	58
Quadro 15: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/g lípidos) e colesterol específico (mg/g lípidos) das três manteigas.	59

Quadro 16: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, α -tocoferol, ésteres de retinol e retinol livre presente no leite Terra Nostra e leite Nova Açores.	61
Quadro 17: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, tocoferóis, ésteres de retinol e retinol livre nos três queijos.	62
Quadro 18: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol na manteiga Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores.	64
Quadro 19: Estimativa de ingestão média diária da fracção lipídica e respectivos rácios nutricionais, referentes aos leites, queijos e manteigas dos Açores, Portugal Continental (P.Cont.) e Portugal Continental DOP (P.DOP).	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação estrutural do ácido linoleico (18:2n-6) (a), isómero CLA (c9,c11) (b) e isómero CLA (c10,c12) (c).	14
Figura 2: Principais vias metabólicas de formação dos isómeros do CLA no leite (adaptado de Collomb <i>et al.</i> , 2006).	16
Figura 3: Apresentação comercial dos leites Terra Nostra (a) e Nova Açores (b).	25
Figura 4: Apresentação comercial dos queijos: Terra Nostra (a), Loreto (b) e Valformoso (c).	25
Figura 5: Apresentação comercial das manteigas: Loreto (a), Nova Açores (b) e Milhafre dos Açores (c).	25
Figura 6: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total nas duas marcas comerciais de leite.	38
Figura 7: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total das três marcas comerciais de queijo estudadas.	39
Figura 8: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total das três marcas comerciais de manteiga.	39
Figura 9: Cromatograma típico do perfil de ácidos gordos dos leites, queijos e manteigas analisados.	40
Figura 10: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos dos dois leites.	41
Figura 11: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos dos três queijos.	44
Figura 12: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos das três manteigas analisadas.	48
Figura 13: Cromatograma típico do perfil de isómeros do CLA para uma amostra de queijo.	51
Figura 14: Média (\pm DP) dos teores relativos totais de isómeros do CLA nos leites.	52
Figura 15: Média (\pm DP) dos teores relativos de isómeros do CLA no leite Nova Açores e no leite Terra Nostra.	52
Figura 16: Média (\pm DP) dos teores relativos do total de isómeros do CLA dos três queijos.	54
Figura 17: Média (\pm DP) dos teores relativos de isómeros do CLA dos três queijos.	54

Figura 18: Média (\pm DP) dos teores relativos do total de isómeros do CLA das três manteigas.	56
Figura 19: Média (\pm DP) dos teores relativos de isómeros do CLA nas três manteigas.	56
Figura 20: Cromatograma típico de HPLC-UV do colesterol no leite, queijo e manteiga, com detecção a 202 nm.	57
Figura 21: Cromatograma típico de HPLC-UV do β -caroteno no leite, queijo e manteiga.	59
Figura 22: Cromatograma típico de algumas vitaminas lipossolúveis (A-TF, B-TF, G-TF e D-TF) no leite, queijo e manteiga analisados.	60
Figura 23: Cromatograma típico do palmitato de retinol (RtPt) e retinol livre (Rt) presentes no leite, queijo e manteiga.	60
Figura 24: Média (\pm DP) do teor específico de β -caroteno, α -tocoferol e ésteres de retinol no leite Terra Nostra e Leite Nova Açores.	61
Figura 25: Média (\pm DP) do teor específico do β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol nos três queijos.	62
Figura 26: Média (\pm DP) do teor específico do β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol na manteiga Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores.	63
Figura 27: Comparação dos principais parâmetros dos 2 tipos de leite com a literatura científica.	94
Figura 28: Comparação dos principais parâmetros dos 3 tipos de queijos com a literatura científica.	95
Figura 29: Comparação dos principais parâmetros dos 3 tipos de manteigas com a literatura científica.	96

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Algumas siglas estrangeiras, por terem uso corrente e generalizado por parte da Comunidade Científica Internacional e Nacional, não foram traduzidos para a língua Portuguesa, estando o seu significado escrito por extenso (entre parêntesis).

A-TF – Alfa – tocoferol

ADA – American Dietetic Association

AG – Ácidos gordos

ALA – Ácido α -linolénico (alpha – linolenic acid)

ANIL – Associação Nacional das Indústrias de Lacticínios

B-CT – Beta – caroteno

B-TF – Beta – tocoferol

CHR – Colesterol (cholesterol)

CLA – Isómeros conjugados do ácido linoleico (conjugated linoleic acid)

CRNI – Canadian Recommended Nutrient Intake

DCV – Doenças cardiovasculares

DH – Department of Health

DOP – Denominação de origem protegida

D-TF – Delta – tocoferol

FAME – Ésteres metílicos de ácidos gordos (fatty acid methyl esters)

FAO – Food and Agriculture Organization

G-TF – Gama – tocoferol

GC – Cromatografia gasosa (gas chromatography)

H – Hipercolesterolémico

h – Hipocolesterolémico

HDL – Lipoproteínas de alta densidade (high density lipoprotein)

HPLC – Cromatografia líquida de alta resolução (high-performance liquid chromatography)

IA – Índice de aterogenicidade (index of atherogenicity)

IMNAS - Institute of Medicine of the National Academies of Sciences

INE – Instituto Nacional de Estatística

ISO – Organização Internacional para a Padronização (International Organisation for Standardization)

IT – Índice de trombogenicidade (index of thrombogenicity)

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade (low density lipoprotein)

MUFA – Ácidos gordos monoinsaturados (monounsaturated fatty acids)

n.d. – Não detectado

NP – Norma Portuguesa

P – Probabilidade

PUFA – Ácidos gordos poli-insaturados (polyunsaturated fatty acids)

SFA – Ácidos gordos saturados (saturated fatty acids)

TFA – Ácidos gordos *trans* (*trans* fatty acids)

WHO – World Health Organization

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

A terminologia e os símbolos das grandezas e unidades físicas utilizadas estão de acordo com o estabelecido no Sistema Internacional de Unidades (SI) transposto para o direito nacional pelo “Diploma que Adopta em Portugal o Sistema Internacional de Unidades – SI) (Decreto-Lei nº 427/83 de 7 de Dezembro). Os símbolos dos elementos químicos seguem as recomendações da IUPAC.

cm – centímetro (submúltiplo do metro, m)

°C – grau Celsius / centígrado (unidade SI da grandeza temperatura)

kcal – quilocaloria (submúltiplo da caloria, cal)

kJ – quilojoule (submúltiplo do Joule, J)

g – grama (submúltiplo do quilograma, kg)

mg – miligrama (submúltiplo do quilograma, kg)

mg/g – miligrama por grama

mg/dl – miligrama por decilitro

nm – nanómetro (submúltiplo do metro, m)

rpm – rotação por minuto

µl – microlitro (submúltiplo do litro, l)

µg/g – micrograma por grama

**“ Que o teu alimento seja o teu medicamento e que o teu
medicamento seja o teu alimento”**

Hipócrates (460 - 377 a.c)

1. INTRODUÇÃO

As propriedades benéficas e prejudiciais da fracção lipídica dos alimentos, é um assunto que tem sido muito estudado nos últimos anos. Tal facto resulta da necessidade de dar a conhecer aos consumidores os principais teores da fracção lipídica, evidenciar quais os teores dos ácidos gordos com efeitos benéficos na saúde assim como identificar os que poderão potenciar situações de doença.

Num país com um consumo de leite e derivados *per capita* tão elevado, como é o caso de Portugal, a que acresce o défice de conhecimento dos produtos lácteos dos Açores, o conhecimento da fracção lipídica e da avaliação nutricional em diferentes produtos reveste-se da maior importância.

Os Açores, dadas as características edafo-climáticas existentes, permite a produção de pastagem chamadas “ervas de misturas” (uma associação de gramíneas e leguminosas), cuja preponderância em qualquer pasto é índice seguro de mais valia e permite a produção leiteira. A composição florística das pastagens, bem como a fase do seu desenvolvimento influenciam, também, os teores de alguns componentes bioactivos. Nos Açores, o gado pasta durante todos os meses do ano, alimentando-se, principalmente, de erva verde (fresca), enquanto, o gado do Continente permanece estabulado, durante cerca de seis meses, período durante o qual se alimenta de rações concentradas, silagens e fenos. Sabendo-se que os sistemas de exploração são responsáveis pelas variações da qualidade nutricional será importante avaliar as características lipídicas dos leites, queijos e manteigas dos Açores.

Segundo as estatísticas publicadas pela ANIL (Associação Nacional das Indústrias de Lacticínios, 2006) a transformação de leite de vaca produzido nos Açores em produtos lácteos apresentou a seguinte evolução entre os anos 2004 e 2005: leite líquido houve um aumento significativo de 65.797.000 litros (2004) para 74.652.000 litros em 2005; ocorreu o decréscimo pouco significativo na manteiga de 6.794 toneladas em 2004 para 6.568 toneladas em 2005 e quanto ao queijo aumentou de 26.077 toneladas para 27.229 toneladas.

Por todos os factores apresentados torna-se da maior importância realizar um estudo sobre as características dos produtos lácteos dos Açores.

O objectivo geral do presente trabalho consistiu em caracterizar a composição lipídica e a qualidade nutricional do leite e dos produtos lácteos dos Açores comercializados em Portugal.

Este estudo compreende assim a caracterização e a quantificação dos constituintes lipofílicos, bem como a avaliação de índices nutricionais com interesse na prevenção de estados

patológicos ou com possível desenvolvimento e estimar a ingestão da fracção lipídica dos três tipos de alimentos, recorrendo às tabelas da Balança Alimentar Portuguesa.

Os objectivos específicos consistiram na:

- a) Determinação do perfil qualitativo e quantitativo da fracção lipídica dos diferentes produtos (leite meio-gordo Terra Nostra e Nova Açores; queijo Valformoso, Terra Nostra e Loreto; e manteiga Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores);
- b) Determinação do perfil de ácidos gordos (família dos saturados, *trans*-monoinsaturados, *cis*-monoinsaturados, poli-insaturados n-3 e n-6) dos leites meio-gordo Terra Nostra e Nova Açores; queijos Valformoso, Terra Nostra e Loreto; e manteigas Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores;
- c) Determinação dos teores de gordura total, colesterol total e específico, dos mesmos produtos lácteos;
- d) Determinação dos perfis dos isómeros CLA (famílias *trans,trans*, *cis,trans*, *cis,cis*), dos mesmos produtos lácteos;
- e) Determinação do perfil de tocoferóis e tocotrienóis nas amostras em estudo;
- f) Comparação da qualidade nutricional da fracção lipídica dos referidos produtos lácteos, produzidos na mesma Ilha ou em Ilhas diferentes;
- g) Comparação da qualidade nutricional da fracção lipídica dos referidos produtos lácteos com produtos similares produzidos em Portugal Continental e noutros Países;
- h) Estimativa da ingestão de ácidos gordos fornecidos pelo leite, queijo e manteiga da região dos Açores, tendo por base tabelas da Balança Alimentar Portuguesa, assim como o impacto, em termos de saúde pública, que estes podem ter na População Portuguesa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A importância da fracção lipídica do leite

Durante muito tempo, a alimentação e a nutrição foram estudadas, quase exclusivamente, sob o ponto de vista da satisfação das necessidades energéticas. Hoje, outros desafios existem, como seja o de considerar o papel preventivo que uma alimentação saudável pode ter no que diz respeito a determinadas patologias. Com efeito, os factores de protecção fornecidos pelos alimentos são imensos, sobretudo no âmbito da prevenção das doenças crónico-degenerativas. Essencialmente nos países industrializados, os hábitos alimentares mudaram imenso sob a influência de diversos factores: modo de vida, técnicas agro-alimentares, publicidade e outros.

Uma enorme variedade de distúrbios e doenças tem sido atribuída a mudanças nos estilos de vida, dos quais a alimentação é factor fundamental. Cerca de 60% das doenças coronárias e uma percentagem importante de todos os cancros, situações de hipertensão, obesidade, osteoporose e outras ligadas a hábitos alimentares – patologias que poderiam ser prevenidas com base em alterações dietéticas.

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

De uma forma genérica, todos os alimentos são funcionais, pois todos proporcionam sabor, aroma e valor nutritivo. Durante a última década, tem-se verificado um interesse crescente por parte dos consumidores em relação a determinados componentes com actividade fisiológica / biológica para além dos nutrientes, veiculados por determinados alimentos e que acrescentam maior benefício para a saúde e bem-estar, facto que os conotou de alimentos desenhados, nutracêuticos e unanimemente de alimentos funcionais (Hasler, 1998). Considera-se alimento funcional aquele em relação ao qual se demonstrou, de forma satisfatória, que tem um efeito benéfico sobre determinadas funções do organismo, para além dos efeitos nutricionais habituais e que melhora o estado de saúde e bem-estar ou que reduz o risco duma doença (Carmo, 2004). A posição da American Dietetic Association (ADA, 1999), refere que os alimentos funcionais, incluindo os fortificados e os enriquecidos, têm um efeito potencialmente benéfico para a saúde,

quando consumidos regularmente e em níveis efectivos com parte integrante duma dieta variada.

O grande interesse em relação aos alimentos funcionais reside no binómio “alimentação-saúde” que é cada vez mais valorizado pela sociedade. A população toma consciência da importância da alimentação e da nutrição, como forma de obter um maior nível de saúde e bem-estar. Tem havido também um significativo desenvolvimento da inovação nutricional por parte da indústria alimentar, com valorização destes alimentos e com consequência aumento do número de vendas. Os alimentos funcionais têm despertado interesse pela comunidade científica que tem produzido inúmeros estudos com o intuito de comprovar a actuação de certos alimentos na prevenção de doenças. Entre os benefícios que os alimentos funcionais podem trazer para a saúde destacam-se (Cândido e Campos, 1995):

- a) Actividade anti-oxidante: componentes como flavonóides, vitamina E, vitamina C, carotenóides e outros; tendo a capacidade de prevenir ou retardar a formação de hidroperóxidos, que são responsáveis pelo envelhecimento acelerado e o desenvolvimento de doenças degenerativas;
- b) Ácidos gordos poli-insaturados (PUFA n-3 e n-6): desempenham um papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares e prevenção de doenças oncogénicas;
- c) Propriedades imunomodulatórias: componentes que aumentam a efectividade da acção do sistema imunitário face aos antigéneos, contribuindo também com os efeitos anti-tumorais.

Os produtos lácteos são comprovadamente alimentos funcionais (Prates e Mateus, 2002), não existindo dúvidas de que no leite, mais de uma centena de componentes endógenos presentes ou adicionados, exibem funcionalidade de saúde, estando os produtos lácteos envolvidos num grande número de funções fisiológicas (Brandão, 2002), destacando-se: imunologia passiva, modulação do sistema imunitário, protecção contra a osteoporose, hipertensão e neoplasias, inibição de bactérias indesejáveis, inactivação de toxinas, anti-inflamatório e anti-trombótico, actividade antioxidante, redução do nível de colesterol e redução de gordura nas células adiposas.

O leite na sua generalidade é um complexo sistema coloidal, que possui uma fase de gordura constituída por glóbulos de gordura em emulsão, correspondente a cerca de 3,5% a 4,7% (M/M) de gorduras, e uma fase aquosa que contém proteínas (80% na forma micelar), sais minerais, açúcares (lactose) e vitaminas hidrossolúveis. A fracção lipídica do leite é maioritariamente constituída por triacilgliceróis (95-96%) e inclui também, vitaminas lipossolúveis, pequenas porções de fosfolípidos (0,2-1%) e colesterol (0,25-0,45%) (German e

Dillard, 2006). A composição do leite varia com a dieta, raça, estado de lactação, idade e estado físico do animal (Jensen, 2002).

Os principais ácidos gordos distribuem-se pelas várias classes, sendo característico o elevado teor em ácidos gordos saturados, nomeadamente os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), mirístico (14:0) e butírico (4:0) (German e Dillard, 2006). Relativamente ao teor em ácidos gordos insaturados, destacam-se os ácidos oleico (18:1c9), linoleico (18:2n-6) e α -linolénico (18:3n-3) (Belitz e Grosch, 1999).

A gordura do leite é especialmente rica em isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA) (Parodi, 1977), constituindo o isómero *cis*-9,*trans*-11 cerca de 90% do total de isómeros do CLA (Chin *et al.*, 1992), o que lhe confere várias actividades biológicas entre as quais a actividade anti-cancerígena (Parodi, 1994). A gordura do leite constitui uma fonte de retinol, α -tocoferol (A-TF) e β -caroteno (B-CT) (Debiez *et al.*, 2005), possuindo todos estes compostos uma actividade biológica. O B-CT é fundamental no desenvolvimento fetal e na manutenção da visão (Carmo, 2004), o A-TF é um potente antioxidante, evita a oxidação dos ácidos gordos poli-insaturados (PUFA) e protege as membranas celulares e as lipoproteínas da oxidação (Bramley *et al.*, 2000). No queijo, os ácidos gordos libertados como consequência da lipólise especialmente os ácidos gordos de cadeia curta e média contribuem directamente para o *flavour* do queijo (Collins *et al.*, 2003). Os ácidos gordos também actuam em uma série de reacções catabólicas que conduzem à produção de compostos do sabor e aroma do queijo, tais como: metilcetonas, lactonas, ésteres, alcanos e álcoois secundários (Collins *et al.*, 2003). A matéria gorda influencia a textura, a cor e o rendimento queijeiro (Dumais *et al.*, 1992). A manteiga é constituída essencialmente por 80% de matéria gorda, contendo também vitaminas lipossolúveis (Boudreau *et al.*, 1992). No quadro nº 1 apresenta-se e realça-se a importância da fracção lipídica dos produtos lácteos.

Quadro 1: Composição nutricional do leite UHT meio-gordo, queijo e manteiga com sal (valores por 100 g de parte edível). Fonte: Tabela da composição de alimentos – INSA, 2006.

Nutrientes	Leite UHT Meio-gordo	Queijo Flamengo 45% Gordura	Manteiga com sal
Energia (kcal/kJ)	47 / 196	316 / 1323	739 / 3039
Água (g)	89,1	45,3	16,0
Proteína (g)	3,3	26,0	0,1
Gordura Total (g)	1,6	23,4	81,8
Total H. carbono disponíveis (g)	4,9	0,2	0,7
SFA (g)	0,9	12,6	46,3
MUFA (g)	0,4	6,0	18,9
PUFA (g)	0,0	0,9	2,4
TFA (g)	0,1	1,1	3,3
Ácido linoleico (g)	0,0	0,7	2,0
Colesterol (mg)	8	69	230
Vitamina A total (unidade equivalente a µg de retinol)	22	268	565
Caroteno (µg)	12	201	45
α-Tocoferol (mg)	0,030	0,44	2,0
Sódio (mg)	40	850	751
Cálcio (mg)	112	800	15
Fósforo (mg)	81	510	24

Havendo conhecimento dos potenciais efeitos dos componentes bioactivos com significado em termos de saúde, presentes em determinados alimentos, ditos funcionais, com particularizar importância no leite, queijo e manteiga, reveste-se de todo o interesse, o desenvolvimento de um estudo com o objectivo de avaliar em moldes comparativos, a qualidade nutricional da fracção lipídica do leite e produtos lácteos dos Açores.

2.2. Os lípidos na alimentação humana

As populações da América do Norte e dos países do Centro e Norte da Europa ingerem muito frequentemente mais de 40% das calorias sob a forma de gordura. As gorduras são substâncias de composição química extremamente variável e que têm a particularidade de serem insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos, como sucede com o éter e o clorofórmio. Na sua estrutura molecular encontram-se, quase exclusivamente, carbono, hidrogénio e oxigénio, apesar de existirem fórmulas químicas mais complexas (Breda, 2003). Os lípidos são derivados de ácidos gordos resultando da sua ligação com alcoóis, geralmente, por ligações éster. Os lípidos dividem-se em simples e complexos, conforme são, ou não, constituídos apenas por carbono, oxigénio e hidrogénio (Halpern, 1997). Nos lípidos simples as

suas classes mais importantes são os glicéridos, em que o álcool é o glicerol, e estéridos, em que o álcool é um esteroide (Halpern, 1997). Os lípidos complexos para além de carbono, oxigénio e hidrogénio, podem conter azoto, enxofre, fósforo e açúcares (Halpern, 1997). As gorduras são nutrientes altamente energéticos, sendo esta a sua principal função. A ingestão de lípidos é recomendada para além das necessidades de ácidos gordos essenciais, regista-se ainda que as gorduras são também importantes para transportar e absorver as vitaminas lipossolúveis (Breda, 2003).

Os ácidos gordos são a unidade estrutural das gorduras, formam e caracterizam os triacilgliceróis. Segundo o comprimento da cadeia hidrocarbonada, os ácidos gordos podem ser classificados em ácidos gordos de cadeia curta (4 a 6 átomos de carbono), de cadeia média (8 a 10 átomos de carbono) e de cadeia longa (12 ou mais átomos de carbono). A dimensão da cadeia de átomos de carbono determina, em muitas instâncias, as propriedades químicas, físicas e metabólicas do ácido gordo (Breda, 2003). Em muitos ácidos gordos, os átomos de carbono estão unidos por ligações simples: são os ácidos gordos saturados (SFA). No entanto, estas ligações entre os átomos de carbono podem ser duplas. Consequentemente, passam a chamar-se ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), se existir apenas uma dupla ligação, ou PUFA se existirem 2 ou mais duplas ligações (Breda, 2003).

Os ácidos gordos são nutrientes fundamentais à vida, sendo utilizados pelos organismos como fonte energética. Estão envolvidos directa ou indirectamente na regulação metabólica e na modulação imunitária, quer participando na regulação homeoviscosa das membranas celulares (Wahle, 1983; Spector e Yorek, 1985), quer servindo de precursores na síntese de eicosanóides (Mathias e Dupont, 1979), quer ainda como mensageiros químicos intracelulares. Demonstrou-se que também desempenham um papel na regulação da expressão de genes que codificam várias enzimas envolvidas no metabolismo dos lípidos e dos carboidratos (Sessler e Ntambi, 1998). Participam igualmente na regulação da diferenciação de diversos tipos celulares (Vanden, 1999).

Apesar de toda esta esfera de acção dos ácidos, as recomendações dietéticas no que respeita à ingestão de gorduras são fortemente condicionadas pela sua associação com as doenças cardiovasculares (Bessa, 1999). Tem sido acumulada informação que permite imputar a maior parte do risco cardiovascular relacionado com os lípidos à presença de um elevado número de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) de pequena dimensão e de densidade aumentada e não ao seu conteúdo em colesterol (Griffin, 1999). Os ácidos gordos alteram as concentrações de LDL, através do metabolismo hepático das LDL via regulação da quantidade e actividade dos receptores hepáticos que permitem a sua remoção e metabolização (Dietschy,

1998). Os efeitos de cada ácido gordo neste sistema parece depender da quantidade de colesterol ingerido (Dietschy *et al.*, 1993).

O ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1*trans*-9) e os ácidos gordos de cadeia curta e média até C10 parecem ser inertes neste sistema; os ácidos 12:0, 14:0 e 16:0 podem ser considerados hipercolesterémicos; o ácido oleico, linoleico e linolênico aumentam o número de receptores hepáticos para a LDL e reduzem a sua produção, reduzindo assim as LDL circulantes. O ácido esteárico (18:0) que representa entre 10 a 20% das gorduras produzidas pelos ruminantes, não se mostrou colesterémico em numerosos estudos. Por outro lado as propriedades anticolesterémicas dos ácidos monoinsaturados são provavelmente devidas apenas ao ácido oleico (18:1*cis*-9) já que ácidos gordos monoinsaturados como os ácidos elaídico (18:1*trans*-9), palmitoleico (16:1*cis*-9) e miristoleico (14:1*cis*-9) não partilham das mesmas propriedades (Nestel *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 1996; Watts *et al.*, 1996; Khosla *et al.*, 1997).

2.2.1. Ácidos gordos saturados

Os SFA abundam nos lípidos de origem animal, principalmente nos ruminantes (Breda, 2003). Correspondem à fórmula geral $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, em que n varia de 4 a 22 átomos de carbono, sendo possuidores da desinência (anóico). Os de cadeia curta, com menos de 10 átomos de carbono, são líquidos à temperatura ambiente e voláteis, enquanto os de cadeia média e longa são sólidos, fundindo a temperaturas que vão progressivamente de 31,2 a 84,2 °C, conforme o número de átomos de carbono e são estáveis à oxidação (Ferreira, 1983).

Estudos epidemiológicos (Kromhout *et al.*, 1995; Kromhout *et al.*, 2001) e clínicos (Hu *et al.*, 2000) têm demonstrado que a ingestão de gorduras saturadas está associada com o aumento do risco de doenças cardiovasculares. No entanto, são os SFA com 12 a 16 átomos de carbono (C12 a C16) que parecem ser os maiores responsáveis pelo aumento da concentração das formas prejudiciais de colesterol no sangue (colesterol total e LDL - colesterol), bem como a razão LDL: HDL (Chizzolini *et al.*, 1999).

2.2.2. Ácidos gordos insaturados

Um ácido gordo com duplas ligações designa-se insaturado. Se um ácido gordo tem apenas uma dupla ligação, diz-se monoinsaturado e, se tem mais que uma dupla ligação, diz-se poli-insaturados. As duplas ligações distam entre si sempre 3 átomos de carbono (Halpern,

1997). As duplas ligações permitem a existência de isómeros, as isomerias de posição devem-se a variações na localização de duplas ligações. Se os radicais estão no mesmo plano de simetria, os isómeros designam-se por *cis* e, se não estão, por *trans* (Halpern, 1997). Os ácidos gordos insaturados encontram-se, geralmente, na Natureza sob a forma *cis*. É o que acontece com os ácidos oleico, linoleico e araquidónico, entre outros. Contudo, por acção de agentes físicos, nomeadamente do calor, pode produzir-se uma isomerização estereoquímica, passando o ácido gordo para a configuração *trans* (Breda, 2003). As formas *trans* comportam-se bioquimicamente de maneira muito diferente das formas *cis*, provocando uma perda de propriedades dos ácidos gordos insaturados, que se tornam, neste caso, também lesivos para a saúde (Breda, 2003).

2.2.2.1. Ácidos gordos monoinsaturados

O ácido oleico (18:1c9) é o ácido gordo monoinsaturado mais abundante na Natureza, representando cerca de 40% das gorduras alimentares, sendo acompanhado nas gorduras vegetais e sobretudo nas gorduras de animais marinhos de um homólogo do ácido palmítico, o ácido palmitoleico, com 16 átomos de carbono. O consumo elevado de ácido oleico diminui o nível do LDL – colesterol comparativamente com deitas contendo baixo teor de ácido oleico, ao passo que o nível HDL – colesterol não foi afectado significativamente (Mattson e Grundy, 1985; Mensink e Katan, 1989; Berry *et al.*, 1991; Chan *et al.*, 1991; Mata *et al.*, 1992; Valsta *et al.*, 1992; Katan *et al.*, 1994; Zock, 1995, citados por Molquentin, 2000).

2.2.2.2. Ácidos gordos poli-insaturados

O número de duplas ligações dos PUFA é variável (2,3,4,5 ou superior), sendo a forma *cis* a predominante (Ferreira, 1983). Os ácidos gordos essenciais são ácidos gordos poli-insaturados que não podem ser sintetizados pelo organismo humano: os ácidos linoleico, α -linolénico e araquidónico (Breda, 2003). O ácido linoleico tem importantes funções, fundamentalmente na síntese de prostaglandinas. Este ácido abunda em óleos de sementes (milho, girassol e soja) e noutros alimentos vegetais (Breda, 2003). O ácido α -linolénico é muito importante para a formação de estruturas celulares do sistema nervoso, podendo (a partir dele) sintetizar-se ácidos gordos n-3, fundamentais para o organismo, pela sua acção protectora cardiovascular, e que também abundam nos peixes gordos (Breda, 2003).

2.2.3. Razão de PUFA n-6/n-3

O ácido linoleico (18:2n-6) e o α -linolénico (18:3n-3) constituem duas famílias de PUFA, consideradas essenciais, pelo que deverão ser obrigatoriamente ingeridos com a dieta (Gurr, 1996).

Os PUFA n-6 e n-3 são sintetizados apenas pelas plantas e fitoplâncton, não sendo possível nos animais a conversão metabólica entre as duas famílias destes ácidos gordos (Simopoulos, 2000; Prates e Mateus, 2002). Integram os lípidos das membranas celulares, sendo a composição em PUFA das membranas fortemente dependente da dieta. Estão, ainda, envolvidos directa ou indirectamente na regulação metabólica e na modulação imunitária, bem como na regulação homeoviscosa das membranas celulares. Actuam como precursores na síntese de eicosanóides e como mensageiros químicos intracelulares (Bessa, 1999; Simopoulos, 2000). Demonstrou-se que também desempenham um papel na regulação da expressão de genes que codificam várias enzimas envolvidas no metabolismo dos lípidos e carboidratos (Bessa, 1999). Adicionalmente, foi descrito que o ácido linoleico pode reduzir o LDL – colesterol, embora alguns estudos refiram que este ácido também promove uma pequena redução dos níveis de HDL – colesterol.

Estudos mais recentes sugerem que os PUFA presentes nos triacilgliceróis podem exercer um efeito aterosclerótico, devido à sua fácil oxidação, uma vez que os compostos resultantes desta oxidação são citotóxicos, podendo contribuir para o desenvolvimento de tumores malignos. Em estudos animais, o consumo de ácido linoleico foi positivamente correlacionado com a promoção tumoral, contrariamente a alguns PUFA n-3 (Molkentin, 2000). No entanto, na gordura do leite, estas questões são minimizadas, uma vez que o conteúdo da sua gordura em PUFA é baixo, relativamente a outro tipo de gorduras, como por exemplo, as gorduras vegetais (Molkentin, 2000).

Nos últimos anos a importância da ingestão de PUFA, quer da família n-3, quer da família n-6 foi compreendida. Dietas ricas em PUFA n-3 inibem a conversão do ácido linoleico, por inibição da $\Delta 6$ – desaturase, diminuindo o conteúdo em ácido araquidónico dos lípidos séricos e fosfolípidos microsossomiais hepáticos. Este facto assume importância porque, aqueles ao serem fornecidos pela dieta induzem naturalmente a inibição da síntese de ácido araquidónico (Moreira *et al.*, 2000). De facto, os ácidos linoleico e α -linolénico competem para a desaturação inicial, catalizada pela $\Delta 6$ – desaturase, o que torna importante a proporção entre estes ácidos (n-6/n-3). Dietas enriquecidas apenas em ácido linoleico não preveniram a incidência de doenças cardiovasculares. A justificação pode prender-se com o efeito deste ácido

gordo no aumento da reactividade das plaquetas, que desempenham um papel central na trombogénese. Os PUFA n-3, pelo contrário, reduzem eficazmente a reactividade das plaquetas (Bessa, 1999).

O aumento da razão PUFA n-6/PUFA n-3 na dieta pode originar um estado fisiológico promotor de doenças cardiovasculares e de cancro. De acordo com as evidências, a dieta ocidental apresenta quantidade insuficiente de PUFA n-3 (Simopoulos, 2000). O papel protector dos ácidos gordos n-3 nas doenças cardiovasculares (DCV) foi sugerido pela primeira vez por Bang e Dyerberg (1972), com base na observação de que os esquimós tinham baixas taxas destas doenças, apesar da sua dieta conter elevado teor de gordura.

A protecção das DCV pelos PUFA n-3 e o seu favorecimento pelos PUFA n-6 parece estar relacionado com a sua capacidade de biossíntese diferencial de eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas) (Simopoulos, 2000). Os eicosanóides formados a partir dos PUFA n-6 (ex: prostaglandina E₂, tromboxano A₂ e leucotrieno B₄) são biologicamente mais activos do que os biossintetizados a partir dos PUFA n-3 (ex: prostaglandina I₃, tromboxano A₃ e leucotrieno B₅). Quando formados em grande quantidade, os eicosanóides derivados dos PUFA n-6 podem contribuir para a formação de trombos e de ateromas, para o desenvolvimento de problemas alérgicos e inflamatórios, e ainda proliferação celular. Razões pelas quais, uma dieta rica em ácidos gordos n-6 pode originarem um estado pró-trombótico, pró-inflamatório e vasoconstritivo (razão óptima n-6/n-3 de 1-2/1).

Novos estudos revelaram que não poderá existir apenas uma razão óptima n-6/n-3, mas sim várias, uma vez que as doenças crónicas possuem um carácter multigénico e multifuncional. Por exemplo, na prevenção secundária das doenças cardiovasculares, uma razão de 4/1 foi associada com a redução de 70% da mortalidade total. Também a razão 2,5/1 demonstrou ser capaz de reduzir a proliferação celular em doentes com cancro colorectal, assim como a razão 2-3/1, provou ser eficaz na redução inflamatória em doentes com artrite reumatóide. Em doenças asmáticas, a razão n-6/n-3 que demonstrou maior eficácia, foi de 5/1 (Simopoulos, 2002).

Os resultados das investigações dos últimos 15 anos concluíram inequivocamente que a razão n-6/n-3 é muito alta na dieta dos países ocidentais; por sua vez tem sido reconhecido, por diversas organizações de saúde a nível mundial, que os PUFA deverão formar pelo menos 3% e preferivelmente 8-23% do total de lípidos ingeridos; os valores da razão n-6/n-3 deverão situar-se segundo a indicação de algumas organizações de saúde, entre 5 e 10 (FAO-WHO, 1994), <4 (DH-UK, 1994), 1 e 2 (NIH-EUA, 1999).

2.2.4. Ácidos gordos *trans*

A generalidade dos ácidos gordos que integram a dieta, possuem na sua estrutura molecular pelo menos uma dupla ligação, sendo a forma habitual destas ligações (C=C) a configuração *cis*, estando tipicamente posicionadas nos carbonos 3, 6 e 9 do grupo metilo terminal como por exemplo o ácido oleico (18:2c9) ou o ácido linoleico (18:2c9c12). Contudo alguns ácidos gordos têm uma ou mais duplas ligações na configuração *trans*, sendo assim designados ácidos gordos *trans* (TFA) (Fritsche e Steinhart, 1998).

Os TFA à semelhança do ácido linoleico conjugado apresentam-se como intermediários dos processos de biohidrogenação que ocorrem no rúmen dos ruminantes, sendo resultantes da fermentação bacteriana dos ácidos gordos insaturados, veiculados pela dieta (Fritsche e Steinhart, 1997). O primeiro passo desta biohidrogenação é a isomerização do ácido linoleico a 18:2 c9t11, catalizado pela acção das enzimas bacterianas do *Butyrivibrio fibrisolvens*; estes intermediários são então hidrogenados para formar principalmente uma mistura de ácido *trans* vaccénico 18:1n-11 *trans* e ácido eláidico 18:1n-9 *trans* (Kepler *et al.*, 1966), sendo predominante o isómero $\Delta 11$ do ácido *trans* vaccénico (Parodi, 1976; Chen *et al.*, 1995; Wolff, 1995 citados por Aro *et al.*, 1998); de igual forma são formadas pequenas quantidades de 16:1 *trans* monoenoico e isómeros *trans* de 18:2 (Renner e Yoon, 1982; Pfalzgraf *et al.*, 1993; Precht, 1995 citados por Aro *et al.*, 1998). Como resultado deste processo de biohidrogenação, a gordura dos ruminantes, nomeadamente, manteiga, queijo, leite e carne contém aproximadamente 2 a 8% de TFA (Pfalzgraf *et al.*, 1994). Os TFA também são formados em quantidades variáveis durante a hidrogenação industrial de óleos de peixe e de óleos vegetais, a qual é realizada para conferir estabilidade oxidativa e térmica a óleos fortemente insaturados (Fritsche e Steinhart, 1998).

A concentração de TFA no leite e gordura dos ruminantes apresenta variação sazonal, verificando-se as mais elevadas concentrações durante a época das pastagens e níveis mais baixos durante o período de estabulação (Renner e Yoon, 1982; Precht, 1995; Precht e Molkentin, 1995 citados por Aro *et al.*, 1998). A razão para uma ampla variação do teor de TFA nos produtos lácteos deve-se os parâmetros de processamento tais como a pasteurização. A influência da fermentação no teor de TFA em iogurtes e queijos é também possível (Fritsche e Steinhart, 1998). A concentração TFA no leite está relacionado com a concentração de ácido oleico e mostra uma relação inversa com os teores de ácidos gordos saturados (Aro *et al.*, 1998). Elevada ingestão de TFA aumenta a concentração ácido linoleico, diminui a proporção do ácido α -linolénico e aumenta a razão PUFA n-6/n-3 (German e Dillard, 2006).

A partir da década de 90, através de estudos epidemiológicos, tem aumentado o conceito a nível de saúde pública, de que os TFA aumentam o risco de doenças coronárias (Willet *et al.*, 1993). Estudos clínicos puderam verificar que a ingestão elevada de TFA aumenta a nível plasmático o colesterol total e as LDL e diminuem as HDL, contribuindo para o aumento do risco das doenças coronárias (Troisi *et al.*, 1992).

2.2.5. Isómeros conjugados do ácido linoleico

O CLA refere-se a uma mistura de isómeros do ácido octadecadienóico com duplas ligações conjugadas, ou seja, os ácidos octadecadienóicos conjugados são isómeros geométricos e posicionais do ácido linoleico (18:2n-6) (Pariza *et al.*, 2000). Estes isómeros caracterizam-se por possuírem uma cadeia carbonada onde as duas duplas ligações são separadas por uma ligação carbono-carbono, ao contrário da situação mais comum em que as duplas ligações são interrompidas por um grupo metílico (Bessa, 1999). As formas isoméricas do CLA apresentam as duplas ligações conjugadas nas posições 7,9; 8,10; 9,11; 10,12 ou 11,13 ao longo da cadeia de 18 átomos de carbono (Pariza *et al.*, 2000). Cada uma delas pode ocorrer em uma ou mais das quatro configurações geométricas: *cis-trans*, *trans-cis*, *trans-trans* e *cis-cis* (Bessa *et al.*, 2000).

De todos os isómeros do CLA, o ácido octadecadienóico *cis9, trans11* (18:2c9,t11) e o ácido octadecadienóico *trans10,cis12* (18:2t10,c12) (Figura 1) são aqueles que estão descritos até ao momento que possuem actividade biológica (Pariza *et al.*, 2001), contudo *cis9,trans11* seja aquele que é predominantemente encontrado em humanos e animais (Parodi, 1977; Chin *et al.*, 1992). É considerado como sendo o principal responsável pela actividade biológica (Parodi, 1994), por ser o que mais extensamente é incorporado nos fosfolípidos (Ha *et al.*, 1990). A este isómero foi dado o nome comum de ácido ruménico (Kramer *et al.*, 1998).

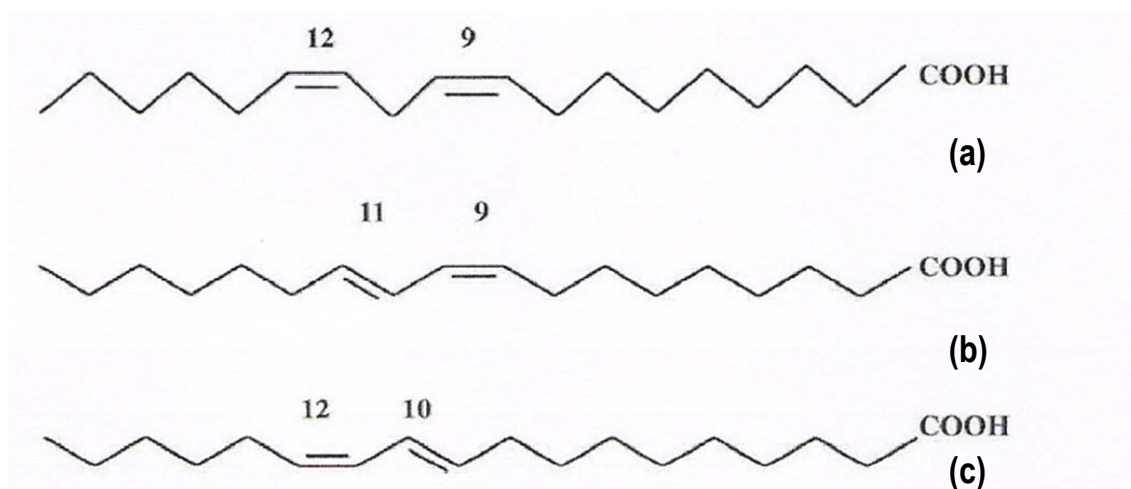


Figura 1: Representação estrutural do ácido linoleico (18:2n-6) (a), isómero CLA (c9,t11) (b) e isómero CLA (t10,c12) (c).

O CLA está presente principalmente em alimentos de origem animal, sendo produzido a partir dos ácidos gordos poli-insaturados pelos microrganismos do rúmen durante a biohidrogenação (Kepler *et al.*, 1966), o que origina que a gordura dos ruminantes apresente maior conteúdo de CLA do que aquela dos monogástricos.

O isómero *cis*9,*trans*11 representa 90% do total dos isómeros do CLA no leite, produtos lácteos, carne e produtos cárneos de origem ruminante (Chin *et al.*, 1993; Pariza *et al.*, 2000). Bauman *et al.* (2000) referem que a manteiga contém 76,5% do isómero *cis*9,*trans*11 e 6,7% do isómero *cis*7,*trans*9. Sehat *et al.* (1998) identificaram os isómeros presentes na gordura do queijo: *cis*9,*trans*11 (78 a 84%); *trans*7,*cis*9 + *trans*8,*cis*10 (8 a 13%), *trans*11,*cis*13 (1 a 2%) e *cis*12,*trans*14 (< 1%). O conteúdo de CLA em produtos lácteos é influenciado por vários factores: raça, espécie, idade do animal, tipo de alimentação, estação do ano, sistema de produção (Jahreis *et al.*, 1996; Jahreis *et al.*, 1999) e altitude (Collomb *et al.*, 2002; Sieber *et al.*, 2004). O teor total de CLA em leites e produtos lácteos varia entre 0,34-1,07% do total da gordura (Dhiman *et al.*, 2005).

O efeito das condições de processamento, “starters” microbianos e condições de armazenagem têm sido estudados para avaliar o conteúdo de CLA. No leite pasteurizado a 68 °C durante 30 minutos não ocorreu alteração do teor de CLA (Baer *et al.*, 2001). Shantha *et al.* (1992) sugere que durante o fabrico de queijos processados ocorre formação de CLA. O conteúdo de CLA na manteiga processada entre 7 a 11 °C aumentou de 0,63% comparado com 0,50% da gordura do leite inicial (Shantha *et al.*, 1995). Tem sido sugerido que a actividade de “starters” microbianos possa ser outro factor que contribua na variação do CLA nos produtos lácteos (Lin *et al.*, 1995). Armazenagem de iogurte, natas, manteiga e gelados a 4 °C durante 6

semanas e queijos (Mozzarella e Cheddar) durante 32 semanas não alterou o teor de CLA (Shantha *et al.*, 1995; Boylston e Belitz, 2002).

O ácido ruménico constituiu um agente intermediário da biohidrogenação do ácido linoleico através da actividade da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*. A isomerização inicial é seguida pela saturação da dupla *cis*-9 (Hughes *et al.*, 1982) resultando na produção de ácido *trans* vaccénico (18:1 *trans*-11), o mais significativo isómero *trans* presente nas gorduras de produtos alimentares dos ruminantes (carne e produtos lácteos). Após a absorção intestinal do ácido *trans* vaccénico (18:1 *trans*-11), este pode ser convertido no isómero *cis*9,*trans*11 pela acção da enzima $\Delta 9$ – desaturase ao nível das células da glândula mamária dos ruminantes (Pollard *et al.*, 1980; Holman e Mahfouz, 1981). De facto, no leite e produtos lácteos foi descrita uma elevada correlação linear entre o principal isómero do CLA (18:2*cis*9,*t*12) e o ácido *trans* vaccénico (18:1 *trans*-11), o que sustenta a inter-relação da sua biosíntese (Fritsche *et al.*, 1999). Pequenas quantidades de CLA podem ser produzidas pela auto-oxidação do ácido linoleico na presença de proteínas e singletos de oxigénio (Fritsche *et al.*, 1999; Jahreis e Kraft, 2002).

2.2.5.1 Formação de alguns isómeros conjugados do ácido linoleico

O ácido linoleico (18:2*cis*9,*cis*12) (Figura 2) é primeiro isomerizado a *cis*9,*trans*11 pela *cis*12,*trans*11 isomerase e hidrogenada pela *Butyrivibrio fibrisolvens* em ácido vaccénico (18:1 *trans* -11) no rúmen (Kepler e Tove, 1967). A hidrogenação do ácido vaccénico a ácido esteárico parece envolver um diferente grupo de organismos e ocorre a uma taxa reduzida (Griinari *et al.*, 1997). Por esta razão, o ácido vaccénico acumula-se no rúmen. Este principal ácido gordo *trans* é responsável pela formação do isómero do CLA *cis*9,*trans*11, ao qual ocorre pela acção da $\Delta 9$ – desaturase nos tecidos (Piperova *et al.*, 2002). Outra via para a formação do CLA *cis*9,*trans*11 ocorre a partir do ácido α -linolénico (18:3*cis*-9,*cis*-12,*cis*-15) no rúmen, envolve inicialmente a isomerização do conjugado triéno (18:3*cis*-9,*trans*-11,*cis*-15), seguido pela redução na dupla ligação no carbono 9,15 e 11 para formar o 18:2 *trans*-11,*cis*-15, 18:1 *trans*-11 e 18:0 (ácido esteárico), respectivamente, mas não *cis*-9,*trans*-11 (Kraft *et al.*, 2003). O ácido α -linolénico é um precursor indirecto do *trans*-11,*cis*-13, mas a via da passagem *trans*-11,*cis*-15 a *trans*-11,*cis*-13 não está definida. No rúmen, ácido oleico é isomerizado para 18:1 *trans* com duplas ligações na cadeia entre o carbono 6 e 16 ou é hidrogenado directamente a ácido esteárico (Mosley *et al.*, 2002). Corl *et al.* (2002) demonstrou que o *trans*-7,*cis*-9 na gordura do leite é originado quase exclusivamente pela via de síntese endógena catalisada pela $\Delta 9$ – desaturase.

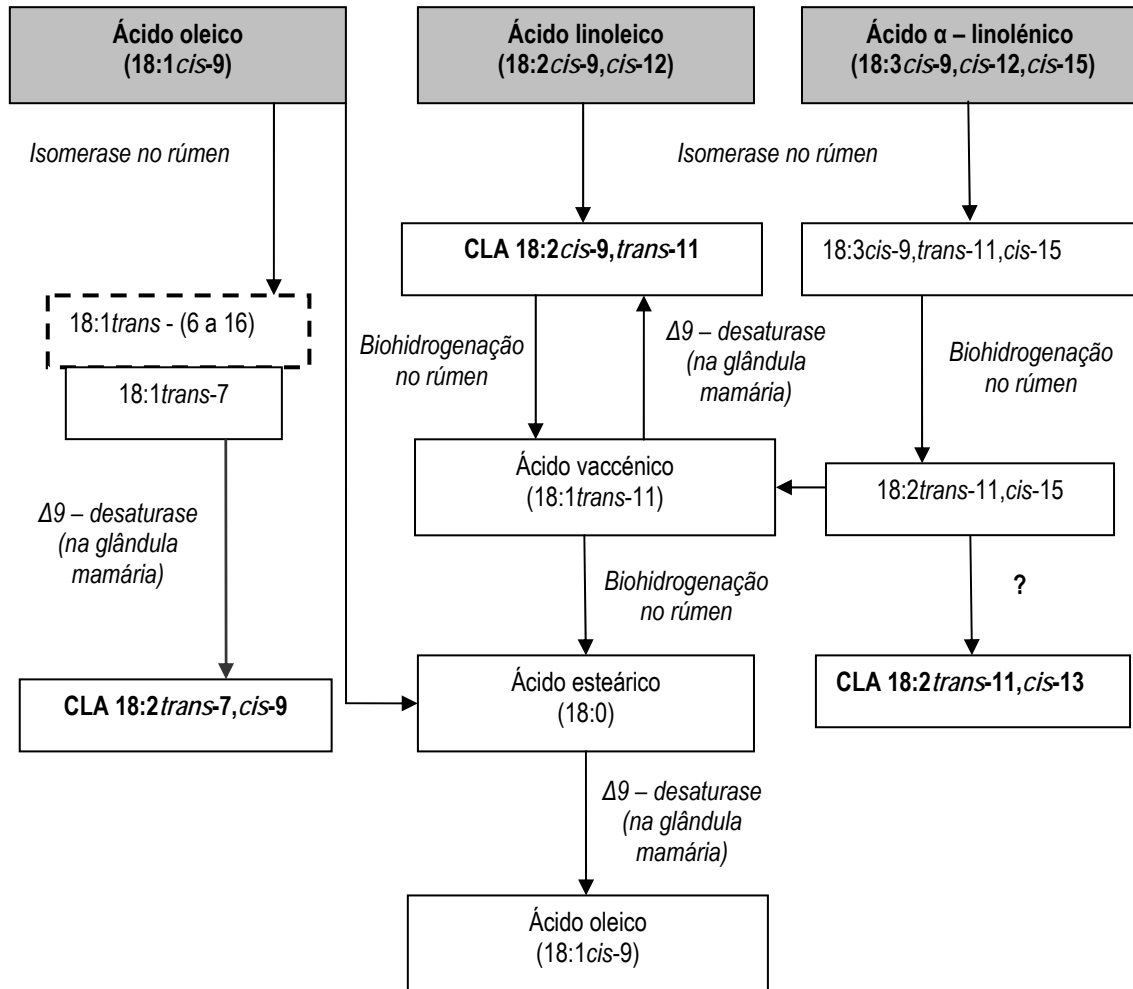


Figura 2: Principais vias metabólicas de formação dos isômeros do CLA no leite (adaptado de Collomb *et al.*, 2006).

O interesse da comunidade científica pelo CLA deve-se à descoberta acidental da actividade anticarcinogénica de extractos de carne bovina grelhada, a partir dos quais Ha e colaboradores (1987) isolaram os isômeros do CLA, para os quais verificaram serem os responsáveis por acção anticarcinogénica (Pariza e Hargraves, 1985). Os efeitos biológicos do CLA são variados e encontram-se actualmente sob intenso estudo. Foi possível demonstrar que o CLA inibe a carcinogénese química induzida, nomeadamente em modelos de carcinoma da epiderme (Ha *et al.*, 1987; Belury *et al.*, 1996), mamário (Ip *et al.*, 1991; Thompson *et al.*, 1997) e gastrointestinal (Ha *et al.*, 1990; Liew *et al.*, 1995). De facto, o CLA suprime de forma efectiva tumores do estômago no murganho, tumores do cólon no rato, assim como, a carcinogénese mamária (Bessa *et al.*, 2000). Estudos *in vitro*, a concentrações fisiológicas de CLA, inibiram a proliferação de várias linhagens de células cancerígenas humanas (Shultz *et al.*, 1992a,b; Schonberg e Krokan, 1995). Este efeito do CLA depende da dose, desde um nível de inclusão na

dieta 0,1% até 1% (Ip *et al.*, 1994). O CLA participa na modulação do sistema imunitário, desempenhando efeitos positivos ao nível da resposta linfocitária e macrofágica (Chew *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 1997). O CLA poderá ainda atenuar as reacções alérgicas induzidas pelos alimentos (Sugano *et al.*, 1998).

Em estudos animais, o CLA reduziu os efeitos catabólicos na musculatura esquelética de galinhas, ratos e ratinhos após estimulação imunitária, sem comprometer a eficácia desta resposta (Cook *et al.*, 1993; Miller *et al.*, 1994). O mecanismo proposto para explicar esta acção, envolve a redução da síntese de prostagladina E₂. O efeito inibitório do CLA sobre a prostagladina E₂ foi confirmado em vários tecidos em condições experimentais (Sugano *et al.*, 1997; Li e Watkins, 1998; Liu e Belury, 1998). Alguns estudos têm sugerido que o CLA é também capaz de modificar a composição corporal, parecendo desempenhar um papel importante como agente redutor de peso. De facto, murganhos alimentados com uma dieta suplementada com 0,5% de CLA reduziram a gordura corporal e aumentaram a massa corporal magra, relativamente a animais controlo. Resultados semelhantes foram obtidos também em humanos. Estes efeitos de emagrecimento são possivelmente mediados pela diminuição da deposição de gordura e pelo aumento da lipólise nos adipócitos (Bessa *et al.*, 2000; Prates e Mateus, 2002).

Segundo Lee *et al.* (1994), coelhos alimentados com uma dieta suplementada com CLA, apresentaram diminuição das LDL – colesterol plasmático sem haver variação na HDL – colesterol; Kritchevsky (1999), utilizando o mesmo modelo animal, demonstrou que coelhos alimentados com uma dieta suplementada com CLA, após terem desenvolvido lesões ateroscleróticas, viram as suas lesões regredir em cerca de 30%. Ip *et al.* (1994) estimaram, por extrapolação directa dos estudos com ratos, que uma ingestão de 3 g/dia de CLA para um homem de 70 Kg seria já eficaz, valor que se encontra acima de 1 g/dia, que foi o valor estimado por Ha *et al.* (1989) como o consumo *per capita* nos EUA (Estados Unidos da América). Bessa (1999) utilizou os cálculos efectuados por Wolff (1994 e 1995) para estimar a ingestão de ácidos *trans*-octadecenoicos e alargou à ingestão de CLA, encontrando um valor médio de 0,22 g/dia. No entanto, estas estimativas poderão estar subvalorizadas, uma vez que Fritsche e Steinhart (1998a) analisaram extensivamente os alimentos comercializados na Alemanha, estimando uma ingestão de 0,35 g CLA/dia para as mulheres e 0,43 g CLA/dia para os homens, valores superiores a 0,24 g/dia que Bessa (1999) estimou também para a Alemanha. No entanto, nos estudos de Bessa (1999) apenas foram incluídos os alimentos provenientes de ruminantes considerando que os outros alimentos pouco contribuem para a fonte de CLA. A publicação da estimativa de ingestão de CLA apresenta uma grande diferença entre populações. As razões propostas por Jahreis e Kraft (2002) são: o teor de CLA nos produtos lácteos depende de vários

factores e varia entre Países. Na generalidade o conteúdo em CLA do leite e carne nos EUA é baixo, enquanto na Austrália e Nova Zelândia é elevado. Na Europa, teores de CLA elevados foram encontrados em produtos lácteos nomeadamente na Irlanda (principalmente pastagem) e durante o período de Verão nas terras altas dos Alpes. Estes são os Países com elevada ingestão de gordura do leite juntamente com a Alemanha. A variável que condiciona a estimativa é a ingestão individual de alimentos (Jahreis e Kraft, 2002).

Apesar da diversidade dos potenciais efeitos biológicos do CLA, registados maioritariamente em estudos com animais e da investigação em humanos ser menor, a contínua pesquisa servirá de base à compreensão dos mecanismos envolvidos nas diversas respostas biológicas, tanto na globalidade do CLA, como na diferenciação da actividade e efeito de cada um dos seus isómeros.

2.2.6. Colesterol

O colesterol (CHR) é o mais importante dos esteróis animais, sendo um álcool que pode ser esterificado; apresenta uma estrutura cíclica juntamente com uma estrutura alifática lateral e possui ao todo 27 átomos de carbono com uma dupla ligação em C5-C6 e uma função álcool no C3 hidroxilo, pelo qual pode esterificar o carboxilo dos ácidos gordos. Encontra-se em circulação, na forma livre ou na forma esterificada, sendo abundante nas lipoproteínas das membranas celulares e dos organitos activos (Ferreira, 1983).

As funções do colesterol são muito variadas: é um precursor das hormonas esteróides sintetizadas pelas glândulas supra-renais e pelas gónadas (testículos e ovários) e é ainda componente da membrana das células, podendo ser sintetizado pelo fígado (colesterol endógeno) (Breda, 2003).

O colesterol encontra-se em circulação nas lipoproteínas plasmáticas do sangue. Os seus valores excessivamente elevados estão relacionados com a aterosclerose e com as doenças cardiovasculares (Breda, 2003).

Todos os alimentos de origem animal contêm colesterol, alguns em concentrações elevadas (gemas de ovo), outros em quantidades médias (carne de vaca) ou baixas (leite gordo) (Breda, 2003).

O conceito de que o CHR da dieta contribui para a hipercolesterolemia e para o risco de doenças cardiovasculares, tem sido a base da política de saúde pública em relação às recomendações dietéticas nos EUA ao longo de 30 anos. As recomendações assentaram essencialmente em 3 linhas de evidência: estudos em animais em que o CHR da dieta induziu a

hipercolesterolémia e aterosclerose em algumas espécies; evidências epidemiológicas que apontavam para uma correlação positiva entre o CHR da dieta e a incidência de observações clínicas em que o CHR da dieta aumentava o nível de CHR total plasmático (Mcnamara, 2000).

De acordo com os dados demonstrados pelos estudos epidemiológicos realizados, o CHR da dieta numa análise de regressão está positivamente correlacionado com a incidência de DCV, no entanto quando se considera a análise multivariada de dados, para o contributo da colinearidade do CHR e das gorduras saturadas, verifica-se que o CHR na dieta não está fortemente relacionado com o aumento das taxas de mortalidade por DCV (Kromhout *et al.*, 1995). A nível de estudos clínicos, também não é possível provar os efeitos do CHR da dieta, na aterosclerose e DCV (Mcnamara, 2000); o consenso geral é que o CHR da dieta não tem valor estatisticamente significativo, em relação ao seu pequeno efeito nos níveis de CHR plasmático, sendo o nível de resposta deste CHR plasmático muito variável nas populações (Mcnamara, 1990; Weggemans *et al.*, 1999).

Face à não existência de estudos que validem o efeito independente do CHR da dieta e o risco de DCV, prevalece o princípio da precaução, seguido pela União Europeia, a nível mundial, no sentido de restringir a ingestão diária de CHR a um máximo de 300 mg/dia tal como foi proposto pela WHO (Organização Mundial de Saúde) (1990).

2.2.7. Rácios nutricionais da fracção lipídica

Sendo os ácidos gordos e o colesterol constituintes da gordura ingerida e considerando as suas actividades biológicas conhecidas, torna-se necessário a definição de parâmetros nutricionais que sirvam de ferramentas de avaliação da qualidade nutricional dos alimentos e particularmente daqueles com o teor de gordura significativamente elevado como são os queijos e a manteiga.

A nível de saúde pública, estes rácios (Quadro 2) constituem uma medida de avaliação do valor nutricional das gorduras ingeridas e consequentemente a sua expressão na saúde e bem-estar das populações, nomeadamente na prevenção ou favorecimento da incidência de processos patológicos, com eles relacionados.

Quadro 2: Diferentes índices de avaliação nutricional.

Índices nutricionais	Valor recomendado para a dieta humana	Fonte
Razão PUFA/SFA	> 0,45	DH-UK (1994)
Razão entre ácidos gordos hipocolesterolémicos (h) / hipercolesterolémicos (H)	~2	Santos-Silva <i>et al.</i> (2002)
Razão PUFA n-6/PUFAn-3	<4 5-10 1-2	DH-UK (1994) FAO-WHO (1994) NIH-EUA (1999)
Razão CLA/(SFA+CHR)	~ 0,1	Eynard e Lopes (2003)
Índice aterogenicidade (IA)	-	Ulbricht e Southgate (1991)
Índice trombogenicidade (IT)	-	Ulbricht e Southgate (1991)

2.2.7.1. Razão PUFA/SFA

A razão entre os ácidos gordos poli-insaturados e os ácidos gordos saturados constitui um parâmetro de excelência na avaliação da qualidade nutricional, atendendo a que cada vez mais se verifica o abandono da dieta mediterrânica, com predomínio da ingestão de gordura saturada.

De acordo com as recomendações do Department of Health, de 1994, (citados por Wood e Enser, 1997), o valor recomendado para uma dieta equilibrada é superior a 0,45.

Considerando que este rácio, atribui aos SFA a responsabilidade do aumento do CHR plasmático total, omitindo o papel dos MUFA na redução do mesmo (Santos-Silva *et al.*, 2002), de acordo com o que já foi referenciado, houve necessidade de utilização de outro índice nutricional que em complementaridade, traduzisse de forma mais objectiva, a qualidade nutricional da gordura ingerida, nomeadamente o índice h/H.

2.2.7.2. Razão entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos

Constitui um índice que relaciona a actividade funcional dos ácidos gordos em relação a aspectos de metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cuja quantificação reflecte o maior ou menor risco de incidência de DCV. Não havendo valores recomendados para o índice h/H em relação aos produtos lácteos, considera-se como referência o valor 2 em relação aos produtos cárneos (Santos-Silva *et al.*, 2002), como aquele que exprime

a relação ideal entre os ácidos gordos hipo e hipercolesterolêmicos. Valores superiores a esta referência correspondem a gorduras de superior qualidade nutricional, traduzindo a abundância de ácidos gordos que promovem o abaixamento do CHR plasmático (hipocolesterolêmicos) e assim a redução do risco de DCV.

2.2.7.3. Razão PUFA n-6/n-3

Este índice constitui-se como um dos índices mais utilizados na avaliação nutricional das gorduras, pelas razões descritas anteriormente. De acordo com vários estudos epidemiológicos realizados, a razão n-6/n-3 deverá situar-se segundo a indicações de algumas organizações de saúde entre 5 e 10 (FAO-WHO, 1994), <4 (DH-UK, 1994), 1 e 2 de acordo com o NIH-EUA (1999 citado por Simopoulos, 2002).

2.2.7.4. Razão CLA/(SFA+CHR)

Eynard (1997), perante evidências de estudos epidemiológicos e experimentais e numa análise crítica, considera que proporções recíprocas de CLA *versus* níveis de SFA e CHR, na gordura de carne magra, podem desempenhar um papel antagónico, desvalorizando em termos de importância a relação entre o consumo de carnes vermelhas e o risco de DCV.

Estudos sugerem que o leite inteiro e os seus derivados ricos em CLA constituem um modelo de alimentação saudável, pois além dos seus efeitos anti-tumorais o CLA é um nutriente hipolipidémico, antioxidante e anti-aterosclerótico (Pfeuffer e Schrezenmeir, 2000). Não havendo valores recomendados para este índice em relação aos produtos lácteos, considera-se o valor de 0,1 desta razão, em relação às carnes, como aquele que exprime maior valor nutricional e o valor de 0,01 como aquele que traduz menor valor nutricional (Eynard e Lopes, 2003). Os valores mais altos correspondem a gorduras de superior qualidade nutricional.

2.2.7.5. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

Estes dois índices, ambos propostos por Ulbricht e Southgate (1991) consideram os diferentes efeitos dos diferentes ácidos gordos na saúde humana:

$$IA = [(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)] / [(PUFA n-6 + PUFA n-3) + (MUFA)]$$

$$IT = [(14:0)+(16:0)+(18:0)] / [(0,5 \times MUFA) + (0,5 \times PUFA_{n-6}) + (3 \times PUFA_{n-3}) + (PUFA_{n-3} / PUFA_{n-6})]$$

Não havendo valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogogenicidade, considera-se que valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos gordos mais favorável em termos de saúde.

2.2.8. Vitaminas antioxidantes lipossolúveis

Da globalidade das vitaminas lipossolúveis, as vitaminas A (β -caroteno e retinol) e E (tocoferóis e tocotrienóis) constituem o grupo de vitaminas lipossolúveis, que comprovadamente exibem actividade biológica antioxidante, contribuindo favoravelmente para a supressão dos efeitos do stress oxidativo do metabolismo das células e de forma correlacionada com outros factores dietéticos, contribuem para a diminuição da incidência de doenças ateroscleróticas, com particular destaque para as DCV, doenças tumorais, problemas de fertilidade e doenças imunológicas (Papas, 1999; Prior, 2000; Blatt *et al.*, 2001; Marchioli *et al.*, 2001).

2.2.8.1. Vitamina E

A vitamina E inclui 2 grupos de compostos químicos: tocoferóis e tocotrienóis, o mais activo é o α -tocoferol, sendo a forma principal de vitamina E encontrada no plasma e eritrócitos no fígado (Traber *et al.*, 1992; Bramley *et al.*, 2000). A vitamina E está amplamente distribuída na natureza e pelo menos 8 formas químicas são conhecidas (4 tocoferóis e 4 tocotrienóis); os tocoferóis têm uma cadeia fitilo, enquanto os tocotrienóis têm uma cadeia similar mas com 3 duplas ligações nas posições 3, 7 e 11. Tanto os tocoferóis como os tocotrienóis têm 4 formas (α , β , γ , Δ), os quais diferem pelo número e posição dos grupos metilo no anel aromático (Machlin, 1991). A vitamina E na dieta está presente nos alimentos que contêm gordura (German e Dillard, 2006), a concentração média desta vitamina no leite é 1,0 mg/dl (USDA, 2002). Os alimentos mais ricos em vitamina E são as hortaliças, os cereais, as nozes e os óleos alimentares de sementes (Breda, 2003).

A vitamina E constitui a principal vitamina lipossolúvel responsável pela protecção das membranas celulares contra a peroxidação (Packer, 1991); devido à estrutura lipofílica, tende a acumular-se nas lipoproteínas circulantes, membranas celulares e depósitos adiposos, onde reage com o oxigénio molecular e com os radicais livres, sendo um verdadeiro sequestrador de radicais livres, protegendo os ácidos gordos insaturados membranários e as lipoproteínas da

peroxidação (Thakur e Srivastava, 1996). As funções antioxidantes estão associadas com a diminuição de processos danosos dos ácidos nucleicos (DNA) e consequentes de processos mutagénicos, com transformação maligna e de evolução degenerativa de algumas doenças crónicas (DCV, cataratas e síndromas endócrinas) (Sies *et al.*, 1992).

A necessidade de vitamina E está estritamente relacionada com a ingestão diária de PUFA, pois pela acção protectora das peroxidações dos PUFA, a vitamina E é metabolicamente consumida; por sua vez os PUFA facilitam a sua absorção intestinal (Bassler, 1991).

Para além das funções antioxidantes, todas as isoformas de vitamina E, excepto o β -tocoferol possui propriedades antiproliferativas (Chatelain *et al.*, 1993).

Para além da actividade antioxidante dos tocotrienóis, ao contrário do α -tocoferol apresentam propriedades funcionais que diferenciam, nomeadamente no maior contributo para a redução dos níveis de CHR plasmático e para a redução dos factores lipídicos e não lipídicos que contribuem para o risco de DCV, reduzindo a adesão/agregação plaquetária. A nível do campo da quimioterapia do cancro, os tocotrienóis exibem maiores benefícios em relação à actividade anti-tumoral que o α -tocoferol (Carroll *et al.*, 1996; Hood 1996).

2.2.8.2. Vitamina A

A vitamina A representa um grupo de compostos constituídos por retinóides livres (*all-trans*-retinol, 13-*cis*-retinol e outros), ésteres de retinilo (sobretudo palmitato) e carotenóides, tais como o β -caroteno (Ball, 1988); normalmente a vitamina A refere-se ao *all-trans*-retinol que é a forma mais activa da vitamina (Gregory, 1996).

O retinol, a forma de álcool livre da vitamina A, pode ser reversivelmente convertido por acção enzimática na forma visualmente activa de vitamina A (retinal) em vários tecidos; por sua vez o retinal pode ser convertido de forma irreversível em um potente factor de transcrição (ácido retinoico), verificando-se também a conversão directa do retinol em ácido retinoico (Napoli e Race, 1988).

Da mesma forma que a vitamina E, a vitamina A parece orientar-se com o seu anel cíclico carbonado perto da região do grupo polar da bicamada lipídica e a sua cadeia poliénica estende-se para a região medial não polar da bicamada (De e Zidovetzki, 1988).

A vitamina A não pode ser sintetizada e tem que ser fornecida pela dieta, sendo as principais fontes: os carotenóides pró-vitamina A dos vegetais e os ésteres de retinil e carotenóides de produtos de origem animal. A maioria dos carotenóides pró-vitamina A obtidos da dieta é hidrolisada em retinal no lúmen intestinal (Olson, 1989). β -caroteno está presente em

8 µg/100 g no leite (USDA, 2002). À semelhança dos tocoferóis (vitamina E), também em relação à vitamina A (retinol) tem sido atribuída actividade antioxidante, embora menos acentuada nos ésteres de retinil (Livrea *et al.*, 1992). A vitamina A é fundamental para um desenvolvimento fetal correcto, para a manutenção da visão, para a diferenciação celular, permitindo também a manutenção da integridade de vários tecidos e do sistema imunitário (Carmo, 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostragem

3.1.1. Critérios de escolha do material de análise

A escolha foi baseada na análise das prateleiras dos hipermercados e supermercados da zona de Lisboa e Setúbal, atendendo às marcas comercializadas de leites e produtos lácteos dos Açores. Foram escolhidas as marcas comerciais de leite Terra Nostra e Nova Açores (Figura 3). Quanto às marcas comerciais de queijos foram escolhidas a Terra Nostra, Loreto e Valformoso, enquanto as de manteiga foram a Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores (Figuras 4 e 5).



Figura 3: Apresentação comercial dos leites Terra Nostra (a) e Nova Açores (b).

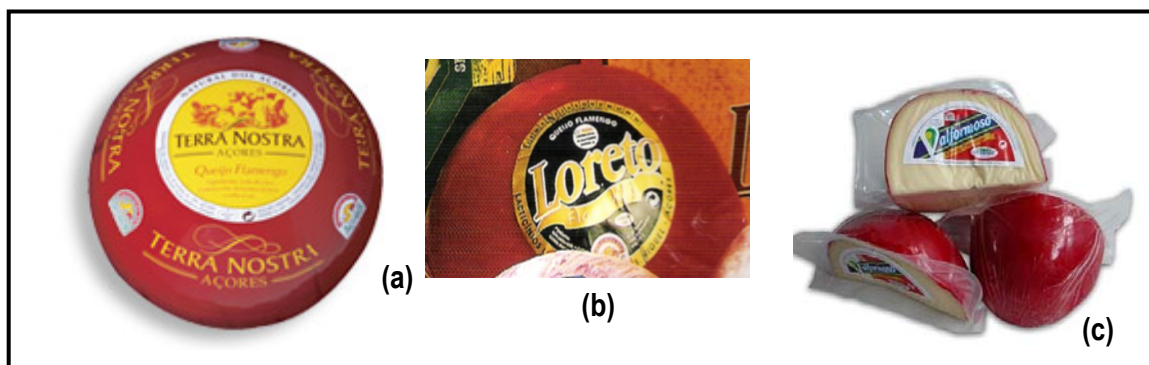


Figura 4: Apresentação comercial dos queijos: Terra Nostra (a), Loreto (b) e Valformoso (c).

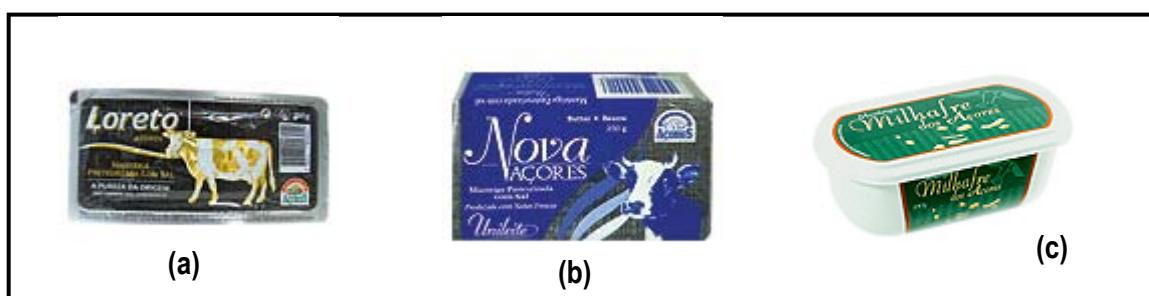


Figura 5: Apresentação comercial das manteigas: Loreto (a), Nova Açores (b) e Milhafre dos Açores (c).

3.1.2. Plano de amostragem e colheita de amostras

Procedeu-se à colheita dos seguintes produtos: leite meio-gordo, queijo e manteiga. De acordo com o inicialmente estabelecido, foram recolhidas 10 amostras para cada grupo de alimento de cada uma das marcas consideradas, e sempre que possível de lotes diferentes, o que fez um total de 80 amostras analisadas.

As amostras foram recolhidas em hipermercados e supermercados nos distritos de Lisboa e Setúbal. A colheita de amostras obedeceu ao seguinte plano (Quadro 3).

Quadro 3: Plano de amostragem e colheita de amostras.

Produto	Marca Comercial	Ilha	Nº de amostras
Leite meio-gordo	Terra Nostra	S. Miguel	10
	Nova Açores	S. Miguel	10
Queijo	Terra Nostra	S. Miguel	10
	Loreto	S. Miguel	10
	Valformoso	S. Miguel	10
Manteiga	Milhafre dos Açores	Terceira	10
	Loreto	S. Miguel	10
	Nova Açores	S. Miguel	10

3.1.3. Acondicionamento e preparação das amostras para análise

3.1.3.1. Material e equipamento

- Máquina picadora (Moulinex)
- Saquetas de polietileno de alta densidade
- Frasco de plástico
- Aparelho de termosoldadura a vácuo (Roschermatic GmbH)
- Arca congeladora (Liebherr)
- Tábua de plástico
- Faca
- Espátulas

3.1.3.2. Procedimento técnico

3.1.3.2.1. Leite

As amostras de leite foram devidamente identificadas e colocadas num frasco de plástico e armazenadas à -21 °C até à realização da análise.

3.1.3.2.2. Queijo

Retiraram-se 100 a 200 g de queijo fatiado (3-4 fatias), ao qual se removeu a casca e a camada superficial. Homogeneizou-se em máquina picadora intercalada com períodos de pausa, para evitar o excessivo aquecimento do queijo. A quantidade necessária foi colocada em saquetas de polietileno devidamente identificadas, 5 g para a análise de vitaminas e colesterol e 20 g para análise de CLA, ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) e lípidos totais. No final das pesagens todas as saquetas foram imediatamente seladas hermeticamente sob vácuo e armazenadas a -21 °C, onde permaneceram até à realização das análises.

3.1.3.2.3. Manteiga

Pesaram-se 5 g para a análise de vitaminas e colesterol e 20 g para análise de CLA, FAME e lípidos totais para saquetas de polietileno previamente identificadas. No final das pesagens todas as saquetas foram imediatamente seladas hermeticamente sob vácuo com períodos de pausa, a fim de evitar o excessivo aquecimento da manteiga e armazenadas a -21 °C, onde permaneceram até posterior realização das análises.

3.2. Determinação dos ácidos gordos constituintes da fracção lipídica

3.2.1. Reagentes e soluções

3.2.1.1. Extracção da gordura

- Éter de petróleo (40-60 °C)
- Éter etílico
- Solução aquosa de amónia (25%) de qualidade p.a.

- Solução de ácido clorídrico (25%) de qualidade p.a.
- Etanol absoluto, de qualidade p.a.

3.2.1.2. Preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos

- Isopentano, de qualidade p.a.
- Solução de hidróxido de potássio em metanol (2 N)

3.2.2. Material e equipamento

- Almofariz
- Pipetas de precisão
- Ampolas de decantação de 100 ml
- Balões de 250 ml, adaptável a evaporador rotativo
- Tubos Kimax de 16 ml, com tampas de teflon
- Pipetas de Pastuer
- Evaporador rotativo (Heidolph)
- Estufa (Struers)
- Excicador
- Agitador (Heidolph Reax top)
- Cromatógrafo gasoso (Agilent HP 6890)

3.2.3. Técnica analítica

3.2.3.1. Extracção e transesterificação dos ácidos gordos

3.2.3.1.1. Leite

Colocaram-se 20 ml de leite meio-gordo numa ampola de decantação, foram adicionados 5 ml de solução aquosa de amónia, agitou-se e adicionaram-se 10 ml de etanol absoluto. Após agitação, juntou-se à mistura, 25 ml de éter etílico e 25 ml de éter de petróleo seguida de agitação vigorosa (com abertura da tampa para libertação do gás). Aguardou-se a separação de fases e após se verificar a limpidez, retirou-se a fase superior para o balão de evaporação, previamente tarado, voltando-se a adicionar, mais duas vezes, 25 ml de cada éter.

Após as 3 extracções efectuou-se a evaporação da fase etérea, em evaporador rotativo a 30 °C, a que se seguiu a colocação em estufa durante 90 °C/1 hora. Passado esse tempo retirou-se o balão da estufa e colocou-se no excicador durante a noite. No dia seguinte pesou-se o balão e calculou-se a diferença em relação à tara inicial, valor esse que traduziu a quantidade de lípidos totais por volume da amostra. De seguida, adicionou-se 4 ml de isopentano para dissolver a gordura, e com o auxílio de uma pipeta de Pasteur retirou-se a gordura para tubo Kimax. Juntou-se 2 ml de solução metanólica de KOH (2 N) e agitou-se. Deixou-se separar as fases, retirou-se da fase superior duas alíquotas de 1 ml, para posterior quantificação do perfil de isómeros do CLA por HPLC (cromatografia líquida de alta resolução) e quantificação do perfil de ácidos gordos totais por cromatografia gasosa (GC).

3.2.3.1.2. Queijo

Pesou-se 1 g de queijo para um almofariz, adicionaram-se 5 ml de solução de ácido clorídrico (25%) e 10 ml de etanol, homogeneizou-se e transferiu-se para ampola de decantação. Juntou-se à mistura, 25 ml de éter etílico e 25 ml de éter de petróleo seguida de agitação vigorosa (com abertura da tampa para libertação do gás). Aguardou-se a separação de fases, e após se verificar a limpidez, retirou-se a fase superior para o balão de evaporação, previamente tarado, voltou-se a adicionar mais duas vezes 25 ml de cada éter. Após as 3 extracções efectuou-se a evaporação da fase etérea, em evaporador rotativo a 30 °C, a que se seguiu a colocação em estufa durante 90 °C/1 hora. Passado esse tempo, retirou-se o balão da estufa e colocou-se no excicador durante a noite. No dia seguinte pesou-se o balão e calculou-se a diferença em relação à tara inicial, valor esse que traduziu a quantidade de lípidos totais por massa inicial da amostra. De seguida, adicionaram-se 4 ml de isopentano para dissolver a gordura, e com o auxílio de uma pipeta de Pasteur retirou-se a gordura para tubo Kimax. Juntaram-se 2 ml de solução metanólica de KOH (2 N) e agitou-se. Deixou-se separar as fases, retirou-se da fase superior duas alíquotas de 1 ml, para posterior quantificação do perfil de isómeros do CLA por HPLC e quantificação do perfil de ácidos gordos totais por GC.

3.2.3.1.3. Manteiga

Pesou-se 1 g de manteiga para um tubo Kimax, adicionou-se 10 ml de isopentano e agitou-se para dissolver a gordura. Juntou-se 2 ml de solução metanólica de KOH (2 N), agitou-se e deixou-se separar as fases, após se verificar a limpidez retirou-se duas alíquotas de 1 ml da

fase superior, para posterior quantificação do perfil de isómeros do CLA por HPLC e quantificação do perfil de ácidos gordos totais por GC.

Para a quantificação do teor de ácidos gordos por g de amostra de manteiga, houve necessidade de proceder à determinação da matéria gorda (% gordura), utilizando o método que resumidamente se apresenta:

Manteiga: NP – 2283/1984 – Determinação dos teores de água, de resíduo seco isento de matéria gorda e de matéria gorda. Processo: Secagem de uma massa conhecida de manteiga a 102 ± 2 °C, para determinação do teor de água. Extração da matéria gorda do produto resultante da secagem, pelo éter de petróleo e pesagem do resíduo. Cálculo do teor de matéria gorda por diferença.

3.2.3.2. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos ácidos gordos

A análise efectuou-se nas seguintes condições operatórias: coluna CP – Sil 88 (Chrompack CP7489, Varian Inc, Walnut Creek, CA) com 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm de espessura da fase estacionária. Gás de arraste: hélio; split ratio: 20:1; injector automático mantido a 250 °C. Temperatura do forno: temperatura inicial de 100 °C/15 minutos, aumento de 10 °C/min até 150 °C mantido durante 5 minutos, subida até aos 158 °C a 1 °C/min mantido durante 30 minutos e por fim nova subida até aos 200 °C, a 1 °C/min, mantendo-se nesta temperatura final durante 40 minutos. O detector FID foi mantido a 280 °C durante toda a corrida cromatográfica.

3.2.3.2.1. Cálculos

Foram utilizados factores de correcção para a quantificação dos ácidos gordos, constituintes dos triacilgliceróis de forma a converter as percentagens em área dos picos dos ácidos gordos obtidos pelos cromatogramas, em percentagens mássicas. Os factores de correcção são calculados experimentalmente, utilizando uma gordura de composição conhecida (material de referência certificado 164 – gordura de leite anidra), adoptada pelo Community Bureau of Reference (1993). Estes factores de correcção entram em conta não só com possíveis discriminações no processo de metilação como também no processo cromatográfico, nomeadamente a nível do injector e do detector.

O método de quantificação utilizado, na determinação dos ácidos gordos constituintes dos triacilgliceróis, foi o da normalização interna, assumindo-se que todos os componentes da

amostra estão representados no cromatograma (eluição total), de modo que a soma das áreas de todos os picos corresponde a 100% dos constituintes (NP- EN ISO 5508, 1990).

Na apresentação de resultados em teor relativo de ácidos gordos por 100 g de gordura, utilizou-se um factor de correcção para leite e produtos lácteos (Food Standards Agency, 2001) que atende ao facto de que os ácidos gordos não constituem a totalidade (100%) dos lípidos da amostra, factor este que corresponde a 0,945.

Para a quantificação do teor de ácidos gordos por ml ou g de amostra, houve necessidade de proceder à determinação da matéria gorda (% gordura) das amostras respectivas.

3.3. Determinação do perfil de isómeros conjugados do ácido linoleico

3.3.1. Material e equipamento

Sistema de cromatografia de alta resolução (HPLC), modelo HP 1100 (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EUA), equipado com injector automático (Agilent, modelo G1313A), 3 colunas analíticas em série impregnadas de iões de prata (ChromoSpher 5 Lipids, 4,6 mm ID × 250 mm, 5 µm tamanho da partícula, Chrompack, Bridgewater, NJ, EUA.), detector de fotodíodos (DAD) de ultravioleta e visível (Agilent, modelo G1315B), bomba quaternária (Agilent, modelo G1311A), desarejador de solvente (Agilent, modelo G1322A) e compartimento de coluna termostaticado com aquecimento (Agilent, modelo G1316A).

3.3.2. Reagentes e soluções

Fase móvel: 0,1% acetonitrilo em *n* – hexano, preparada por adição de 0,1 ml de acetonitrilo (Lichrosolv) em 99,9 ml de *n* – hexano (Merck, Darmstadt, Alemanha).

3.3.3. Técnica analítica

Os ésteres metílicos do CLA foram separados e identificados por cromatografia de alta resolução (HPLC) em fase normal, segundo o descrito por Fritsche *et al.* (2000 e 2001). A fase móvel representou um sistema isocrático constituído por 0,1% de acetonitrilo em hexano com fluxo de 1 ml/min. O detector consistiu de um detector de fotodíodos (DAD) ajustado a um comprimento de onda de 233 nm. A identificação dos isómeros CLA baseou-se em leituras

cromatográficas, publicadas na literatura científica relativa ao perfil de isómeros CLA em leite e nos únicos 4 isómeros padrão disponíveis no mercado ($t_{9,t11}$; $t_{10,c12}$; $c_{9,t11}$ e $c_{9,c11}$).

3.3.4. Cálculo e controlo do método

Os isómeros do CLA foram quantificados por um método de padrão externo. Para quantificação dos isómeros adoptou-se os valores da curva de calibração do $c_{9,t11}$ – CLA, uma vez que foi aquele que apareceu em maior quantidade, expressa pela maior grandeza da área dos picos. Os cálculos do teor específico e do teor total tiveram sempre como base a massa ou o volume da amostra, bem como teor de lípidos totais por g ou ml da amostra.

3.4. Determinação simultânea do colesterol e de vitaminas E e A

3.4.1. Reagentes químicos e soluções

- Padrões: DL – α –, D (+) – β –, D (+) – γ – e D (+) – Δ – tocoferol (Sigma, St. Louis, EUA; ss: 4 mg/ml, etanol absoluto); *all-trans* – β – caroteno (Sigma, St. Louis, EUA; ss: 20 μ g/ml, hexano; *all-trans*-retinol (ss: 0,4 mg/ml, etanol absoluto); colesterol (Sigma, St. Louis, EUA; ss: 1 mg/ml, hexano; ws: 0,01 – 1 mg/ml, hexano).

- Ácido ascórbico: Ácido L (+) – ascórbico p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha).

- Solução de saponificação (extemporânea): Solução KOH p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha) 11% (W/V) em etanol absoluto p.a. (Merck Darmstadt, Alemanha) 55% (V/V) e água destilada 45% (V/V); dissolver o KOH primeiro na água destilada e diluir depois o etanol.

- Água destilada ou tipo III.

- *n* - Hexano: *n* - Hexano p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha) adicionado de 25 mg/ml BHT (Merck, Darmstadt, Alemanha) como antioxidante.

- Sulfato de sódio anidro: Sulfato de sódio anidro (Merck, Darmstadt, Alemanha).

3.4.2. *Material e equipamento*

- Tubos Kimax de 16 ml, com tampas de teflon
- Pipetas, espátulas, copos graduados
- Agitador do tipo vortex
- Banho-maria com ultra-sons Grant MX B14 (Grant instruments; Cambridge, Inglaterra)
- Centrifuga Sigma 6K10 (Laboratory Centrifuges GmbH, Melsungen, Alemanha)
- Cilindro de azoto (CG220, Linde Sogás, Lda., Lisboa, Portugal)
- Seringa e filtro hidrofóbico 0,45 µm
- Frascos âmbar de 1,5 ml com tampas de teflon
- Sistema de cromatografia de alta resolução (HPLC), modelo HP 1100 (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EUA), equipado com injector automático (Agilent, modelo G1313A), 1 coluna analítica de sílica de fase normal (Zorbax RX-Sil, 4,6 mm × 250 mm, 5 µm tamanho da partícula, Chrompack, Bridgewater, NJ, EUA), detector de fotodiodos (DAD) de ultravioleta e visível (Agilent, modelo G 1315B), bomba quaternária (Agilent, modelo G1311A) e compartimento de coluna termostaticado com aquecimento (Agilent, modelo G1316A)

3.4.3. *Técnica analítica*

3.4.3.1. Técnica da saponificação e extracção do colesterol e vitaminas E e A

Todo o procedimento foi efectuado em duplicado, sendo usados tubos de vidro com tampas em teflon, tendo-se evitado tanto quando possível, a acção da luz e do oxigénio.

Procedeu-se à descongelação das amostras de leite durante 5 minutos em banho-maria seguida de homogeneização. Em relação às amostras de queijo e manteiga, previamente armazenadas sob vácuo a -21 °C, procedeu-se à ligeira descongelação, antes do início do processo analítico.

Mediu-se 0,75 ml de leite, pesou-se 500 mg de queijo e 50 mg de manteiga. As amostras (em duplicado) foram colocadas em 2 tubos de Kimax de 16 ml. Adicionou-se a cada amostra 0,20 g de ácido ascórbico e 5,5 ml de solução de saponificação e agitou-se. Substituiu-se o ar dos tubos por azoto, sendo imediatamente tapados, e procedeu-se à agitação em vortex, para dissolução completa do ácido ascórbico. Aqueceu-se em banho-maria 80 °C/15 minutos com agitação a 200 rpm. Posteriormente os tubos foram arrefecidos em água corrente durante 1 minuto, adicionou-se 1,5 ml de água destilada e 3 ml de *n*-hexano, e agitou-se vigorosamente no

vortex durante 2 minutos. Centrifugou-se os tubos a 2500 rpm/5 minutos, aspirou-se as fases do *n*-hexano (superiores) para tubos pequenos com tampa. Aos tubos pequenos adicionou-se sulfato de sódio anidro (ponta espátula), e agitou-se em vortex durante 10 segundos. No final filtrou-se uma alíquota das fases do *n*-hexano (superiores), com auxílio de filtro de seringa hidrofóbico de 0,45 µm, para frascos âmbar de 1,5 ml para posterior injeção em HPLC.

Procedeu-se ao método HPLC em fase normal para leite, queijo e manteiga através da saponificação directa, com uma extracção com *n*-hexano (Liu *et al.*, 1996) modificado por Katsanidis e Addis (1999), Vaananen *et al.* (2000), Yang *et al.* (2002) e Cayuela *et al.* (2003).

3.4.3.2. Determinação por HPLC em fase normal

Condições operatórias:

- Cromatógrafo de alta resolução (HPLC) equipado com coluna Agilent Zorbax Rx-Sil, 5 µm de diâmetro de partícula, 4,6 mm ID × 25 cm (com pré-coluna correspondente)
- Temperatura: 20 °C
- Fase móvel: hexano-isopropanol (99:1)
- Fluxo: 1,0 ml/min
- Volume de injeção: 10 e 20 µl para o α-tocoferol (queijos, leites e manteiga, respectivamente) e 100 µl para os restantes tocoferóis, retinóis e colesterol (queijos e manteiga, respectivamente)
- Detecção: tocoferóis (ex. 295 nm, em. 325 nm, PMT-Gain 14), colesterol (202 nm); carotenos (450 nm), *all-trans*-retinol (325 nm)
- Tempo de corrida: 22 minutos
- Estabilidade dos extractos (-20 °C): 3 dias, pelo menos
- Limpeza da coluna: semanalmente, com 3% de isopropanol em *n*-hexano durante 30 minutos
- Regeneração da coluna: anualmente, com 1% metanol em hexano durante 5 horas

3.4.3.3. Cálculos e controlo dos métodos

O colesterol, os ésteres de retinol e os tocoferóis foram quantificados por um método de padrão externo. Foram utilizadas quatro curvas de calibração para o perfil dos tocoferóis (α-tocoferol, β-tocoferol, γ-tocoferol e Δ-tocoferol), uma curva de calibração para o colesterol e uma curva de calibração para os ésteres de retinol, respectivamente para as áreas dos picos a que foi feita a detecção.

A nível dos ésteres de retinol, usou-se a curva de calibração do palmitado de retinol, que é o que aparece em maior quantidade na natureza, uma vez que a área dos picos correspondia à co-eluição de vários ésteres.

Os cálculos do teor específico e o teor total tiveram sempre como base a massa ou o volume da amostra, bem como o teor de lípidos totais por g ou ml de amostra.

3.5. Avaliação nutricional da gordura de leites e produtos lácteos dos Açores

Após a quantificação de todos os ácidos gordos pertencentes às diferentes famílias, SFA, MUFA, TFA e PUFA, procedeu-se à avaliação nutricional da gordura de leites e produtos lácteos dos Açores, com base em índices nutricionais recomendados pelos organismos oficiais de saúde e descritos na literatura científica.

3.5.1. Índice PUFA n-6/n-3

Foi referenciado por diversos organismos internacionais de saúde, nomeadamente pela FAO, Canadian Recommended Nutrient Intake (CRNI) e pelo Institute of Medicine of the National Academies of Sciences dos EUA (IMNAS) e foi descrito pela seguinte relação:

$$\text{PUFA n-6/n-3} = \frac{18:2 \text{ n-6} + 18:3 \text{ n-6} + 20:2 \text{ n-6} + 20:3 \text{ n-6} + 20:4 \text{ n-6} + 22:4 \text{ n-6}}{18:3 \text{ n-3} + 20:5 \text{ n-3} + 22:5 \text{ n-3} + 22:6 \text{ n-3}}$$

3.5.2. Índice PUFA/SFA

Pretendeu-se avaliar a relação existente entre o teor de PUFA e SFA da gordura. O Department of Health do UK foi uma das entidades internacionais de saúde que referenciou este índice. Foi traduzido pela equação:

$$\text{PUFA/SFA} = \frac{\text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}}{4:0 + 6:0 + 8:0 + 10:0 + 12:0 + 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0}$$

3.5.3. Índice AG-h/AG-H

Com base nos efeitos funcionais dos ácidos gordos, nomeadamente ao nível do metabolismo das lipoproteínas, este índice pretendeu relacionar o teor de AG com efeito

hipocolesterolémico (AG-h) e o teor de AG com efeito hipercolesterolémico (AG-H) presentes na gordura do leite e de produtos lácteos (Dietschy, 1998 e Williams, 2000 citados por Santos - Silva *et al.*, 2002). Este índice foi traduzido pela seguinte relação:

$$\text{AG-h/AG-H} = \frac{18:1 \text{ c9} + \text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}}{12:0 + 14:0 + 16:0}$$

3.5.4. Índice de aterogenicidade

Este índice nutricional foi proposto em 1991 por Ulbricht e Southgate. Este índice relaciona os diferentes efeitos dos AG na saúde humana, nomeadamente o efeito aterogénico. Foi definido pela seguinte equação:

$$\text{IA} = \frac{[(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)]}{[(\text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}) + \text{MUFA}]}$$

3.5.5. Índice de trombogénicidade

O presente índice foi proposto pelos autores anteriores. Este índice considera o efeito trombogénico resultante da relação entre os diferentes efeitos na saúde humana dos vários AG. Assim, foi calculado a partir da equação:

$$\text{IT} = \frac{[(14:0) + (16:0) + (18:0)]}{[(0,5 \times \text{MUFA}) + (0,5 \times \text{PUFA n-6}) + (3 \times \text{PUFA n-3}) + (\text{PUFA n-3} \times \text{PUFA n-6})]}$$

3.5.6. Índice CLA/(SFA + CHR)

Este índice foi proposto por Eynard e Lopes (2003) e sustentado na hipótese de que quantidades proporcionais de CLA, gordura saturada e colesterol (SFA e CHR) na dieta, podem modular efeitos opostos na saúde humana, nomeadamente ao nível do risco de desenvolvimento de cancro colorectal. A equação deste índice foi traduzida por:

$$\frac{\text{CLA}}{\text{SFA} + \text{CHR}}$$

3.6. Análise estatística

A análise de variância foi efectuada através do procedimento GLM do programa de estatística SAS – Statistical Analysis System (SAS Institute Cary, NC, EUA) versão 9.1.3. Para avaliar diferenças entre grupos, a um nível de significância de 0,05, foi aplicado o teste de Bonferroni. Toda a componente gráfica utilizou a ferramenta de realização de gráficos, através das folhas de cálculo informático da Microsoft Excel (versão 2003, Microsoft, EUA).

4. RESULTADOS

Os resultados apresentados no presente capítulo, referem-se aos 3 tipos de alimentos analisados: leite, queijo e manteiga. A sua apresentação contemplou a comparação entre as diferentes marcas dentro do mesmo tipo de alimento.

4.1. Teor de gordura total

4.1.1. Teor de gordura total das duas marcas comerciais de leite

De acordo com a representação gráfica (Figura 6) referenciam-se os valores dos lípidos totais, expressos em g/100 ml de leite, para as duas marcas de leite estudados.

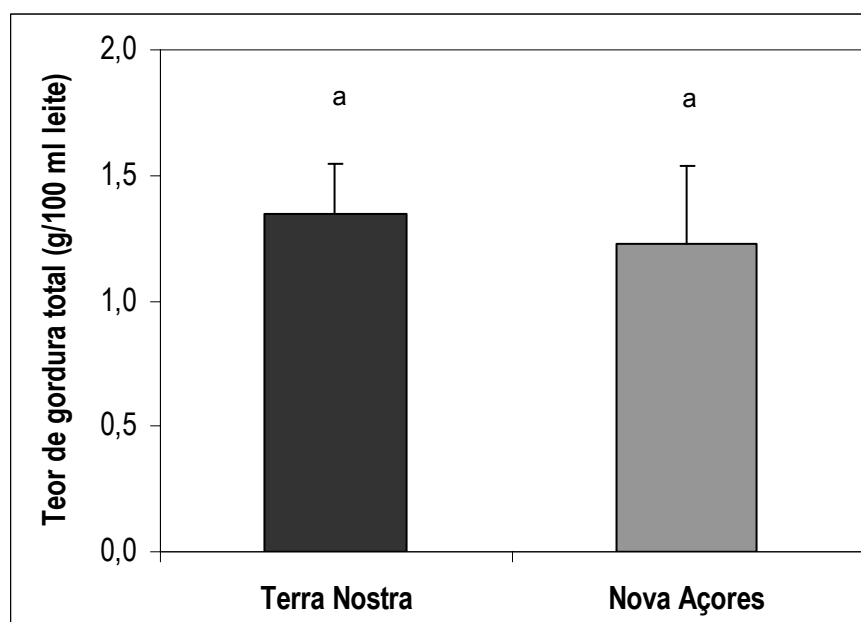


Figura 6: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total nas duas marcas comerciais de leite. A letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

O teor de gordura total não apresentou diferenças significativas entre as duas marcas de leite.

4.1.2. Teor de gordura total das três marcas comerciais de queijo

A figura seguinte representa graficamente, os valores do teor de gordura total dos três queijos analisados.

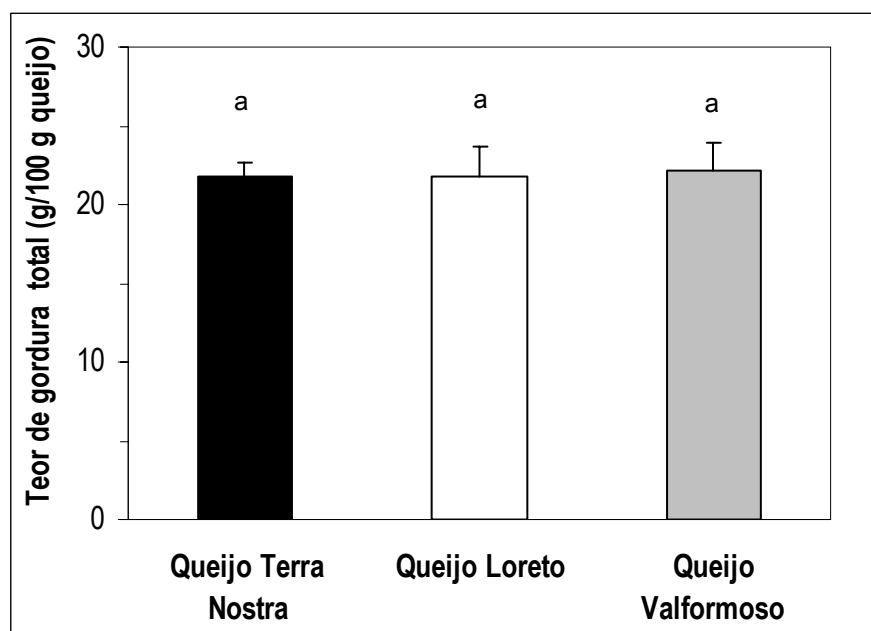


Figura 7: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total das três marcas comerciais de queijo estudadas. A letras diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$).

O teor de gordura total nos três queijos analisados não apresentou diferenças significativas.

4.1.3. Teor de gordura total das três marcas comerciais de manteiga

A figura 8 esquematiza graficamente os valores do teor de gordura total (g/100 g de manteiga) nas três marcas comerciais de manteiga.

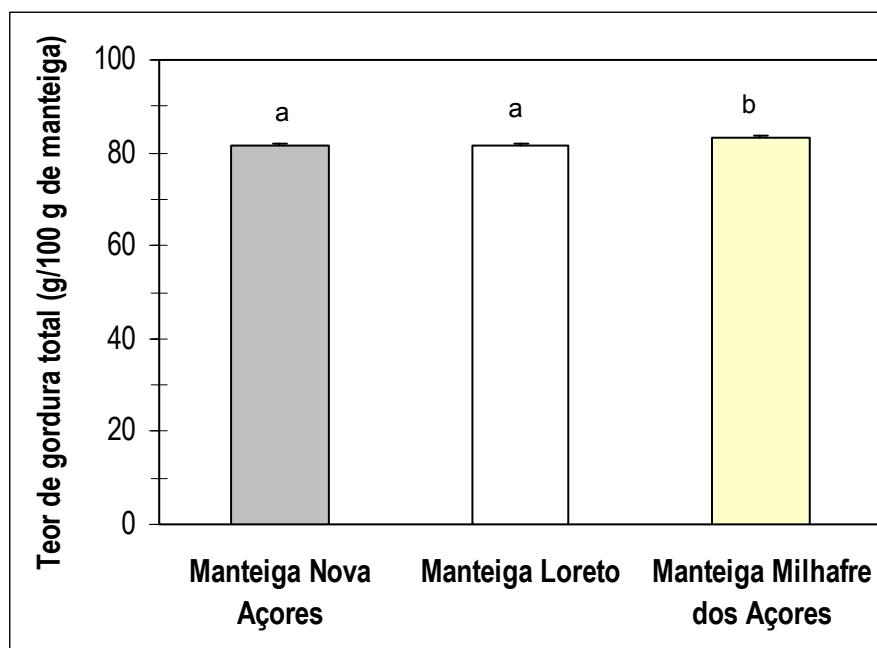


Figura 8: Valores médios (\pm DP) dos teores de gordura total das três marcas comerciais de manteiga. A letras diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$).

No nível do teor de gordura total não houve variações significativas entre as manteigas Nova Açores e Loreto, existindo diferenças significativas entre as manteigas Nova Açores e Milhafre dos Açores e as manteigas Loreto e Milhafre dos Açores. Esta última manteiga apresentou maior valor.

4.2. Perfil lipídico

A determinação dos perfis de ácidos gordos por GC – FID resultou na obtenção de cromatogramas, sendo apresentado na figura seguinte um exemplo típico.

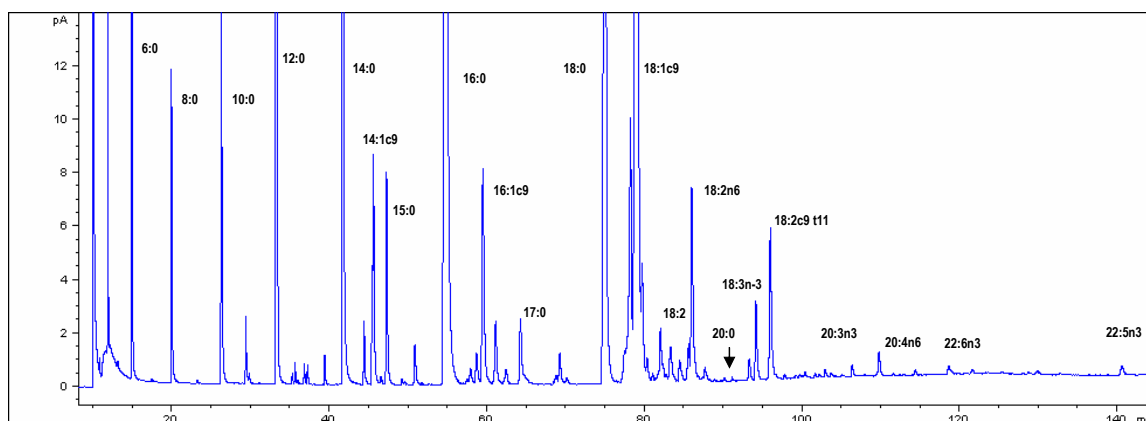


Figura 9: Cromatograma típico do perfil de ácidos gordos dos leites, queijos e manteigas analisados.

4.2.1. Teores de ácidos gordos das duas marcas comerciais de leite

Avaliando em termos comparação as duas marcas de leite, observou-se em relação aos SFA diferenças significativas entre o leite Terra Nostra e o leite Nova Açores ($P < 0,05$), apresentando o leite Nova Açores um teor mais elevado em SFA. Em relação às restantes classes de ácidos gordos, não se registaram diferenças significativas entre os dois leites.

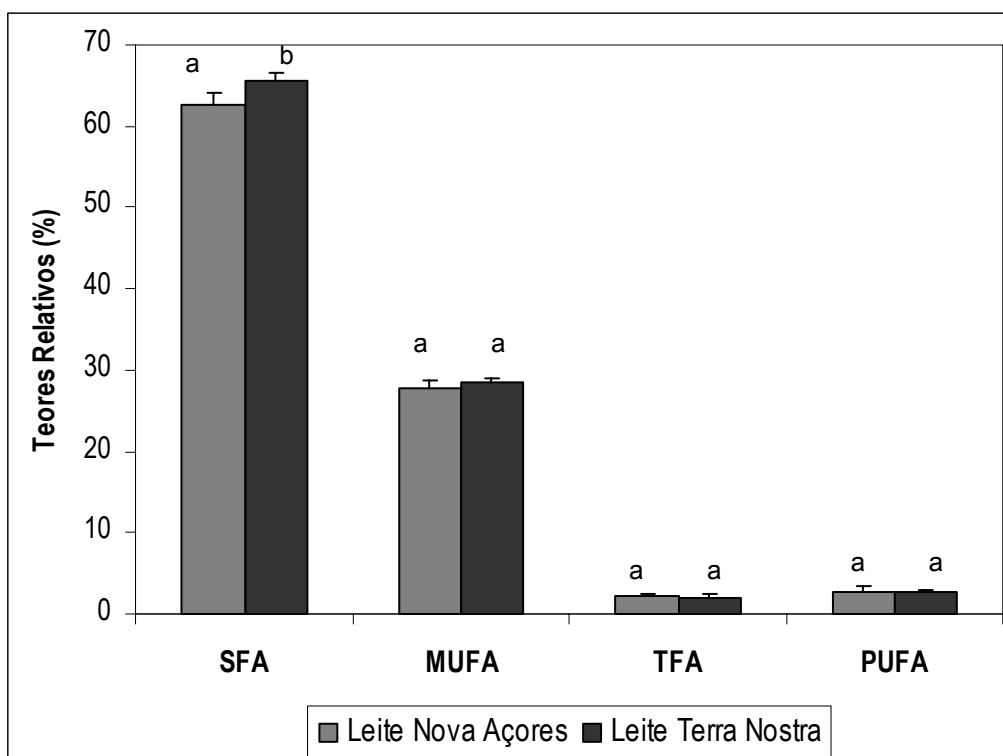


Figura 10: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos dos dois leites. A letras diferentes, para cada soma parcial de AG, correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

O quadro 4 expõe os resultados obtidos em termos de teor relativo (g/100 g AG), teor específico (g/100 g lípidos) e teor total (mg/ml leite) da composição dos ácidos gordos dos leites Nova Açores e Terra Nostra.

Quadro 4: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos nos dois leites (n=10).

Ácidos Gordos	Leite Nova Açores			Leite Terra Nostra		
	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Específico (g/100 g lípidos)	T. Total (mg/ml leite)	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Específico (g/100 g lípidos)	T. Total (mg/ml leite)
6:0	0,82 \pm 0,62	0,77 \pm 0,59	0,09 \pm 0,07	1,01 \pm 0,27	0,95 \pm 0,26	0,12 \pm 0,04
8:0	0,48 \pm 0,30	0,45 \pm 0,28	0,05 \pm 0,03	0,63 \pm 0,14	0,60 \pm 0,13	0,08 \pm 0,02
10:0	1,92 \pm 0,42	1,85 \pm 0,40	0,22 \pm 0,06	1,85 \pm 0,38	1,75 \pm 0,36	0,23 \pm 0,04
12:0	3,16 \pm 0,45	2,99 \pm 0,43	0,35 \pm 0,08	3,45 \pm 0,15	3,26 \pm 0,15	0,45 \pm 0,05
i 14:0	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	0,13 \pm 0,16	0,13 \pm 0,15	0,02 \pm 0,02
14:0	11,0 \pm 0,59	10,40 \pm 0,55	1,22 \pm 0,26	11,88 \pm 0,30	11,23 \pm 0,29	1,58 \pm 0,19
14:1c9	1,30 \pm 0,12	1,23 \pm 0,11	0,14 \pm 0,04	1,48 \pm 0,08	1,40 \pm 0,08	0,19 \pm 0,03
i 15:0	0,26 \pm 0,01	0,25 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,24 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,03 \pm 0,00
a i 15:0	0,22 \pm 0,22	0,21 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	0,19 \pm 0,03	0,18 \pm 0,03	0,03 \pm 0,00
15:0	1,08 \pm 0,06	1,02 \pm 0,06	0,12 \pm 0,03	1,13 \pm 0,04	1,06 \pm 0,04	0,15 \pm 0,02
i 16:0	0,20 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	0,02 \pm 0,00	0,24 \pm 0,06	0,23 \pm 0,06	0,03 \pm 0,01
16:0	30,91 \pm 0,73	29,21 \pm 0,69	3,44 \pm 0,83	34,05 \pm 0,90	32,17 \pm 0,85	4,53 \pm 0,48
16:1	0,58 \pm 0,16	0,54 \pm 0,15	0,07 \pm 0,03	0,35 \pm 0,26	0,32 \pm 0,25	0,04 \pm 0,04
16:1c9	1,66 \pm 0,21	1,56 \pm 0,19	0,19 \pm 0,05	1,72 \pm 0,29	1,62 \pm 0,27	0,23 \pm 0,04
i 17:0	0,07 \pm 0,05	0,07 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	0,06 \pm 0,06	0,06 \pm 0,06	0,01 \pm 0,01
17:0	0,67 \pm 0,08	0,63 \pm 0,08	0,08 \pm 0,02	0,61 \pm 0,29	0,58 \pm 0,27	0,08 \pm 0,04
17:1c9	0,08 \pm 0,07	0,07 \pm 0,07	0,01 \pm 0,01	0,17 \pm 0,17	0,16 \pm 0,16	0,02 \pm 0,02
18:0	11,78 \pm 0,98	11,13 \pm 0,93	1,31 \pm 0,32	10,97 \pm 0,55	10,36 \pm 0,52	1,47 \pm 0,17
18:1c9	24,23 \pm 0,69	22,90 \pm 0,66	2,69 \pm 0,63	24,80 \pm 0,95	23,44 \pm 0,89	3,32 \pm 0,41
18:1t10+t11	2,11 \pm 0,30	1,99 \pm 0,28	0,24 \pm 0,07	1,93 \pm 0,42	1,82 \pm 0,40	0,26 \pm 0,07
18:2t11c15	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	0,08 \pm 0,05	0,07 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01
18:2	0,30 \pm 0,10	0,28 \pm 0,09	0,03 \pm 0,01	0,41 \pm 0,14	0,38 \pm 0,14	0,05 \pm 0,01
18:2n-6	1,75 \pm 0,31	1,65 \pm 0,29	0,19 \pm 0,04	1,54 \pm 0,26	1,46 \pm 0,25	0,21 \pm 0,04
18:3n-3	0,50 \pm 0,09	0,47 \pm 0,08	0,06 \pm 0,01	0,44 \pm 0,06	0,42 \pm 0,05	0,06 \pm 0,01
18:2c9t11	0,97 \pm 0,14	0,91 \pm 0,14	0,11 \pm 0,03	0,76 \pm 0,19	0,72 \pm 0,18	0,10 \pm 0,03
20:3n-3	0,06 \pm 0,04	0,06 \pm 0,04	0,01 \pm 0,00	0,07 \pm 0,06	0,07 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01
20:4n-6	0,07 \pm 0,04	0,07 \pm 0,04	0,01 \pm 0,00	0,09 \pm 0,07	0,08 \pm 0,07	0,01 \pm 0,01
22:5n-3	0,07 \pm 0,05	0,07 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	0,06 \pm 0,05	0,06 \pm 0,04	0,01 \pm 0,01
22:6n-3	0,03 \pm 0,02	0,03 \pm 0,02	0,00 \pm 0,00	0,06 \pm 0,06	0,06 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01

No quadro seguinte apresenta-se o teor de colesterol total (mg/ml leite), o teor total de SFA (mg/ml leite), somatórios parciais (g/100 g AG), índices de avaliação nutricional na gordura do leite e recomendações nutricionais.

Apenas se verificou diferença significativa no somatório SFA entre os dois leites. Em relação aos diferentes índices nutricionais dos lípidos observou-se variação significativa nos índices h/H e de aterogenicidade.

Quadro 5: Valores médios (\pm DP) dos teores totais de colesterol, teores totais de SFA, somatórios parciais dos ácidos gordos, índices de avaliação nutricional na gordura do leite Nova Açores e Terra Nostra e recomendações nutricionais para a dieta humana. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

$\sum n-3$ = somatório de 18:3n-3, 20:3n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3; $\sum n-6$ = somatório de 18:2n-6 e 20:4n-6 $\sum H$ = somatório de 12:0, 14:0 e 16:0; $\sum h$ = 18:1c9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:4n-6, 22:5n-3 e 22:6n-3; $n-6:n-3 = \sum \text{PUFA } n-6 / \sum \text{PUFA } n-3$; $\text{PUFA/SFA} = \sum \text{PUFA} / \sum \text{SFA}$; $\text{CLA}/(\text{SFA}+\text{CHR}) = \text{ácido linoleico conjugado} / \text{somatório SFA e colesterol}$, expresso em mg/ml leite. (1) FAO (1994); (2) Department of Health U.K (1994); (3) Santos-Silva *et al.* (2002); (4) Eynard e Lopes (2003).

	Leite Nova Açores	Leite Terra Nostra	Recomendações para a dieta humana
Teor de CHR (mg/ml leite)	0,42 ^a \pm 0,05	0,44 ^a \pm 0,03	300 mg/dia ⁽¹⁾
Teor de SFA (mg/ml leite)	6,96 ^a \pm 1,56	8,71 ^b \pm 0,87	
Somatórios Parciais (g/100 g AG)			
\sum SFA	62,71 ^a \pm 1,37	65,50 ^b \pm 1,09	
\sum MUFA	26,54 ^a \pm 0,80	27,03 ^a \pm 0,59	
\sum TFA	2,23 ^a \pm 0,31	2,00 ^a \pm 0,44	
\sum PUFA	2,78 ^a \pm 0,55	2,58 ^a \pm 0,37	
$\sum n-3$	0,66 ^a \pm 0,15	0,56 ^a \pm 0,19	
$\sum n-6$	1,82 ^a \pm 0,34	1,62 ^a \pm 0,30	
$\sum H$	45,08 ^a \pm 1,24	49,38 ^a \pm 1,10	
$\sum h$	26,55 ^a \pm 0,98	26,86 ^a \pm 0,76	
Índices			
n-6/n-3	2,83 ^a \pm 0,53	3,12 ^a \pm 1,02	<4 ⁽²⁾
PUFA/SFA	0,04 ^a \pm 0,01	0,04 ^a \pm 0,01	>0,45 ⁽²⁾
h/H	0,56 ^a \pm 0,03	0,54 ^b \pm 0,02	~2 ⁽³⁾
CLA/(SFA+CHR)	0,002 ^a \pm 0,001	0,002 ^a \pm 0,001	~0,1 ⁽⁴⁾
IA	2,67 ^a \pm 0,10	2,87 ^b \pm 0,09	
IT	7,30 ^a \pm 0,53	7,04 ^a \pm 0,70	

4.2.2. Teores de ácidos gordos das três marcas comerciais de queijo

A figura 11 resume os teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos nos três queijos. Em termos de SFA, quando relacionadas as três marcas de queijos, observou-se uma variação significativa entre todas elas. Ao nível dos MUFA não houve variação significativa entre os queijos analisados. Em termos dos teores relativos de TFA e PUFA, existiram diferenças significativas entre os queijos Loreto e Terra Nostra e queijos Valformoso e Terra Nostra

($P < 0,05$), com valores menores para os queijos Terra Nostra, não havendo variações significativas entre o queijo Loreto e o queijo Valformoso.

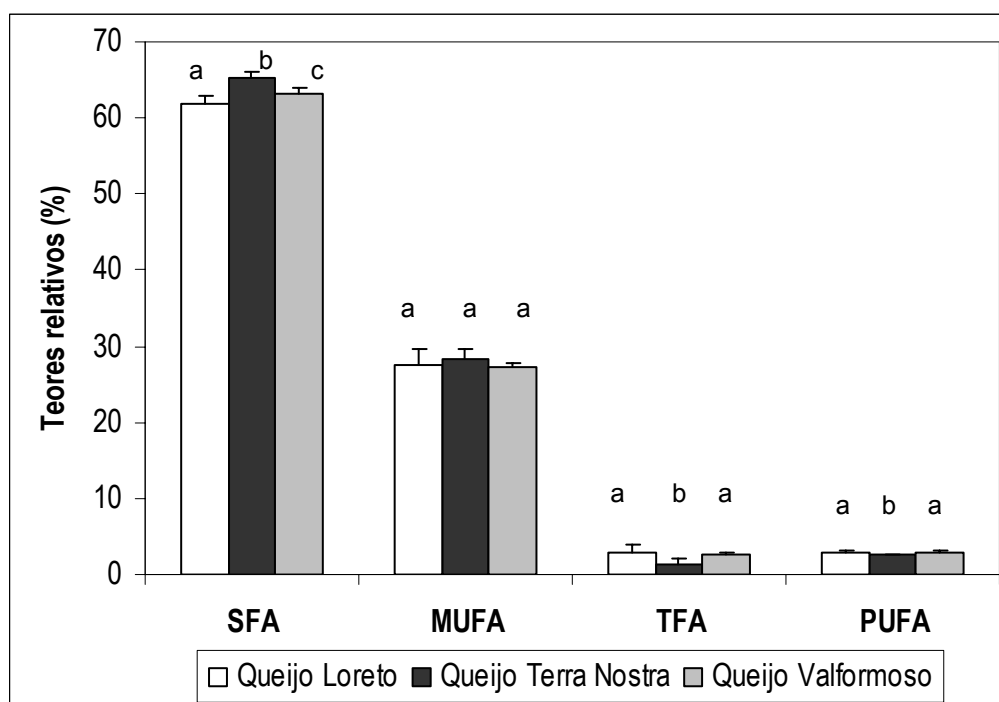


Figura 11: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos dos três queijos. A letras diferentes, para cada soma parcial de AG, correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

O quadro 6 apresenta os resultados obtidos em termos de teor relativo (g/100 g AG), teor específico (g/100 g lípidos) e teor total (mg/g queijo) da composição dos ácidos gordos do queijo Loreto, queijo Terra Nostra e queijo Valformoso.

Quadro 6: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos do queijo Loreto, Terra Nostra e Valformoso (n=10).

Ácidos Gordos	Loreto			Terra Nostra			Valformoso		
	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g lip.)	T.Total (mg/g quei.)	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g lip.)	T.Total (mg/g quei.)	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g lip.)	T.Total (mg/g quei.)
6:0	1,06±0,26	1,00±0,25	2,13±0,49	0,97±0,65	0,92±0,61	1,97±1,31	1,21±0,31	1,15±0,29	2,52±0,61
8:0	0,58±0,09	0,54±0,08	1,16±0,16	0,56±0,30	0,53±0,28	1,14±0,60	0,67±0,16	0,64±0,15	1,40±0,32
10:0	1,90±0,10	1,79±0,09	3,83±0,35	1,89±0,72	1,79±0,68	3,85±1,44	2,13±0,37	2,02±0,35	4,46±0,07
12:0	2,88±0,12	2,72±0,11	5,82±0,59	2,91±0,69	2,75±0,65	5,94±1,36	3,02±0,30	2,85±0,29	6,33±0,59
i 14:0	0,10±0,01	0,10±0,01	0,21±0,02	0,10±0,01	0,10±0,01	0,21±0,03	0,11±0,01	0,11±0,01	0,23±0,02
14:0	10,32±0,39	9,75±0,36	20,87±2,10	10,72±1,17	10,13±1,11	21,91±2,21	10,74±0,55	10,15±0,52	22,55±1,41
14:1c9	1,30±0,17	1,23±0,16	2,62±0,34	1,20±0,23	1,14±0,22	2,46±0,46	1,34±0,22	1,27±0,21	2,82±0,49
i 15:0	0,26±0,01	0,25±0,01	0,53±0,05	0,27±0,02	0,26±0,02	0,56±0,05	0,28±0,02	0,26±0,02	0,59±0,04
a i 15:0	0,21±0,16	0,20±0,15	0,43±0,34	0,28±0,03	0,26±0,03	0,57±0,08	0,19±0,15	0,18±0,14	0,40±0,31
15:0	1,11±0,04	1,05±0,04	2,24±0,21	1,09±0,05	1,03±0,05	2,24±0,12	1,12±0,03	1,06±0,03	2,36±0,17
i 16:0	0,25±0,01	0,23±0,01	0,50±0,05	0,22±0,02	0,21±0,02	0,46±0,06	0,23±0,07	0,22±0,07	0,48±0,15
16:0	30,54±0,82	28,86±0,77	61,61±4,06	32,73±2,14	30,93±2,02	67,05±5,45	30,52±1,45	28,84±1,37	64,25±6,33
16:1	0,74±0,08	0,68±0,07	1,45±0,20	0,60±0,21	0,57±0,20	1,24±0,45	0,74±0,08	0,70±0,08	1,56±0,20
16:1c9	1,84±0,09	1,74±0,08	3,72±0,26	1,56±0,13	1,47±0,12	3,18±0,27	1,79±0,06	1,69±0,06	3,76±0,24
i 17:0	0,52±0,45	0,49±0,43	1,03±0,86	0,17±0,06	0,16±0,06	0,35±0,12	0,74±0,38	0,70±0,36	1,58±0,88
17:0	0,53±0,03	0,50±0,03	1,06±0,11	0,75±0,20	0,71±0,19	1,55±0,47	0,56±0,03	0,53±0,03	1,18±0,12
17:1c8	0,06±0,03	0,06±0,03	0,13±0,05	0,02±0,04	0,04±0,02	0,05±0,08	0,09±0,02	0,08±0,02	0,18±0,04
17:1c9	0,23±0,02	0,22±0,02	0,46±0,04	0,14±0,23	0,13±0,22	0,28±0,47	0,23±0,01	0,22±0,01	0,48±0,04
i 18:0	0,01±0,01	0,01±0,01	0,02±0,02	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
18:0	11,59±0,65	10,95±0,61	23,43±2,55	12,53±1,75	11,84±1,65	25,75±4,53	11,56±0,77	10,93±0,73	24,36±2,86
18:1c9	21,96±2,19	20,75±2,07	44,44±6,17	24,64±1,51	23,28±1,43	50,55±5,11	21,81±0,93	20,61±0,88	45,84±3,36
18:1c11	1,04±0,04	0,98±0,04	2,11±0,20	n.d	n.d	n.d	0,83±0,37	0,78±0,35	1,75±0,81
18:1c12	0,20±0,02	0,19±0,02	0,40±0,66	n.d	n.d	n.d	0,16±0,09	0,15±0,08	0,34±0,18
18:1t6+t8	0,21±0,02	0,20±0,02	0,42±0,06	n.d	n.d	n.d	0,16±0,09	0,15±0,08	0,35±0,18
18:1t9	0,18±0,07	0,17±0,07	0,37±0,15	n.d	n.d	n.d	0,14±0,08	0,13±0,07	0,29±0,16
18:1t10+t11	2,31±0,83	2,18±0,79	4,72±1,86	1,22±0,87	1,15±0,83	2,44±1,73	2,18±0,13	2,06±0,12	4,58±0,42
18:2t11c15	0,25±0,03	0,24±0,03	0,50±0,09	0,14±0,02	0,13±0,02	0,28±0,06	0,22±0,03	0,20±0,03	0,45±0,08
18:2	0,57±0,03	0,54±0,03	1,15±0,13	0,29±0,11	0,28±0,10	0,60±0,23	0,55±0,04	0,52±0,04	1,15±0,11
18:2n-6	1,48±0,08	1,40±0,08	2,99±0,39	1,54±0,10	1,45±0,10	3,14±0,20	1,46±0,11	1,38±0,10	3,07±0,24
18:3n-3	0,51±0,04	0,48±0,04	1,04±0,15	0,49±0,07	0,47±0,07	1,01±0,14	0,51±0,04	0,48±0,04	1,08±0,09
20:0	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,02	n.d	n.d	n.d	0,01±0,01	0,01±0,01	0,03±0,03
18:2c9t11	1,14±0,06	1,08±0,06	2,31±0,25	0,90±0,33	0,85±0,32	1,82±0,68	1,03±0,04	0,98±0,04	2,17±0,17
20:1c11	0,16±0,01	0,16±0,01	0,33±0,03	0,10±0,09	0,09±0,09	0,21±0,20	0,17±0,02	0,16±0,02	0,35±0,05
20:3n-3	0,08±0,00	0,07±0,00	0,15±0,02	0,05±0,03	0,05±0,03	0,11±0,06	0,07±0,00	0,07±0,00	0,16±0,01
20:4n-6	0,18±0,01	0,17±0,01	0,36±0,03	0,07±0,03	0,07±0,03	0,14±0,06	0,16±0,05	0,15±0,04	0,34±0,10
22:5n-3	0,09±0,01	0,08±0,01	0,17±0,02	0,06±0,04	0,06±0,03	0,13±0,07	0,09±0,01	0,08±0,01	0,18±0,02
22:6n-3	0,05±0,02	0,04±0,02	0,09±0,04	0,04±0,02	0,04±0,02	0,08±0,05	0,05±0,01	0,05±0,01	0,10±0,02

No quadro 7 resume-se o teor de colesterol total (mg/g queijo), o teor total de SFA (mg/g queijo), somatórios parciais (g/100 g AG), índices de avaliação nutricional na gordura do queijo e recomendações propostas pela literatura científica. Após observação do quadro verificou-se que ocorreu variação significativa no somatório SFA entre os queijos. Em relação aos MUFA não se registaram diferenças significativas. A nível dos TFA e PUFA não houve variação significativa entre o queijo Loreto e o queijo Valformoso, existindo diferenças significativas entre os queijos Loreto e Terra Nostra e Valformoso e Terra Nostra, apresentando este último o valor menor. Em termos dos ácidos gordos hipercolesterolémicos (H) e dos ácidos gordos hipocolesterolémicos (h) as variações significativas foram iguais às dos TFA e dos PUFA. Em relação aos índices nutricionais observou-se variação significativa no PUFA/SFA entre o queijo Terra Nostra e Valformoso bem como no queijo Terra Nostra e Loreto.

Quadro 7: Média (\pm DP) do teor de colesterol total, teor total de SFA, somatório parcial dos ácidos gordos, índices de avaliação nutricional na gordura dos queijos e recomendações nutricionais para a dieta humana. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

$\sum n-3$ = somatório de 18:3n-3, 20:3n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3; $\sum n-6$ = somatório de 18:2n-6 e 20:4n-6; $\sum H$ = somatório de 12:0, 14:0 e 16:0; $\sum h$ = 18:1c9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:4n-6, 22:5n-3 e 22:6n-3; $n-6:n-3 = \sum \text{PUFA } n-6 / \sum \text{PUFA } n-3$; $\text{PUFA/SFA} = \sum \text{PUFA} / \sum \text{SFA}$; $\text{CLA}/(\text{SFA}+\text{CHR}) = \text{ácido linoleico conjugado} / \text{somatório SFA e colesterol}$, expresso em mg/g queijo. (1) FAO (1994); (2) Department of Health U.K (1994); (3) Santos-Silva *et al.* (2002); (4) Eynard e Lopes (2003).

	Loreto	Terra Nostra	Valformoso	Recomendações para a dieta humana
Teor de CHR (mg/g queijo)	0,76 ^a \pm 0,06	0,81 ^a \pm 0,05	0,77 ^a \pm 0,04	300 mg/dia ⁽¹⁾
Teor de SFA (mg/g queijo)	124,89 ^a \pm 9,21	133,57 ^a \pm 5,91	132,57 ^a \pm 9,50	
Somat. Parciais (g/100 g AG)				
\sum SFA	61,86 ^a \pm 0,99	65,22 ^b \pm 0,97	63,11 ^c \pm 0,84	
\sum MUFA	27,52 ^a \pm 2,14	28,26 ^a \pm 1,39	27,15 ^a \pm 0,61	
\sum TFA	2,95 ^a \pm 0,92	1,35 ^b \pm 0,86	2,70 ^a \pm 0,27	
\sum PUFA	2,95 ^a \pm 0,14	2,54 ^b \pm 0,20	2,89 ^a \pm 0,17	
$\sum n-3$	0,72 ^a \pm 0,05	0,65 ^a \pm 0,11	0,72 ^a \pm 0,06	
$\sum n-6$	1,66 ^a \pm 0,08	1,61 ^a \pm 0,10	1,62 ^a \pm 0,11	
$\sum H$	43,74 ^a \pm 0,84	46,36 ^b \pm 1,67	44,28 ^a \pm 0,91	
$\sum h$	24,13 ^a \pm 2,21	26,74 ^b \pm 1,39	23,94 ^a \pm 1,01	
Índices				
n-6/n-3	2,30 ^a \pm 0,10	2,53 ^a \pm 0,39	2,24 ^a \pm 0,14	<4 ⁽²⁾
PUFA/SFA	0,05 ^a \pm 0,00	0,04 ^b \pm 0,00	0,05 ^a \pm 0,00	>0,45 ⁽²⁾
h/H	0,55 ^a \pm 0,05	0,58 ^a \pm 0,04	0,54 ^a \pm 0,02	~2 ⁽³⁾
CLA/(SFA+CHR)	0,024 ^a \pm 0,00	0,021 ^a \pm 0,00	0,025 ^a \pm 0,01	~0,1 ⁽⁴⁾
IA	2,47 ^a \pm 0,21	2,56 ^a \pm 0,22	2,55 ^a \pm 0,04	
IT	7,26 ^a \pm 0,43	7,12 ^a \pm 0,42	7,33 ^a \pm 0,13	

4.2.3. Teores de ácidos gordos das três marcas comerciais de manteiga

A figura ilustra os teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos presentes nas três manteigas. Em termos dos teores de SFA e MUFA ocorreram diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores assim como entre a manteiga Nova Açores e a manteiga Milhafre dos Açores. Os TFA e PUFA não evidenciaram diferenças significativas entre as três marcas de manteigas.

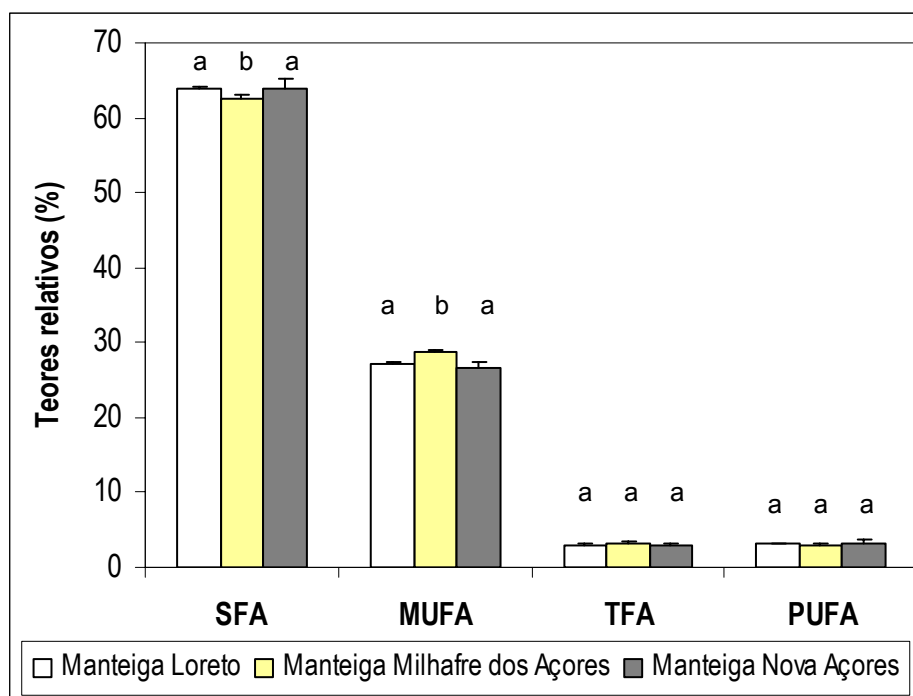


Figura 12: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos das diferentes classes de ácidos gordos das três manteigas analisadas. As letras diferentes, para cada soma parcial de AG, correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$).

Os resultados obtidos em termos de teor relativo (g/100 g AG), teor específico (g/100 g lípidos) e teor total (mg/g manteiga) da composição dos ácidos gordos da manteiga Loreto, manteiga Milhafre dos Açores e manteiga Nova Açores estão apresentados no quadro 8.

Quadro 8: Valores médios (\pm DP) dos teores relativos, teores específicos e teores totais de ácidos gordos da manteiga Loreto, manteiga Milhafre dos Açores e manteiga Nova Açores (n=10).

Ácidos Gordos	Loreto			Milhafre dos Açores			Nova Açores		
	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g líp.)	T.Total (mg/g mant.)	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g líp.)	T.Total (mg/g mant.)	T. Relativo (g/100 g AG)	T. Espec. (g/100 g líp.)	T.Total (mg/g mant.)
6:0	1,84±0,05	1,74±0,05	14,16±0,43	1,83±0,14	1,73±0,13	14,17±1,20	1,62±0,58	1,53±0,55	12,49±4,45
8:0	0,98±0,02	0,92±0,02	7,52±0,20	0,93±0,03	0,88±0,03	7,20±0,26	0,99±0,16	0,94±0,15	7,81±1,26
10:0	2,22±0,06	2,10±0,06	17,07±0,51	2,03±0,08	1,92±0,08	15,64±0,66	2,50±0,11	2,36±0,10	19,65±0,93
12:0	3,34±0,02	3,16±0,01	25,68±0,17	2,84±0,11	2,68±0,10	21,87±0,80	3,71±0,16	3,50±0,15	29,13±1,42
i 14:0	0,12±0,00	0,11±0,00	0,98±0,02	0,12±0,01	0,12±0,01	0,95±0,06	0,09±0,01	0,09±0,01	0,74±0,04
14:0	11,16±0,11	10,54±0,10	85,79±1,05	10,52±0,27	9,94±0,26	81,04±2,19	11,48±0,25	10,85±0,23	90,20±2,19
14:1c9	1,40±0,18	1,32±0,17	10,73±1,37	1,23±0,17	1,16±0,16	9,44±1,26	1,34±0,20	1,27±0,19	10,54±1,56
i 15:0	0,28±0,01	0,26±0,01	2,13±0,08	0,30±0,02	0,29±0,02	2,33±0,18	0,25±0,02	0,24±0,01	1,97±0,11
a i 15:0	0,23±0,20	0,21±0,19	1,74±1,53	0,37±0,15	0,35±0,14	2,87±1,18	0,23±0,20	0,22±0,19	1,84±1,59
15:0	1,14±0,02	1,07±0,02	8,74±0,20	1,12±0,05	1,06±0,05	8,63±0,42	1,13±0,03	1,07±0,03	8,87±0,22
i 16:0	0,26±0,01	0,24±0,01	1,97±0,05	0,27±0,02	0,25±0,02	2,04±0,16	0,24±0,01	0,23±0,01	1,89±0,09
16:0	30,47±0,45	28,79±0,42	234,29±3,50	29,52±0,88	27,90±0,83	227,49±6,91	30,11±1,10	28,45±1,03	236,51±8,98
16:1	0,70±0,04	0,66±0,05	5,36±0,42	0,73±0,008	0,69±0,07	5,62±0,65	0,75±0,04	0,71±0,04	5,88±0,29
16:1c9	1,89±0,03	1,79±0,03	14,53±0,23	1,83±0,19	1,73±0,18	14,129±1,37	1,88±0,01	1,78±0,01	14,77±0,09
i 17:0	0,11±0,03	0,10±0,03	0,85±0,21	0,14±0,04	0,13±0,04	1,10±0,32	0,11±0,01	0,10±0,01	0,84±0,11
17:0	0,51±0,04	0,48±0,04	3,93±0,30	0,59±0,08	0,56±0,08	4,54±0,65	0,55±0,07	0,52±0,07	4,29±0,57
17:1c8	0,06±0,01	0,06±0,01	0,50±0,07	0,06±0,03	0,06±0,03	0,46±0,26	0,08±0,01	0,08±0,01	0,63±0,08
17:1c9	0,23±0,00	0,21±0,00	1,75±0,02	0,23±0,03	0,22±0,03	1,80±0,21	0,23±0,01	0,21±0,01	1,78±0,05
i 18:0	0,01±0,01	0,01±0,01	0,07±0,07	n.d	n.d	n.d	0,00±0,01	0,00±0,01	0,03±0,07
18:0	11,13±0,27	10,51±0,25	85,55±2,01	11,83±0,53	11,18±0,50	91,15±4,46	10,76±0,53	10,17±0,50	84,48±3,88
18:1c9	21,35±0,22	20,17±0,21	164,13±1,10	23,29±0,65	22,01±0,61	179,53±6,44	20,91±0,59	19,76±0,56	164,25±4,33
18:1c11	1,05±0,01	0,99±0,01	8,04±0,12	0,98±0,29	0,92±0,27	7,51±2,22	1,14±0,03	1,08±0,03	8,98±0,24
18:1c12	0,22±0,01	0,21±0,01	1,69±0,07	0,19±0,07	0,18±0,07	1,44±0,54	0,25±0,01	0,24±0,01	1,99±0,08
18:1t6+t8	0,25±0,02	0,23±0,02	1,90±0,16	0,19±0,11	0,18±0,10	1,49±0,81	0,24±0,09	0,22±0,08	1,85±0,69
18:1t9	0,15±0,09	0,14±0,09	1,14±0,72	0,18±0,09	0,17±0,08	1,36±0,67	0,04±0,08	0,03±0,08	0,28±0,63
18:1t10+t11	2,35±0,13	2,22±0,12	18,09±1,02	2,44±0,24	2,30±0,23	18,76±1,87	2,49±0,21	2,36±0,20	19,57±1,60
18:2t11c15	0,25±0,02	0,24±0,01	1,95±0,12	0,28±0,05	0,26±0,05	2,13±0,39	0,25±0,01	0,24±0,01	2,00±0,10
18:2	0,57±0,01	0,54±0,01	4,39±0,11	0,54±0,11	0,51±0,11	4,14±0,85	0,61±0,07	0,58±0,06	4,82±0,50
18:2n-6	1,55±0,06	1,46±0,06	11,91±0,48	1,45±0,09	1,37±0,09	11,16±0,76	1,66±0,25	1,56±0,23	13,01±1,95
18:3n-3	0,57±0,01	0,54±0,01	4,37±0,12	0,55±0,07	0,52±0,06	4,26±0,54	0,52±0,13	0,49±0,13	4,11±1,06
20:0	0,02±0,00	0,02±0,00	0,18±0,02	0,02±0,01	0,02±0,01	0,13±0,07	0,02±0,00	0,02±0,00	0,18±0,03
18:2c9t11	1,11±0,03	1,05±0,02	8,54±0,22	1,15±0,10	1,08±0,10	8,84±0,76	0,93±0,21	0,87±0,20	7,27±1,64
20:1c11	0,16±0,00	0,15±0,00	1,20±0,01	0,15±0,02	0,15±0,02	1,19±0,13	0,13±0,01	0,13±0,01	1,05±0,06
20:3n-3	0,07±0,00	0,07±0,00	0,56±0,02	0,06±0,01	0,06±0,01	0,50±0,05	0,07±0,02	0,07±0,02	0,54±0,14
20:4n-6	0,18±0,01	0,17±0,01	1,35±0,10	0,13±0,02	0,13±0,02	1,03±0,17	0,16±0,04	0,15±0,03	1,23±0,27
22:5n-3	0,09±0,02	0,09±0,02	0,70±0,16	0,08±0,03	0,07±0,03	0,61±0,24	0,08±0,03	0,08±0,03	0,64±0,24
22:6n-3	0,07±0,02	0,06±0,02	0,52±0,15	0,06±0,03	0,05±0,03	0,43±0,22	0,07±0,01	0,06±0,01	0,51±0,11

No quadro 9 constata-se o teor de colesterol total (mg/g manteiga), o teor total de SFA (mg/g manteiga), somatórios parciais (g/100 g AG) e índices de avaliação nutricional na gordura da manteiga.

Quadro 9: Média (\pm DP) do teor total de colesterol, teor total de SFA, somatório parcial dos ácidos gordos e índices de avaliação nutricional na gordura das manteigas e recomendações nutricionais para a dieta humana. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

$\sum n-3$ = somatório de 18:3n-3, 20:3n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3; $\sum n-6$ = somatório de 18:2n-6 e 20:4n-6; $\sum H$ = somatório de 12:0, 14:0 e 16:0; $\sum h$ = 18:1c9, 18:2n-6, 18:3n-3; 20:4n-6, 22:5n-3 e 22:6n-3; $n-6:n-3 = \sum \text{PUFA } n-6 / \sum \text{PUFA } n-3$; $\text{PUFA/SFA} = \sum \text{PUFA} / \sum \text{SFA}$; $\text{CLA}/(\text{SFA}+\text{CHR}) = \text{ácido linoleico conjugado} / \text{somatório SFA e colesterol}$, expresso em mg/g manteiga. (1) FAO (1994); (2) Department of Health U.K (1994); (3) Santos-Silva *et al.* (2002); (4) Eynard e Lopes (2003).

	Loreto	Milhafre dos Açores	Nova Açores	Recomendações para a dieta humana
Teor de CHR (mg/g mant.)	3,62 ^a \pm 0,53	4,55 ^b \pm 1,13	3,30 ^a \pm 0,35	300 mg/dia ⁽¹⁾
Teor de SFA (mg/g mant.)	490,56 ^a \pm 3,65	481,13 ^a \pm 8,57	500,90 ^b \pm 12,06	
Somat. Parciais (g/100 g AG)				
\sum SFA	63,79 ^a \pm 0,30	62,43 ^b \pm 0,68	63,80 ^a \pm 1,33	
\sum MUFA	27,04 ^a \pm 0,34	28,69 ^b \pm 0,44	26,72 ^a \pm 0,77	
\sum TFA	3,00 ^a \pm 0,16	3,08 ^a \pm 0,30	3,02 ^a \pm 0,22	
\sum PUFA	3,09 ^a \pm 0,04	2,87 ^a \pm 0,19	3,16 ^a \pm 0,47	
\sum n-3	0,80 ^a \pm 0,04	0,75 ^a \pm 0,10	0,74 ^a \pm 0,18	
\sum n-6	1,72 ^{ab} \pm 0,07	1,58 ^b \pm 0,08	1,81 ^a \pm 0,28	
\sum H	44,96 ^a \pm 0,35	44,88 ^b \pm 0,78	45,30 ^a \pm 1,44	
\sum h	23,64 ^a \pm 0,24	25,43 ^b \pm 0,76	23,25 ^a \pm 0,73	
Índices				
n-6/n-3	2,16 ^a \pm 0,18	2,14 ^a \pm 0,32	2,62 ^a \pm 0,75	<4 ⁽²⁾
PUFA/SFA	0,05 ^a \pm 0,00	0,05 ^a \pm 0,00	0,05 ^a \pm 0,01	>0,45 ⁽²⁾
h/H	0,53 ^a \pm 0,01	0,59 ^b \pm 0,02	0,51 ^a \pm 0,03	~2 ⁽³⁾
CLA/(SFA+CHR)	0,013 ^a \pm 0,001	0,017 ^b \pm 0,003	0,015 ^{ab} \pm 0,004	~0,1 ⁽⁴⁾
IA	2,60 ^a \pm 0,04	2,36 ^b \pm 0,06	2,67 ^a \pm 0,16	
IT	7,63 ^a \pm 0,16	7,14 ^a \pm 0,35	7,44 ^a \pm 0,68	

Os teores totais de SFA não revelaram variações significativas entre a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores, existindo diferenças significativas entre a manteiga Nova Açores e a manteiga Loreto e entre a manteiga Nova Açores e a manteiga Milhafre dos Açores. Os teores relativos de SFA e MUFA apresentaram diferenças significativas entre a manteiga

Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto assim como, entre a manteiga Milhafre dos Açores e a Nova Açores. Em relação aos TFA, PUFA e ácidos gordos n-3 não houve diferenças significativas entre as três manteigas. Os ácidos gordos hipercolesterolémicos (H) e ácidos hipocolesterolémicos (h) registaram variações significativas entre a manteiga Milhafre dos Açores e manteiga Loreto assim como, entre a manteiga Milhafre dos Açores e Nova Açores. Os índices nutricionais n-3/n-6, PUFA/SFA e IT não exibiram diferenças significativas. O índice h/H apresentou variação significativa entre a manteiga Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto assim como, entre a manteiga Milhafre dos Açores e a Nova Açores. O índice CLA/(SFA+CHR) registou diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores.

4.3. Isómeros conjugados do ácido linoleico

A determinação dos perfis de isómeros conjugados do ácido linoleico por HPLC-DAD, em relação ao leite, queijo e manteiga, resultou na obtenção de cromatogramas semelhantes ao apresentado na figura 13.

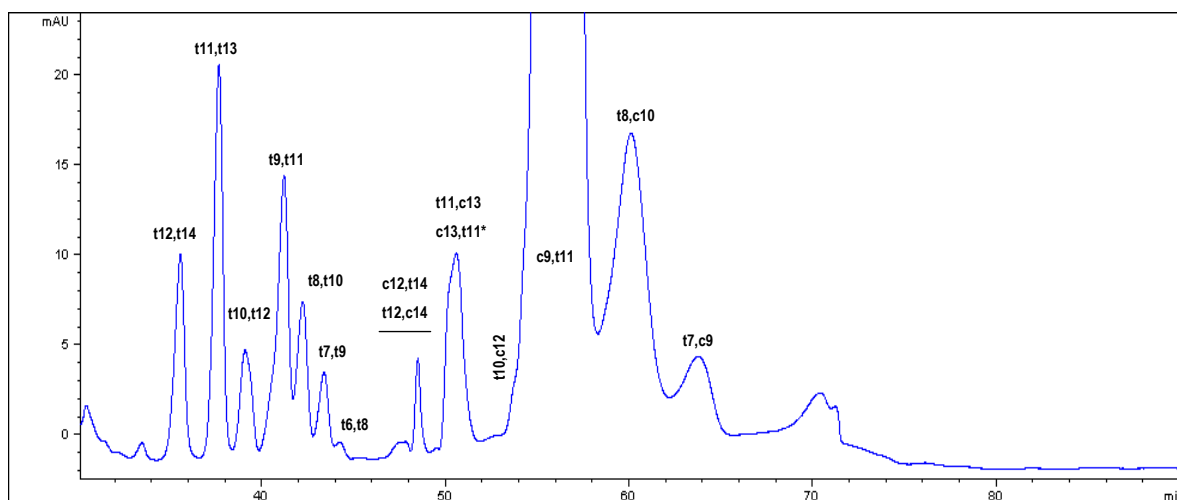


Figura 13: Cromatograma típico do perfil de isómeros do CLA para uma amostra de queijo. * Nos leites e manteigas foi possível separar os dois isómeros t_{11},c_{13} e c_{11},t_{13} o que não aconteceu no queijo.

4.3.1. Caracterização das duas marcas comerciais de leite

Através da análise dos teores relativos totais de isómeros CLA por categorias, observou-se que predomina a categoria c/t , com aproximadamente 90% do total, não se verificando valores significativamente diferentes nos dois leites.

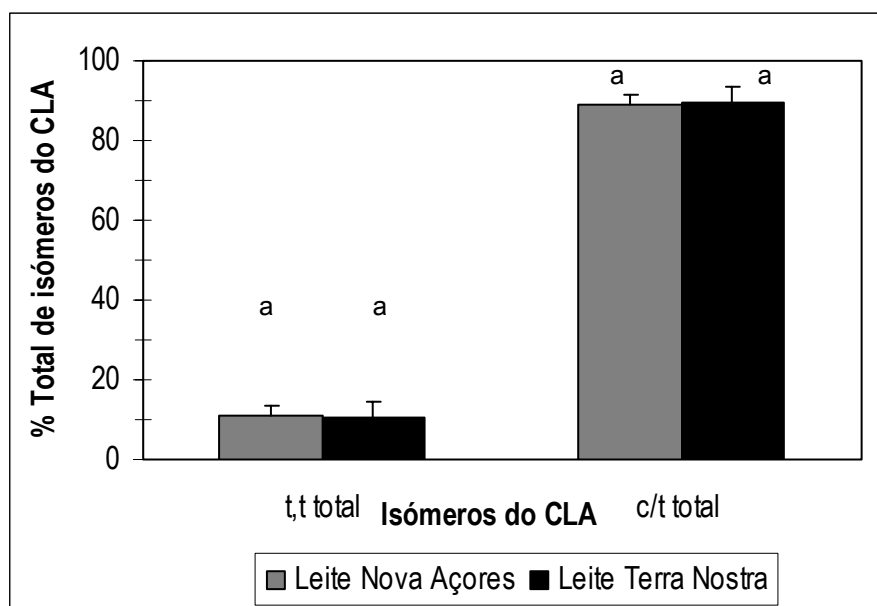


Figura 14: Média (\pm DP) dos teores relativos totais de isómeros do CLA nos leites. A letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

Em relação ao perfil de isómeros do CLA (Figura 15) realça-se a maior quantidade do isómero c9t11 face a todos os outros, não apresentando diferenças significativas entre as duas marcas de leite.

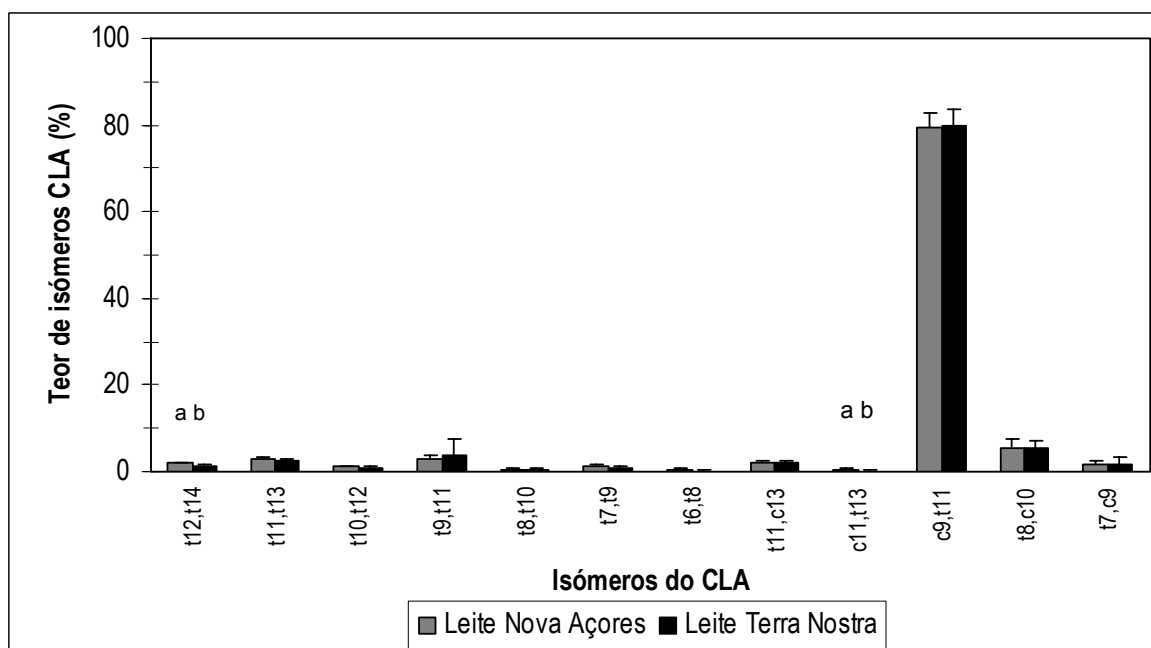


Figura 15: Média (\pm DP) dos teores relativos de isómeros do CLA no leite Nova Açores e no leite Terra Nostra. A letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

O quadro 10 reflecte os resultados obtidos em teor total (mg/ml leite), teor específico (mg/g lípidos) e teor relativo (% do total CLA) do perfil de isómeros do CLA dos dois leites. Conforme podemos observar o teor total de CLA é no leite Terra Nostra relativamente maior do

que o leite Nova Açores. No isômero c9t11 não evidenciou diferenças significativas entre as duas marcas comerciais.

Quadro 10: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isômeros do CLA e teor total e específico do CLA, referente ao leite Nova Açores e leite Terra Nostra. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Leite	
	Nova Açores	Terra Nostra
Teor total (mg/ml leite)	0,011^a \pm0,004	0,015^a \pm0,009
Teor específico (mg/g lípidos)	10,50^a \pm5,71	11,41^a \pm6,74
Isômeros CLA (% do total CLA)		
t12,t14	1,90 ^a \pm 0,31	1,30 ^b \pm 0,31
t11,t13	2,93 ^a \pm 0,43	2,72 ^a \pm 0,27
t10,t12	1,11 ^a \pm 0,16	0,98 ^a \pm 0,18
t9,t11	2,98 ^a \pm 0,97	3,81 ^a \pm 3,71
t8,t10	0,62 ^a \pm 0,23	0,53 ^a \pm 0,10
t7,t9	1,10 ^a \pm 0,57	0,82 ^a \pm 0,24
t6,t8	0,41 ^a \pm 0,32	0,21 ^a \pm 0,10
t,t total	11,04^a \pm2,65	10,37^a \pm4,07
t11,c13	2,21 ^a \pm 0,21	2,30 ^a \pm 0,32
c11,t13	0,50 ^a \pm 0,42	0,20 ^b \pm 0,04
c9,t11	79,30 ^a \pm 3,54	79,88 ^a \pm 3,89
t8,c10	5,37 ^a \pm 2,022	5,37 ^a \pm 1,86
t7,c9	1,56 ^a \pm 0,93	1,88 ^a \pm 1,38
c/t total	88,95^a \pm2,64	89,62^a \pm4,07

4.3.2. Caracterização das três marcas comerciais de queijo

Após análise das três marcas de queijo relativamente aos teores totais relativos de isômeros do CLA por categorias, predomina a categoria *c/t* com valores de 91% do total, não apresentando variação significativa nas 3 marcas comerciais (Figura 16).

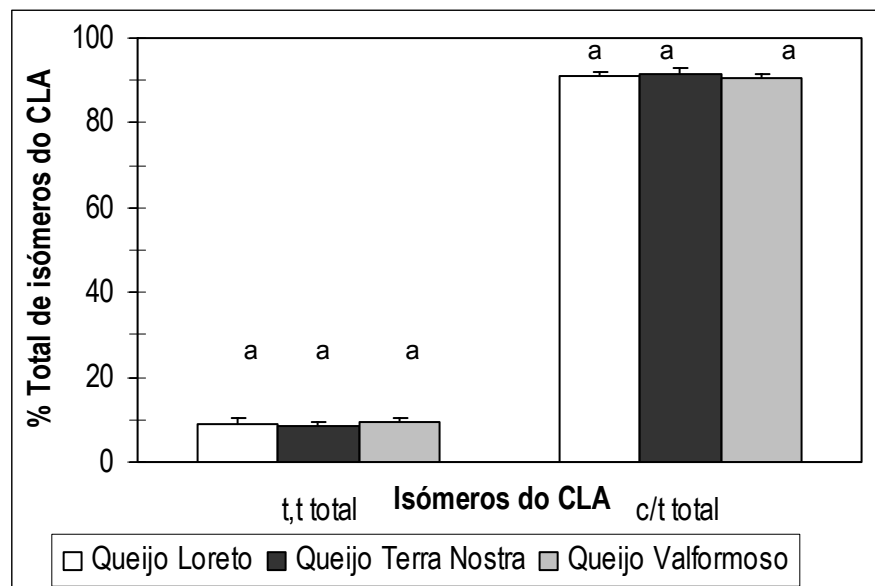


Figura 16: Média (±DP) dos teores relativos do total de isômeros do CLA dos três queijos. A letras diferentes correspondem diferenças significativas (P<0,05).

Em relação ao perfil de isômeros do CLA (Figura 17) sobressai o isômero c9t11 apresentando diferenças significativas entre os três queijos.

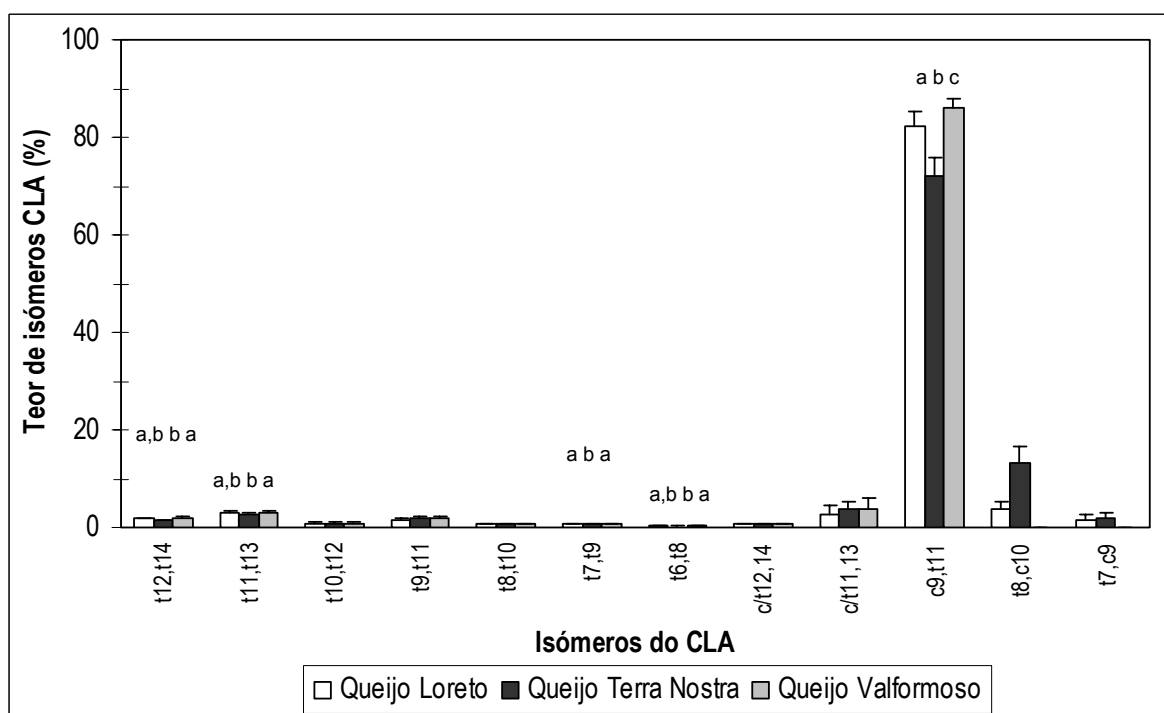


Figura 17: Média (±DP) dos teores relativos de isômeros do CLA dos três queijos. A letras diferentes correspondem diferenças significativas (P<0,05).

O quadro 11 apresenta o teor total (mg/ml leite), o teor específico (mg/g lípidos) e teor relativo (% do total CLA) do perfil de isômeros do CLA das três marcas comerciais de queijo.

Quadro 11: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isómeros do CLA e teor total e específico do CLA referente aos três queijos. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Queijo		
	Loreto	Terra Nostra	Valformoso
Teor total de CLA (mg/g queijo)	3,05^a \pm0,90	2,68^a \pm0,97	3,32^a \pm1,45
Teor específico de CLA (mg/g lípid.)	14,28^a \pm4,30	12,39^a \pm4,58	14,82^a \pm6,27
Isómeros CLA (% do total CLA)			
t12,t14	1,74 ^{a,b} \pm 0,24	1,46 ^b \pm 0,14	1,77 ^a \pm 0,32
t11,t13	3,01 ^{a,b} \pm 0,43	2,69 ^b \pm 0,16	3,09 ^a \pm 0,22
t10,t12	0,93 ^a \pm 0,14	0,90 ^a \pm 0,17	0,94 ^a \pm 0,15
t9,t11	1,69 ^a \pm 0,30	1,75 ^a \pm 0,40	1,92 ^a \pm 0,33
t8,t10	0,68 ^a \pm 0,12	0,62 ^a \pm 0,21	0,64 ^a \pm 0,10
t7,t9	0,73 ^a \pm 0,10	0,59 ^b \pm 0,11	0,74 ^a \pm 0,06
t6,t8	0,21 ^{a,b} \pm 0,12	0,15 ^b \pm 0,04	0,24 ^a \pm 0,04
t,t total	9,00^a \pm1,18	8,25^a \pm0,95	9,37^a \pm0,85
c/t12,14	0,75 ^a \pm 0,13	0,62 ^a \pm 0,16	0,73 ^a \pm 0,10
c/t 11,13	2,57 ^a \pm 2,06	3,90 ^a \pm 1,33	3,75 ^a \pm 2,11
c9,t11	82,35 ^a \pm 2,92	72,25 ^b \pm 3,44	86,09 ^c \pm 1,89
t8,c10	3,75 ^a \pm 1,60	13,03 ^b \pm 3,59	n.d
t7,c9	1,56 ^a \pm 1,12	1,91 ^a \pm 1,01	n.d
c/t total	90,99^a \pm1,18	91,74^a \pm0,95	90,62^a \pm0,85

Em relação aos isómeros do CLA (Quadro 11), o c9t11 apresenta variação significativa entre todos queijos, tendo o queijo Valformoso o valor superior.

4.3.3. Caracterização das três marcas comerciais de manteiga

Os teores relativos dos totais de isómeros do CLA por categorias nas três manteigas (Figura 18) revelaram a predominância dos c/t com cerca de 92% do total, verificando-se diferenças significativas entre a manteiga Nova Açores e a manteiga Loreto. Em relação aos isómeros t/t, constata-se a mesma situação de variação significativa, tendo a manteiga Nova Açores um valor superior.

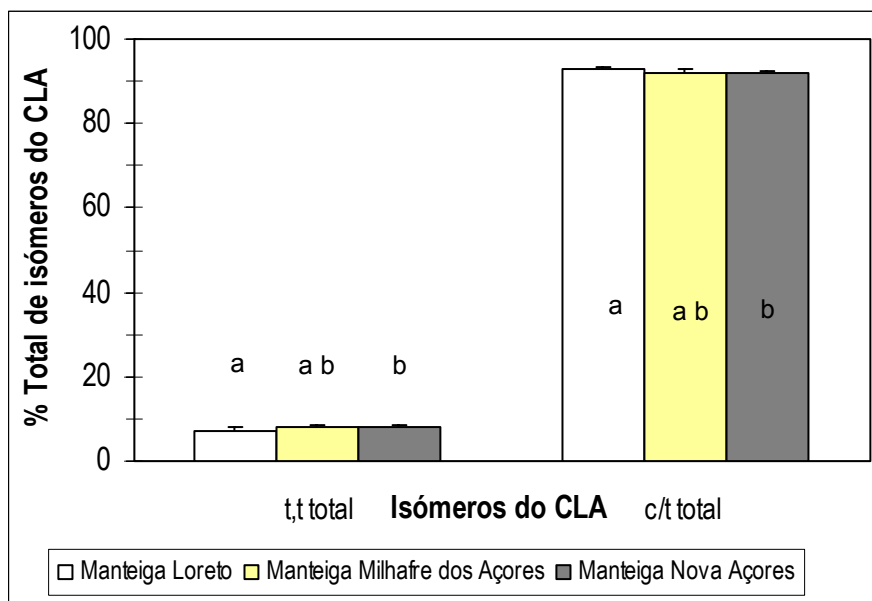


Figura 18: Média (\pm DP) dos teores relativos do total de isómeros do CLA das três manteigas. As letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

A figura seguinte ilustra os resultados em teor relativo (%) dos isómeros do CLA nas três manteigas. O isómero c9t11 apresenta valores mais elevados, não evidenciando variação significativa entre as três marcas comerciais.

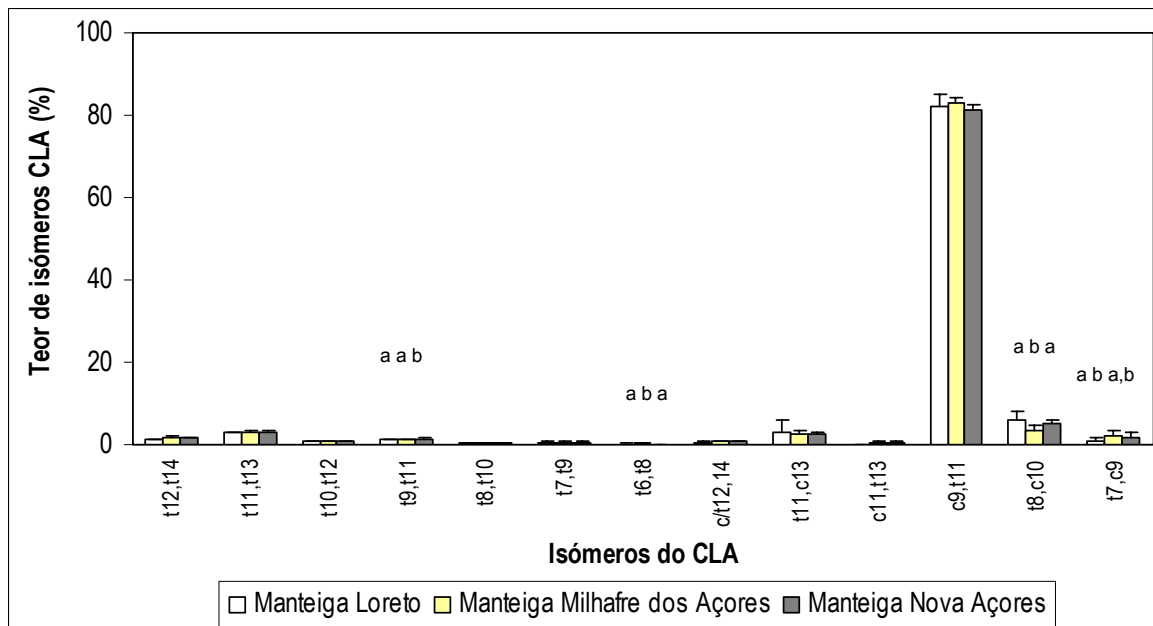


Figura 19: Média (\pm DP) dos teores relativos de isómeros do CLA nas três manteigas. As letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

O quadro 12 salienta o teor total (mg/g manteiga), o teor específico (mg/g lípidos) e teor relativo (% do total CLA) do perfil de isómeros do CLA das três marcas de manteiga.

Quadro 12: Média (\pm DP) dos teores relativos dos isómeros do CLA e teor total e específico do CLA referente às três manteigas. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Manteiga		
	Loreto	Milhafre dos Açores	Nova Açores
Teor total de CLA (mg/g mant.)	6,57^a \pm0,57	8,35^b \pm1,23	7,71^{a,b} \pm1,78
Teor específico de CLA (mg/g lípid.)	8,08^a \pm0,72	10,05^b \pm1,49	9,47^{a,b} \pm2,19
Isómeros CLA (% do total CLA)			
t12,t14	1,38 ^a \pm 0,10	1,62 ^a \pm 0,43	1,58 ^a \pm 0,16
t11,t13	2,79 ^a \pm 0,14	2,87 ^a \pm 0,33	3,03 ^a \pm 0,18
t10,t12	0,82 ^a \pm 0,10	0,87 ^a \pm 0,15	0,82 ^a \pm 0,13
t9,t11	1,12 ^a \pm 0,15	1,15 ^a \pm 0,09	1,34 ^b \pm 0,21
t8,t10	0,44 ^a \pm 0,08	0,44 ^a \pm 0,11	0,48 ^a \pm 0,08
t7,t9	0,62 ^a \pm 0,09	0,63 ^a \pm 0,10	0,59 ^a \pm 0,17
t6,t8	0,18 ^a \pm 0,06	0,28 ^b \pm 0,09	0,15 ^a \pm 0,05
t,t total	7,34^a \pm0,63	7,86^{a,b} \pm0,64	8,00^b \pm0,41
c/t12,14	0,62 ^a \pm 0,07	0,64 ^a \pm 0,17	0,75 ^a \pm 0,10
t 11,c13	3,05 ^a \pm 2,83	2,56 ^a \pm 0,92	2,45 ^a \pm 0,51
c11,t13	n.d	0,49 ^a \pm 0,23	0,44 ^a \pm 0,26
c9,t11	82,11 ^a \pm 3,06	82,85 ^a \pm 1,32	81,42 ^a \pm 1,34
t8,c10	6,07 ^a \pm 1,83	3,37 ^b \pm 1,32	5,06 ^a \pm 1,05
t7,c9	0,81 ^a \pm 0,71	2,24 ^b \pm 1,36	1,88 ^{a,b} \pm 1,24
c/t total	92,66^a \pm0,63	92,14^{a,b} \pm0,64	92,00^b \pm0,41

4.4. Perfil de colesterol

De acordo com a metodologia analítica, a determinação do perfil de colesterol pela técnica HPLC-UV, no leite, queijo e manteiga resultou na obtenção de cromatograma típico ao apresentado na figura 20.

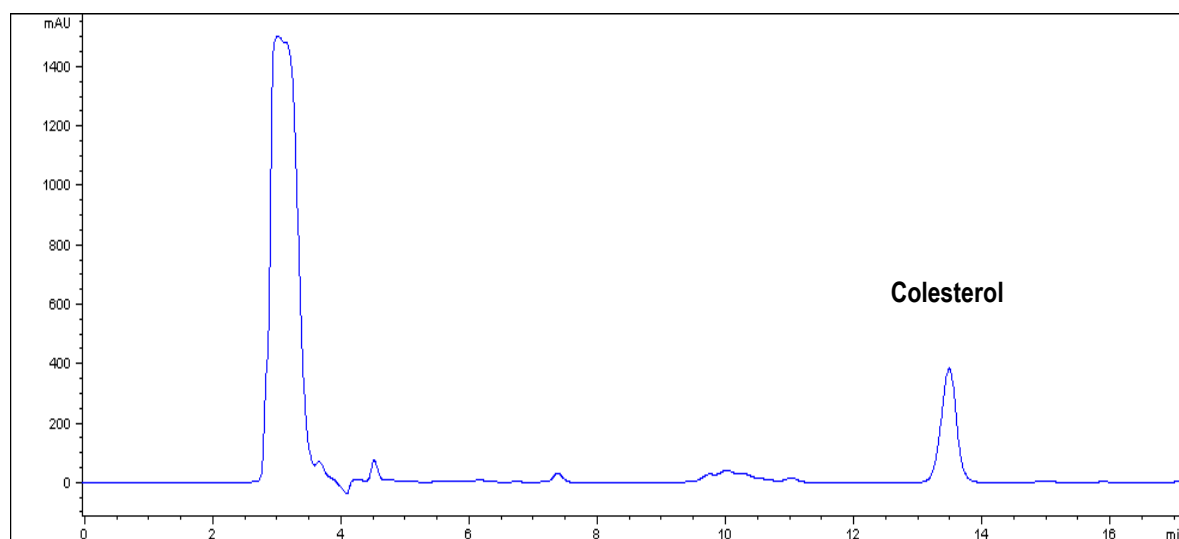


Figura 20: Cromatograma típico de HPLC-UV do colesterol no leite, queijo e manteiga, com detecção a 202 nm.

4.4.1. Caracterização das duas marcas comerciais de leite

No quadro 13 é apresentada a comparação estabelecida entre os leites meio-gordo em estudo, relativamente ao seu teor de colesterol total (mg/ml leite) assim como o teor específico (mg/g lípidos).

Quadro 13: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/ml leite) e colesterol específico (mg/g lípidos) do leite meio-gordo. A letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Terra Nostra	Nova Açores
Colesterol específico (mg/g lípidos)	33,19 ^a \pm 5,02	36,19 ^a \pm 11,34
Colesterol total (mg/ml leite)	0,43 ^a \pm 0,04	0,42 ^a \pm 0,04

O teor de colesterol total e específico não revelaram diferenças significativas entre o leite Terra Nostra e o leite Nova Açores.

4.4.2. Caracterização das três marcas comerciais de queijo

O quadro 14 reúne os resultados de colesterol total (mg/g queijo) e colesterol específico (mg/g lípidos) obtidos nos três queijos.

Quadro 14: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/g lípidos) e colesterol específico (mg/g lípidos) dos três queijos. A letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Terra Nostra	Loreto	Valformoso
Colesterol específico (mg/g lípid.)	3,75 ^a \pm 0,31	3,50 ^a \pm 0,23	3,50 ^a \pm 0,37
Colesterol total (mg/g queijo)	0,81 ^a \pm 0,05	0,76 ^a \pm 0,06	0,77 ^a \pm 0,04

O teor total e específico de colesterol não apresentou diferenças significativas nos três queijos.

4.4.3. Caracterização das três marcas comerciais de manteiga

O quadro 15 reúne os resultados de colesterol total (mg/g manteiga) e colesterol específico (mg/g lípidos) obtidos nas três manteigas. Em relação ao teor de colesterol específico, constatou-se que existe variação significativa entre a manteiga Milhafre dos Açores e Nova Açores, tendo a manteiga Milhafre dos Açores o valor mais elevado. No que concerne, ao

colesterol total existiram diferenças significativas entre a manteiga Milhafre dos Açores e Loreto e Milhafre dos Açores e Nova Açores.

Quadro 15: Valores médios (\pm DP) dos teores de colesterol total (mg/g lípidos) e colesterol específico (mg/g lípidos) das três manteigas. A letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Milhafre dos Açores	Loreto	Nova Açores
Colesterol específico (mg/g lípid.)	5,48 ^a \pm 1,36	4,45 ^{a,b} \pm 0,64	4,05 ^b \pm 0,44
Colesterol total (mg/g manteiga)	4,55 ^a \pm 1,12	3,62 ^b \pm 0,53	3,30 ^b \pm 0,35

4.5. Teor de vitaminas antioxidantes lipossolúveis

A figura 21 representa um cromatograma típico do perfil do β -caroteno do leite, queijo e manteiga determinado por HPLC-UV.

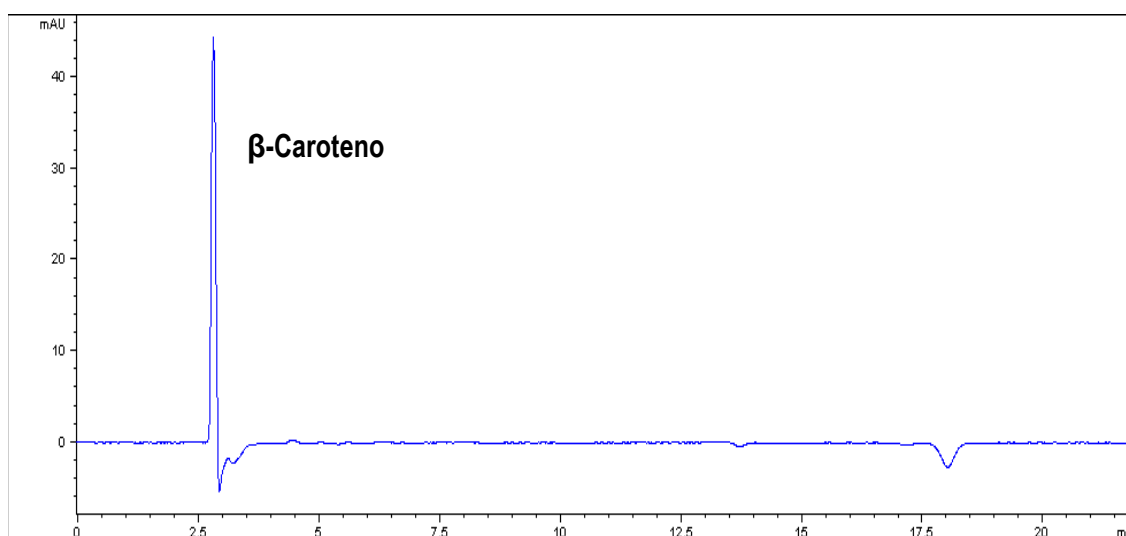


Figura 21: Cromatograma típico de HPLC-UV do β -caroteno no leite, queijo e manteiga.

Conforme podemos observar, o cromatograma seguinte (Figura 22) exhibe o perfil de algumas vitaminas antioxidantes lipossolúveis determinadas por HPLC-FD.

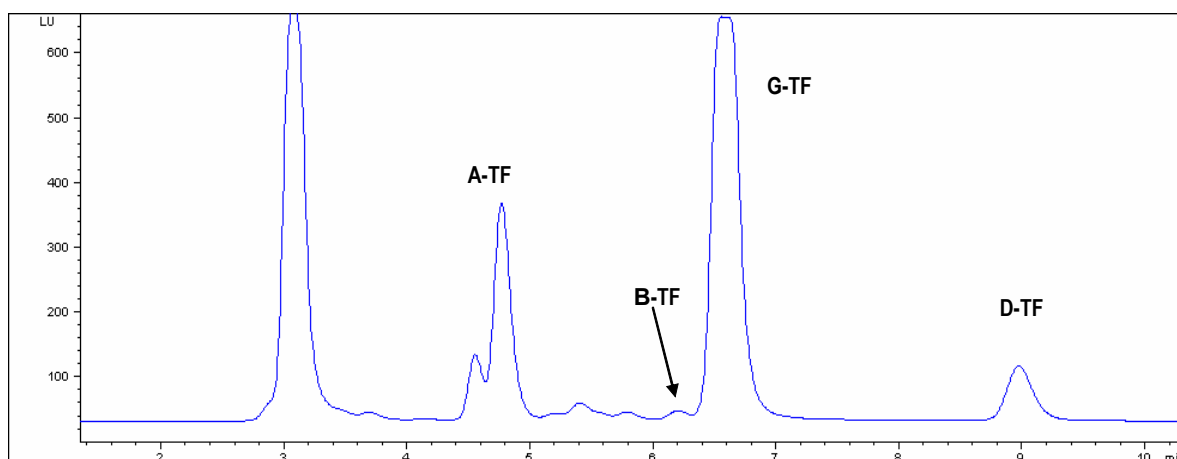


Figura 22: Cromatograma típico de algumas vitaminas lipossolúveis (A-TF, B-TF, G-TF e D-TF) no leite, queijo e manteiga analisados.

A figura 23 ilustra o cromatograma do perfil de ésteres de retinol e retinol livre no leite, queijo e manteiga obtido pela técnica de HPLC-UV.

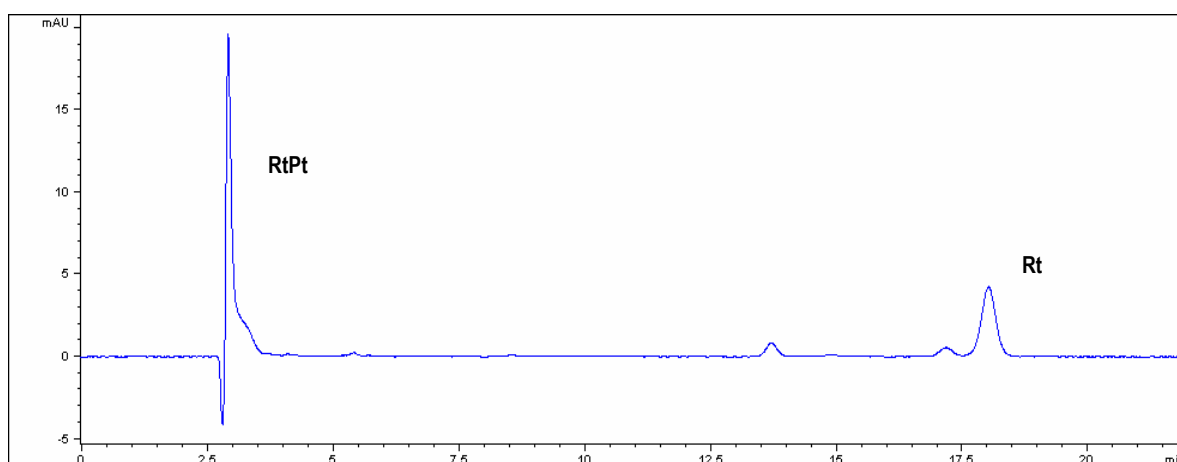


Figura 23: Cromatograma típico do palmitato de retinol (RtPt) e retinol livre (Rt) presentes no leite, queijo e manteiga. Na manteiga não foi possível quantificar o retinol livre.

4.5.1. Caracterização das vitaminas A e E das duas marcas comerciais de leite

O β -caroteno (B-CT), α -tocoferol (A-TF) e ésteres de retinol, não mostraram variação significativa entre os dois leites (Figura 24).

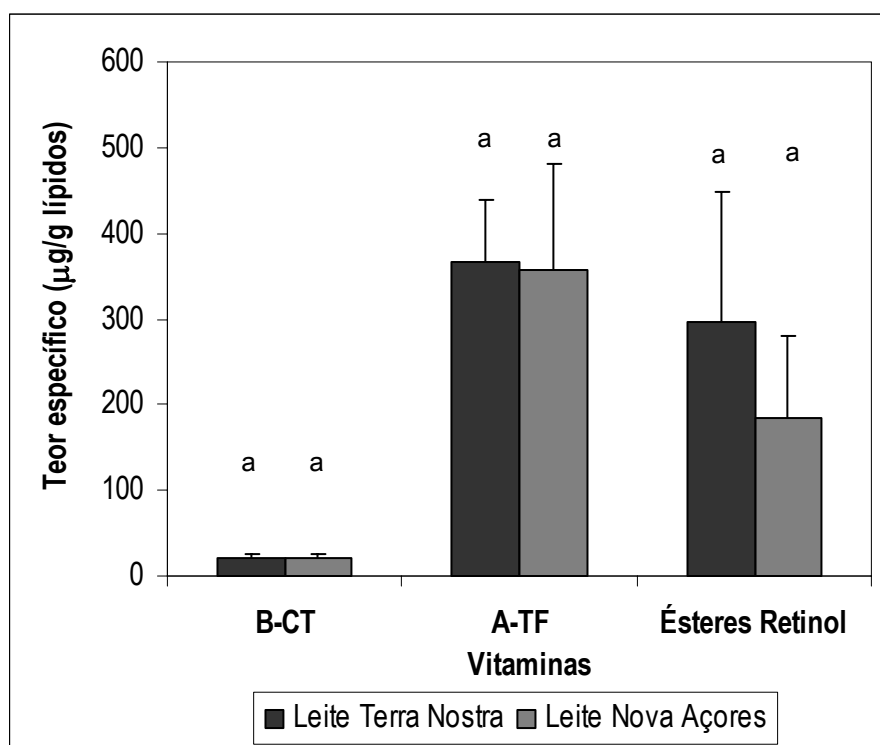


Figura 24: Média (\pm DP) do teor específico de β -caroteno, α -tocoferol e ésteres de retinol no leite Terra Nostra e Leite Nova Açores. As letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

No quadro 16 constam os resultados obtidos para o teor total β -caroteno, α -tocoferol, ésteres de retinol e retinol livre ($\mu\text{g/ml}$ leite). Apenas se verificaram diferenças significativas para o teor de ésteres de retinol e retinol livre ($P < 0,05$).

Quadro 16: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, α -tocoferol, ésteres de retinol e retinol livre presente no leite Terra Nostra e leite Nova Açores. As letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Terra Nostra	Nova Açores
Teor total ($\mu\text{g/ml}$ leite)		
β -caroteno	0,29 ^a \pm 0,05	0,27 ^a \pm 0,06
α -tocoferol	4,86 ^a \pm 0,89	4,79 ^a \pm 0,73
Ésteres de retinol	3,74 ^a \pm 1,41	2,28 ^b \pm 1,36
Retinol livre	0,01 ^a \pm 0,001	0,01 ^b \pm 0,001

4.5.2. Caracterização das vitaminas A e E das três marcas comerciais de queijo

Pela análise do teor específico (mg/g lípidos) do perfil vitamínico (Figura 25), constou-se que β -caroteno apresentou variação significativa para o queijo Valformoso, apresentando este um valor inferior aos outros dois queijos.

No α -tocoferol existiu diferença significativa entre o queijo Terra Nostra e o queijo Valformoso. Não existindo diferenças para o queijo Loreto.

O β -tocoferol, γ -tocoferol e os ésteres de retinol, não mostraram variação significativa para os três queijos.

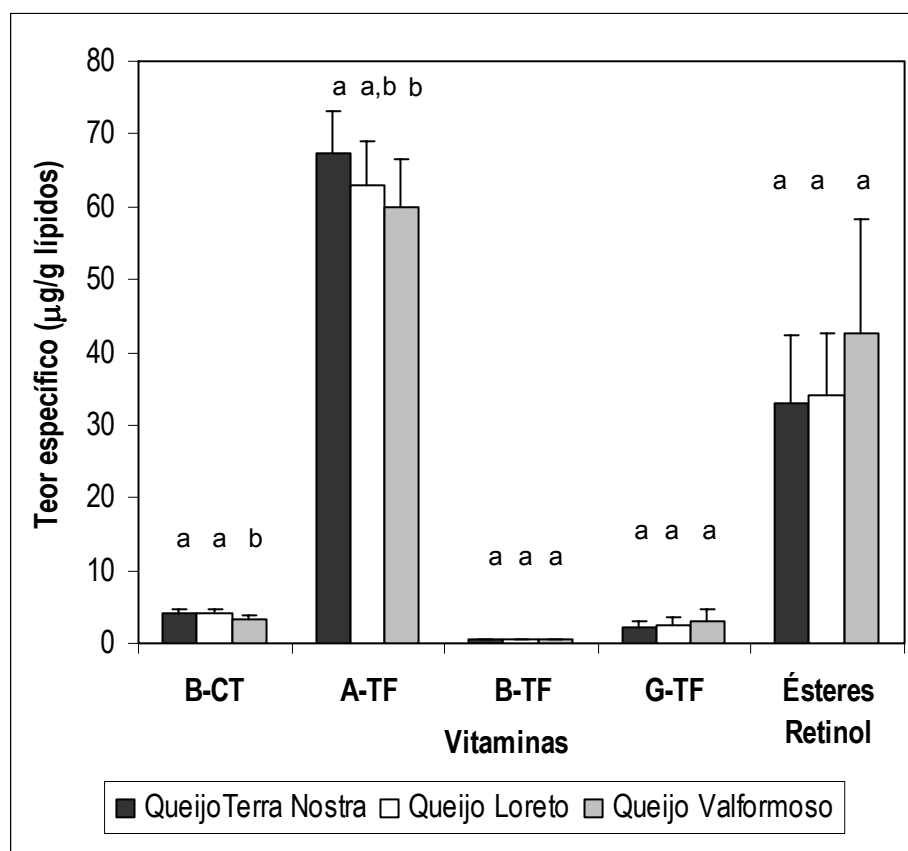


Figura 25: Média (\pm DP) do teor específico do β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol nos três queijos. A letras diferentes correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

No quadro seguinte apresentam-se os resultados obtidos para o teor total de β -caroteno, tocoferóis, ésteres de retinol e retinol livre ($\mu\text{g/g}$ queijo) nos três queijos.

Quadro 17: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, tocoferóis, ésteres de retinol e retinol livre nos três queijos. Valores entre parêntesis correspondem mínimo e máximo. A letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Terra Nostra	Loreto	Valformoso
Teor total ($\mu\text{g/g}$ queijo)			
β -caroteno	0,92 ^a \pm 0,10	0,88 ^a \pm 0,18	0,75 ^a \pm 0,07
α -tocoferol	14,71 ^a \pm 0,90	13,68 ^a \pm 1,72	13,22 ^a \pm 1,00
β -tocoferol	0,09 ^a \pm 0,14	0,09 ^a \pm 0,01	0,11 ^a \pm 0,02
γ -tocoferol	0,49 ^a \pm 0,13	0,55 ^a \pm 0,21	0,66 ^a \pm 0,39
Δ -tocoferol	0,09 (0,05-0,13)	0,49 (0,05-0,48)	0,24 (0,02-0,63)
Ésteres de retinol	7,18 ^a \pm 1,83	7,45 ^a \pm 1,95	9,39 ^a \pm 3,20
Retinol livre	0,01 ^a \pm 0,002	0,01 ^a \pm 0,002	0,01 ^a \pm 0,002

Não houve diferenças significativas ($P < 0,05$) nos diferentes teores totais das vitaminas antioxidantes lipossolúveis nos três queijos.

4.5.3. Caracterização das vitaminas A e E das três marcas comerciais de manteiga

Pela análise do teor específico do perfil de tocoferóis e ésteres de retinol, verificou-se variação significativa do B-CT entre a manteiga Nova Açores e a manteiga Loreto. O teor de A-TF apresentou variação significativa entre a manteiga Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores e a manteiga Nova Açores. O B-TF não mostrou variação significativa entre todas as manteigas. Nos ésteres de retinol ocorreram diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto e a manteiga Nova Açores (Figura 26).

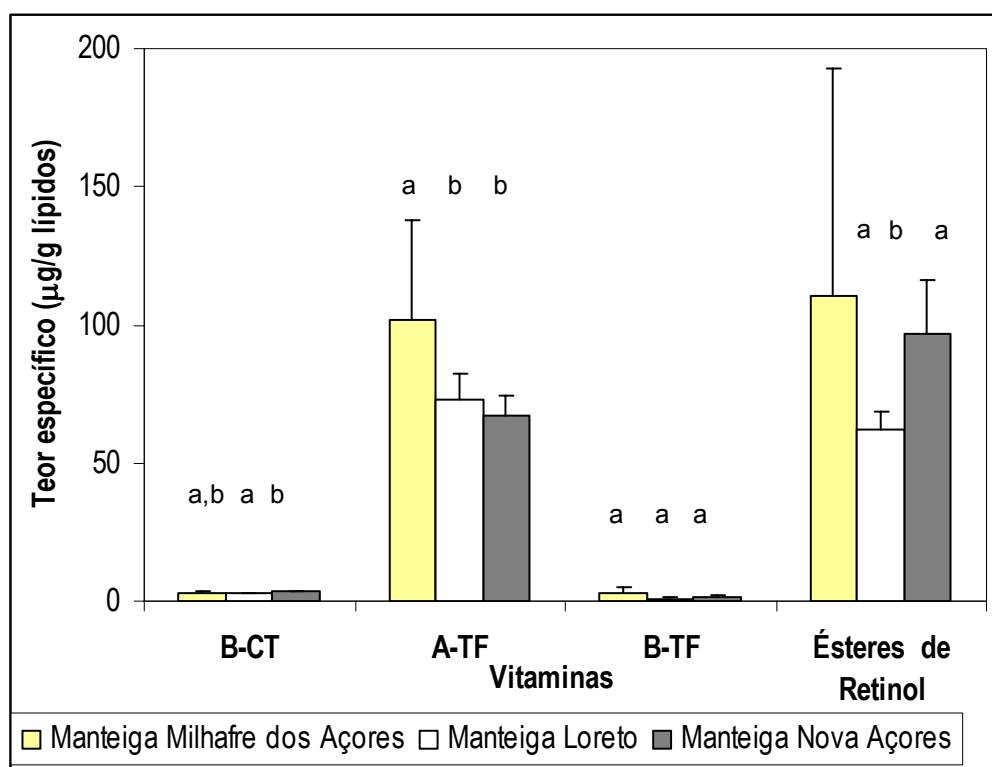


Figura 26: Média (\pm DP) do teor específico do β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol na manteiga Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores. As letras diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$).

No quadro 18 são apresentados os resultados do teor total de β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol (μ /g manteiga) nas três manteigas.

Quadro 18: Média (\pm DP) do teor total de β -caroteno, tocoferóis e ésteres de retinol na manteiga Milhafre dos Açores, Loreto e Nova Açores. Valores entre parêntesis correspondem mínimo e máximo. A letras diferentes na mesma linha correspondem diferenças significativas ($P < 0,05$).

	Milhafre dos Açores	Loreto	Nova Açores
Teor Total ($\mu\text{g/g}$ manteiga)			
β -caroteno	2,53 ^{a,b} \pm 0,24	2,29 ^b \pm 0,27	2,75 ^a \pm 0,35
α -tocoferol	84,40 ^a \pm 23,67	59,30 ^b \pm 7,54	54,57 ^b \pm 6,08
β -tocoferol	2,20 ^a \pm 2,19	0,78 ^a \pm 0,25	1,10 ^a \pm 0,40
γ -tocoferol	102,76 (2,66-338,77)	181,49 (2,27-717,37)	19,73 (2,31-109,50)
Δ -tocoferol	17,71 (1,82-26,49)	22,57 (7,74-59,98)	5,74 (2,04-10,75)
Ésteres de retinol	91,83 ^a \pm 68,46	55,39 ^b \pm 5,15	78,60 ^a \pm 15,62

Em termos de β -caroteno, a manteiga Loreto revelou diferenças significativas face à manteiga Nova Açores ($P < 0,05$). O α -tocoferol mostrou variação significativa entre a manteiga Milhafre dos Açores e Loreto assim como entre a manteiga Milhafre dos Açores e a Nova Açores. O β -tocoferol não registou variação significativa ($P < 0,05$). Ao nível dos ésteres de retinol houve diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto e a Nova Açores, tendo a manteiga Loreto valor menor.

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Teor de gordura total

Segundo a Portaria nº 683/88 de 14 de Outubro, leite destinado ao consumo humano é classificado, quanto ao seu teor em matéria gorda, em leite gordo, o que contém um teor mínimo de gordura de 3,0 g/100 g, e em leite meio-gordo, o que contém um teor mínimo de gordura de 1,6 g/100 g de leite. O teor total de gordura do leite meio-gordo Terra Nostra é de 1,3 g/100 g e o teor total de gordura do leite meio-gordo Nova Açores é de 1,2 g/100 g. Os resultados obtidos nos dois leites meio-gordo situam-se um pouco abaixo do valor legislado para este tipo de leite. O teor de gordura que vem indicado no rótulo da embalagem para os dois leites é de 1,6 g/100 g, tendo sido os teores analisados ligeiramente mais baixos, o que se poderá dever às diferentes metodologias analíticas usadas.

Guerreiro (2004) analisou 4 leites meio-gordo do Continente (Mimosa, Matinal, Agros e Mimosa ω-3) obtendo um teor médio de gordura total de 1,5 g/100 g de leite, comparativamente maior que os resultados apresentados neste trabalho.

Relativamente ao teor total de gordura dos queijos analisados, expresso em % (M/M) apresentaram respectivamente 21,8% o queijo Terra Nostra, 21,7% o queijo Loreto e 22,2% o queijo Valformoso, não existindo diferenças significativas entre eles ($P > 0,05$). Estes valores são muito semelhantes aos apresentados pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA, 2006), para queijo flamengo com 45% de gordura em que o teor total de gordura foi de 23,4 g/100 g de queijo. Comparando com os queijos produzidos no Continente no estudo de Martins *et al.*, (submetido) das marcas comerciais Agros (23,2 g/100 g) e Limianos (21,6 g/100 g), os valores encontrados neste estudo são muito semelhantes. No mesmo estudo (Martins *et al.*, submetido) foi ainda avaliado o teor de gordura do queijo Terra Nostra, apresentando um valor de 21,8 g/100 g, idêntico ao deste estudo. Após consulta dos rótulos de cada um dos queijos analisados não é preciso o teor total de gordura, apresentando sempre um intervalo de valores.

Os resultados obtidos em relação ao teor de gordura da manteiga foram 81,5 g/100 g manteiga na marca comercial Nova Açores, 81,4 g/100 g na manteiga Loreto e 83,1 g/100 g na manteiga Milhafre dos Açores. Confrontando estes valores com os rótulos da embalagem de cada marca comercial, estes estão de acordo com o descrito, apesar não se conhecer exactamente o valor, uma vez que apenas vem referido teor total de gordura superior a 80 g/100 g manteiga. Para as manteigas Nova Açores e Loreto os valores encontrado são muito semelhantes aos apresentados pelo INSA (2006) que foram de 81,8 g/100 g de manteiga. A manteiga Milhafre do Açores apresentou diferença significativa face às outras manteigas,

possuindo o valor mais elevado. Ledoux *et al.* (2005) no seu estudo em manteigas produzidas em diferentes regiões de França e durante diferentes épocas do ano obtido um teor médio de gordura total de 83,6 g/100 g, tendo as manteigas apresentado respectivamente 84,9 g/100 g no Inverno, 84,7 g/100 g na Primavera e 82,7 g/100 g no Verão. Neste estudo apenas a manteiga Milhafre dos Açores apresenta um valor próximo do teor médio da gordura das manteigas francesas.

Apenas no grupo da manteiga é possível comparar se existe alguma diferença da fracção lipídica entre produtos produzidos em ilhas diferentes. A manteiga Milhafre dos Açores é produzida na Ilha Terceira enquanto que as outras duas são provenientes da Ilha de S. Miguel. Em relação ao teor total de gordura, a manteiga Milhafre dos Açores apresenta um valor mais elevado, podendo o teor ser influenciado pelo clima e o tipo de vegetação da Ilha, dieta do animal e sistema de manejo.

5.2. Caracterização da composição em ácidos gordos do leite e produtos lácteos dos Açores

As marcas comerciais de leite, queijo e manteiga, de um modo geral, têm origens geográficas idênticas, apenas a manteiga Milhafre dos Açores tem proveniência diferente, o que poderá justificar algumas das diferenças encontradas.

5.2.1. Ácidos gordos saturados

Segundo alguns autores, o teor de SFA representa em média, cerca de 70% do total de ácidos gordos presentes na gordura do leite (Molkentin, 2000). Destes, cerca de 10-12% correspondem a ácidos gordos de cadeia curta ($\leq 4:0$) e média (6:0 a 10:0) (Molkentin, 2000). O leite apresenta aproximadamente 1% de ácido caprónico (6:0), cerca de 0,3% de ácido caprílico (8:0) e 1,2% ácido cáprico (10:0) (German e Dillard, 2006). Os leites analisados para estes ácidos gordos obtiveram valores próximos dos retratados pela literatura. No que respeita aos ácidos gordos de cadeia longa, com 12 a 16 átomos de carbono, 12:0 a 16:0, podem corresponder em média, a 42-44% do total de ácidos gordos (Molkentin, 2000). Segundo Jensen (2002), o ácido láurico (12:0) está presente no leite cerca de 3% do total dos ácidos gordos. O leite Terra Nostra apresentou cerca de 3,45% e o leite Nova Açores foi de 3,16% para o ácido láurico. O leite contém 8-14% de ácido mirístico (14:0) (German e Dillard, 2006). Os teores de 14:0 nos leites analisados foram de 11% e estão de acordo com a literatura. O ácido palmítico

(16:0) é o ácido gordo saturado mais abundante na gordura do leite com uma média de 27,7% do total dos ácidos gordos (Jensen, 2002). O teor de 16:0 no leite Terra Nostra foi de 34,05% e no leite Nova Açores foi de 30,91%, relativamente superiores aos teores referidos na literatura. O ácido esteárico (18:0) representa cerca de 9-12% do total de ácidos gordos, mas apesar de ser um ácido gordo de cadeia longa, é considerado como um ácido gordo de acção neutra sobre os níveis de colesterol plasmático (Bessa, 1999). Neste estudo o teor médio do 18:0 do leite foi de 11,4%.

Os ácidos gordos láurico, mirístico e palmítico (12:0, 14:0 e 16:0) têm sido associados com o aumento do risco de doenças cardiovasculares. Em estudos epidemiológicos, estes três ácidos gordos têm sido fortemente responsáveis pelo aumento da concentração de colesterol no soro (Kromhout *et al.*, 1995). Estes ácidos gordos possuem um efeito hipercolesterolémico, representando 45,08% do total de ácidos gordos para o leite Nova Açores e 49,38% do total de ácidos gordos no leite Terra Nostra.

O teor total de SFA no leite Nova Açores foi de 0,69 g/100 ml leite e no leite Terra Nostra foi de 0,87 g/100 ml de leite, este último situou-se próximo do valor apresentado pelo INSA (2006) para leite meio-gordo UHT (0,90 g/100 ml leite).

Este estudo revelou um teor de SFA para o leite Nova Açores de 62,71% e para o leite Terra Nostra de 65,50%. Leite e colaboradores (2006) desenvolveram um estudo no leite micaelense (marca Nova Açores) tendo obtido um valor de SFA de 65,41%, semelhante ao descrito neste estudo para a mesma marca comercial. O teor de SFA corresponde, em média, a 64,1% do total de ácidos gordos para os leites analisados. Nos leites do tipo meio-gordo (Mimosa, Matinal e Agros) produzidos no Continente, o teor médio de SFA foi de 66,85% do total de ácidos gordos (Guerreiro, 2004) confrontando com os leites dos Açores, os leites do Continente apresentaram um teor relativamente mais elevado.

Comparando do ponto de vista do consumidor os leites de ovelha para a produção de queijos Azeitão, Évora e Nisa – DOP, estes registaram teores de SFA de 70% (Ribeiro, 2004), valores relativamente superiores ao deste estudo, no entanto, o leite de ovelha não é comercializado e destina-se apenas à produção de queijo.

Quando comparados com outros leites, nomeadamente de origem francesas (65,01%), alemã (66,42%) e grega (66,28%) (Aro *et al.*, 1998), verificou-se que os leites meio-gordo açorianos apresentaram um teor total de SFA mais baixo (64,1%). Contudo, o teor de SFA dos leites analisados é semelhante aos leites belgas (63,95%) e ainda ao leite produzido no Continente (64,21%), valores publicados pelo estudo TRANSFAIR envolvendo 14 países europeus (Aro *et al.*, 1998).

No que se refere aos leites analisados, 47,23% do total de ácidos gordos correspondem a ácidos gordos de cadeia longa com efeito hipercolesterolémico (12:0 a 16:0), valor semelhante aos leites meio-gordo do Continente (47,21%) analisados por Guerreiro (2004). No estudo do Ribeiro (2004) em leites de ovelha, o total de ácidos gordos com efeito hipercolesterolémico obteve um valor médio de 38,40%, relativamente mais baixo do que o encontrado neste estudo. O conteúdo em ácidos gordos hipercolesterolémicos é maior nos leites dos Açores do que nos leites germânicos (40,59%) e americanos (41,8%) (Jensen, 2002). Desta forma, face ao descrito na literatura, podemos constatar que os leites avaliados apresentam teores mais elevados de SFA, e em particular de ácidos gordos com efeito hipercolesterolémico. As diferenças encontradas no teor de SFA entre os leites dos Açores e outros leites, poderão ser devido à composição da dieta do animal.

Relativamente ao queijo, o teor total de SFA foi maior no queijo Terra Nostra com 13,35 g/100 g, seguido do queijo Valformoso com 13,27 g/100 g e com o teor mais baixo o queijo Loreto com 12,49 g/100 g. Comparando com o valor de referência publicado pelo INSA (2006), que revelou um teor total de SFA para o queijo com 45% de gordura de 12,6 g/100 g queijo, os valores obtidos neste trabalho foram relativamente superiores no caso dos queijos Terra Nostra e Valformoso, possuindo o queijo Loreto um valor semelhante.

De acordo com os resultados, observou-se que o teor de SFA correspondeu em média, a 63,33% do total de ácidos gordos, sendo que 3,65% se refere a ácidos gordos de cadeia média (6:0 a 10:0).

Avaliando os ácidos gordos com cadeia longa mais abundantes nesta classe presentes nos queijos açorianos, o conteúdo de ácido láurico foi de 2,94%, o ácido mirístico foi de 10,62%, o ácido palmítico foi de 31,62% e o ácido esteárico foi de 11,81%. Comparando com os queijos turcos (Seçkin *et al.*, 2005) para os mesmos ácidos gordos, os resultados deste estudo revelaram valores semelhantes, apenas o 16:0 obteve valor inferior.

Quando comparados os teores de SFA dos queijos analisados com os produzidos no Continente, nomeadamente o queijo Agros que contém um teor de 66,26% e o queijo Limiano de 66,25% (Martins *et al.*, submetido), os valores obtidos neste estudo foram inferiores. Martins *et al.*, (submetido) revelaram um teor de SFA para o queijo Terra Nostra semelhante ao deste estudo isto é cerca de 65,65%.

No que diz respeito ao estudo de Ribeiro (2004) em queijos de ovelha DOP, obteve teores de SFA nos queijos de Azeitão, Évora e Nisa DOP à volta de 71%, valor superior ao deste estudo, o poderá ser devido ao teor de gordura destes queijos ser superior.

Quando avaliados os queijos analisados, com outros queijos produzidos em diferentes países da Europa nomeadamente França (68,99%), Itália (65,30%), Holanda (64,61%) e Alemanha (65,38%) (Aro *et al.*, 1998), os queijos dos Açores apresentaram níveis mais baixos de SFA. Tal como o registado em comparação com os queijos turcos (68,58%) (Seçkin *et al.*, 2005).

Os queijos açorianos apresentaram um conteúdo em ácidos gordos hipercolesterolémicos de 44,79% muito superior aos queijos DOP (37,74%) (Ribeiro, 2004). Sendo estes ácidos gordos responsáveis pelo aumento de colesterol, poderá penalizar o valor nutricional dos queijos analisados.

Os teores totais de SFA na manteiga foram respectivamente para a manteiga Loreto (49,05 g/100 g manteiga), para a Milhafre dos Açores (48,11 g/100 g manteiga) e por último para a manteiga Nova Açores (50,1 g/100 g), enquanto o valor de referência do INSA (2006) para manteiga com sal foi de 46,3 g/100 g de manteiga. A diferença registada face ao valor de referência poderá ser devida a outras amostras comerciais analisadas, teores de gordura diferentes, sistemas de produção e processamento diferentes e também técnicas analíticas diferentes.

Os SFA mais abundantes na manteiga seguiram a seguinte ordem crescente: 12:0 <14:0 <18:0 <16:0, o que está de acordo com o descrito na literatura. As manteigas Loreto e Nova Açores registaram níveis de SFA mais elevados e muito semelhantes, enquanto a manteiga Milhafre dos Açores registou quantidades mais baixas. O teor médio de SFA nas manteigas analisadas foi de 63,34%, relativamente mais baixo que a manteiga turca (71,25%) (Seçkin *et al.*, 2005). O teor de SFA encontra-se próximo dos valores encontrados em manteigas da Noruega, mas com teor mais baixo face às manteigas germânicas (65,72%) e italianas (65,68%) (Aro *et al.*, 1998).

Segundo o estudo de Martins *et al.* (submetido), em manteigas do Continente (Mimosa e Primor) o teor médio de SFA foi de 66,7%, nível mais elevado do que revelado neste estudo. Ledoux *et al.* (2005) referem que as variações nos teores dos ácidos gordos parecem ser devidas ao tipo de dieta do animal, estação do ano e área geográfica.

No que diz respeito aos ácidos gordos com efeito hipercolesterolémico (12:0 a 16:0), as manteigas dos Açores revelaram teores elevados na ordem dos 45%, o que poderá desvalorizar em termos nutricionais este tipo de alimento.

Em resumo, os produtos lácteos dos Açores apresentam teores médios de SFA entre 63 a 64%, sendo de referir ainda que a maioria dos ácidos gordos saturados que contribuem para este teor possuem um efeito hipercolesterolémico, o que poderá levar a efeitos adversos na saúde.

Assim, a fracção lipídica destes produtos lácteos dos Açores é predominantemente saturada.

5.2.2. Ácidos gordos monoinsaturados

No leite, o ácido oleico (18:1c9) é o MUFA mais representativo, constituindo cerca de 20% do total de ácidos gordos (Molkentin, 2000).

Nos leites em análise, o teor de ácido oleico foi de 24,23% no leite Nova Açores e 24,80% no leite Terra Nostra. Jensen (2002) definiu um teor de ácido oleico no leite de 26,6%, os valores descritos neste estudo estão em conformidade.

O INSA (2006) expôs um teor total de MUFA no leite de 0,4 g/100 ml, valor superior aos descritos para o leite Nova Açores (0,31 g/100 ml leite) e relativamente semelhante ao leite Terra Nostra (0,38 g/100 ml). O teor de MUFA no leite Terra Nostra foi de 27,03% e no leite Nova Açores foi de 26,54%, correspondendo o teor de ácido oleico a 24,23% e 24,80% respectivamente ao leite Nova Açores e leite Terra Nostra. Comparando com os leites meio-gordo do Continente com a designação comercial de Mimososa (27,87% MUFA), Matinal (27,72% MUFA) e Agros (27,47% MUFA) (Guerreiro, 2004), os leites dos Açores apresentaram teores muito semelhantes.

No entanto o teor de ácido oleico nos leites dos Açores registou 1% mais de ácido oleico face à média dos leites do Continente.

Segundo o estudo de Leite e colaboradores (2006), revelaram um teor de MUFA no leite açoriano de 27,38% (marca comercial Nova Açores), valor concordante com o deste estudo.

Avaliando agora sobre o ponto de vista nutricional, o leite dos Açores face aos leites de ovelha utilizados como matéria-prima para o queijos DOP que demonstraram um teor médio de MUFA de 20,9%, relativamente inferiores aos leites de vaca produzidos no Continente e nos Açores. Este facto poderá ser devido ao tipo de alimentação do animal. Molkentin (2000) refere que animais alimentados em pastagem possuem teores mais elevados de MUFA do que os animais nutridos a concentrados.

O ácido oleico é o principal responsável pelo efeito hipocolesterolémico dos MUFA, está presente nos leites dos Açores em cerca de 24,5%. De acordo com descrito na literatura, dietas alimentares ricas em ácido oleico, podem ser responsáveis pela redução dos níveis plasmáticos de LDL – colesterol, não interferindo com o nível de HDL – colesterol (Molkentin, 2000).

Segundo a tabela de composição dos alimentos publicado pelo INSA, (2006) o teor de ácidos monoinsaturados no queijo com 45% de gordura é de 6,0 g/100 g queijo. O teor total dos

queijos analisados variou entre 5,68 g/100 g no queijo Loreto e 5,92 g/100 g no queijo Terra Nostra, valores relativamente concordantes com os apresentados pela tabela do INSA.

Dentro de todos os queijos analisados, o conteúdo em MUFA variou entre 27,17% (Valformoso) e 28,26% (Terra Nostra), tendo a quantidade de 18:1c9, correspondido respectivamente a 21,81% no primeiro queijo e 24,64% no queijo Terra Nostra. Confrontando os queijos em análise com os queijos produzidos no Continente, o teor de MUFA é superior. Os queijos do Continente (Agros, Limianos) (Martins *et al.*, submetido) apresentaram um nível médio de MUFA de 26,22% enquanto que dos Açores revelaram um teor médio de 27,64%.

No estudo em queijos turcos efectuado por Seçkin *et al.* (2005), o ácido gordo monoinsaturado mais abundante foi o ácido oleico com uma variação de 25,80 a 32,78%, evidenciando este um teor médio de MUFA de 30,42%, valor superior ao encontrado neste estudo. Quando comparados os queijos dos Açores sobre uma perspectiva de consumidor face aos queijos DOP (Azeitão, Évora e Nisa) (Ribeiro, 2004) (19,65%), os primeiros são mais ricos em MUFA (27,64%); o que poderá justificar em parte esta diferença de valores poderá ser o tipo de alimentação dos animais.

Analisando as manteigas, o teor mais elevado do conteúdo em MUFA neste estudo foi na manteiga Milhafre dos Açores (28,69%), seguida da manteiga Loreto (27,04%) e com o teor mais baixo foi na manteiga Nova Açores (26,72%). O teor total médio de MUFA nas manteigas foi de 21,95 g/100 g de manteiga, quando comparado com o teor proposto pelo INSA (2006) evidenciou um valor superior, dado que este Instituto indicou um valor de 18,9 g/100 g de manteiga. Nas manteigas também a quantidade de ácido oleico foi elevada cerca de 21,84% do total dos ácidos gordos que constituem esta classe. Quando comparados os níveis de MUFA das manteigas analisadas com as manteigas Mimosa (26,55%) e Primor (25,39%) (Martins *et al.*, submetido) produzidas em Portugal assim com a manteiga produzida na Turquia (27,25%) (Seçkin *et al.*, 2005), o presente estudo demonstrou valores semelhantes.

De acordo com o descrito na literatura, os teores de MUFA encontrados para os três produtos lácteos estão em conformidade com o descrito por alguns autores.

5.2.3. Ácidos gordos *trans*

A gordura dos alimentos de origem ruminante (carne, leite e produtos lácteos) contém aproximadamente 2 a 8% de TFA (Pfalzgraf *et al.*, 1994).

Em média, o leite avaliado, apresentou um teor total em ácidos gordos *trans* de 0,026 g/100 ml leite, valor inferior ao valor descrito pelo INSA (2006) que foi de 0,10 g/100 ml leite. O

leite Nova Açores demonstrou um teor mais elevado de TFA, cerca de 2,23%, face ao leite Terra Nostra, que obteve 2,00%.

Em 2005, Leite e colaboradores publicaram um estudo de leites dos Açores em que o teor de TFA representou 1,82%, valor relativamente inferior ao deste estudo.

Comparativamente a outros leites produzidos no Continente como por exemplo Mimosa, Matinal e Agros (Guerreiro, 2004), todos revelaram níveis de TFA menores do que os leites dos Açores.

No entanto, quando confrontado com os leites de ovelha (4,5% TFA) utilizados para a produção de queijos DOP (Ribeiro, 2004), pelo contrário revelaram um teor menor.

Segundo Aro *et al.* (1998), os *trans* variaram entre 3,2 a 5,2% no leite de diferentes países da Europa. Os níveis de TFA deste estudo foram inferiores, o que se poderá sugerir que os leites dos Açores são melhores no ponto de vista biológico, dado que teores elevados de TFA levam a incidência de doenças cardiovasculares, segundo o descrito na literatura.

De acordo com alguns autores, as diferenças de valores encontrados de TFA na literatura científica provavelmente parecem ser devidas à estação do ano, diferentes práticas de alimentação dos animais e idade do animal.

O conteúdo total de TFA foi muito semelhante entre os queijos Loreto e Valformoso. O queijo Terra Nostra revelou um nível de *trans* em cerca de 0,27 g/100 g queijo, enquanto os outros dois apresentaram um valor aproximado de 0,60 g/100 g queijo. O INSA (2006) propôs um teor de *trans* de 1,1 g/100 g queijo com 45% de gordura, como se pode observar este estudo registou um teor menor. Em média, o queijo avaliado, apresentou um teor de TFA de 2,33%. Numa abordagem individual deste grupo de alimento, observou-se que o queijo Loreto se posicionou com o teor de TFA mais elevado, seguido do queijo Valformoso e por último com menor nível o queijo Terra Nostra.

Em 1996, Jahreis afirmou que a ingestão elevada de TFA aumenta a nível plasmático o colesterol total e as LDL e diminuem as HDL, contribuindo para o aumento do risco das doenças cardiovasculares. Os queijos analisados poderão considerar-se como menos prejudiciais para a saúde humana, visto que, comparados com queijos do Continente (3,56% TFA) e queijos de ovelha DOP (4,83% TFA) revelam teores mais baixos. Comparativamente ao estudo de Aro *et al.* (1998), o teor de TFA variou entre 3,6 e 5,7% em queijos produzidos em diferentes países Europeus, mais uma vez os resultados deste estudo foram inferiores.

No entanto, no estudo Fristche e Steinhart (1998) a variação de concentração de TFA nos queijos alemães foi de 1,6 a 7,5%, situando-se os nossos valores dentro desta variação. Os

queijos analisados apresentaram um teor de TFA mais reduzido do que outros produtos similares, o que os poderá tornar uma mais valia em termos de efeitos para a saúde.

Os teores em TFA presentes nas manteigas analisadas foram respectivamente 3,00, 3,08 e 3,02% nas manteigas Loreto, Milhafre dos Açores e Nova Açores. O teor total de TFA correspondeu, em média, a 2,34 g/100 g de manteiga, sendo que a manteiga Milhafre dos Açores obteve o valor mais elevado de cerca de 2,37 g/100 g de manteiga. No caso do teor total de *trans* publicado pelo INSA (2006) para a manteiga, este foi de 3,3 g/100 g de manteiga, valor mais elevado do que descrito neste estudo. Contudo, os teores de TFA nas manteigas dos Açores foram superiores aos obtidos em manteigas do Continente, nomeadamente das marcas comerciais Mimosa (2,80%) e Primor (2,78%) (Martins *et al.*, submetido).

Avaliando o teor de TFA das manteigas analisadas com outras manteigas descritas na literatura, os valores encontrados são inferiores. No trabalho de Aro *et al.* (1998) registou uma variação do nível de TFA entre 4 a 6,2%. Fritsche e Steinhart (1998) revelaram no seu estudo uma média de TFA de 3,5% nas manteigas alemãs. Os mesmos autores afirmaram que a diferença de variação entre manteigas de diferentes países poderá ser devida à raça do animal, outra das razões apontadas será também os diferentes processos de tratamento térmico que os produtos lácteos sofrem durante o seu processamento.

Os produtos lácteos dos Açores revelaram um teor de TFA reduzido face a outros produtos semelhantes, o que em termos de saúde parecem apresentar uma mais valia.

5.2.4. Ácidos gordos poli-insaturados n-6 e n-3

Os PUFA presentes na gordura do leite que demonstram maior interesse nutricional pertencem às famílias n-6 e n-3. O ácido linoleico (18:2n-6) é o maior PUFA n-6, sendo o ácido α -linolénico (18:3n-3) o ácido gordo de maior importância na família n-3.

Segundo Jensen (2002) os PUFA estão presentes no leite em aproximadamente 3,4% do total dos ácidos gordos.

Em média, 18:2n-6 e o 18:3n-3 estão em aproximadamente 1,2 a 2,0% e 0,5 a 0,7% do total dos ácidos gordos respectivamente (Jensen e Newberg, 1995). O ácido araquidónico (AA) (20:4n-6), possui um papel crucial no desenvolvimento e na reprodução e está presente em aproximadamente 0,1% dos ácidos gordos, enquanto o docosahexadienoico (DHA) (22:6n-3) desempenha um papel importante nas funções do cérebro e retina e está presente em quantidades inferiores a 0,1% no leite (Whitlock *et al.*, 2002).

Relativamente ao teor de PUFA presente nos leites analisados evidenciou uma média de 2,68%, quando comparado com o estudo de Leite e colaboradores (2005) em leites dos Açores, este obteve um nível de PUFA de 2,88%.

Neste trabalho o teor de 18:2n-6 foi de 1,75% no leite Nova Açores é cerca de 1,54% no leite Terra Nostra, por outro lado o teor de 18:3n-3 foi respectivamente de 0,50% no leite Nova Açores e 0,44% no leite Terra Nostra. Estes valores estão conformes o descrito na literatura. Observou-se um teor médio de AA de 0,08%, relativamente próximo do proposto por Whitlock *et al.* (2002), o teor médio de DHA foi de 0,05%, logo inferior ao valor descrito pelos autores citados.

Nos queijos avaliados, o teor de PUFA foi, em média de 2,79%, correspondendo o teor de ácido linoleico a 1,49%. Hauswirth *et al.* (2004) estudaram o conteúdo em ácidos gordos de queijos suíços produzidos nos Alpes, tendo obtido um valor de AA de 37 mg/100 g de queijo. Neste trabalho os teores de AA foram semelhantes para os queijos Loreto e Valformoso com cerca de 35 mg/100 g de queijo, enquanto que no queijo Terra Nostra o teor de AA foi muito inferior (14 mg/100 g de queijo).

A manteiga Nova Açores registou o valor mais elevado de PUFA (3,16%), seguida da manteiga Loreto (3,09%), o valor mais baixo foi apresentado pela manteiga Milhafre dos Açores. O INSA (2006) estabeleceu um valor de referência para o teor total de PUFA de 2,4 g/100 g de manteiga, o teor total médio neste estudo foi de 2,35 g/100 g de manteiga, valor muito semelhante.

Reveste-se de maior interesse a discussão dos resultados, numa perspectiva global dos teores em ácidos gordos n-6 e n-3, traduzida pelo índice nutricional que relaciona a razão entre os PUFA n-6 e os PUFA n-3 (n-6/n-3).

5.3. Avaliação dos parâmetros nutricionais

5.3.1. Índice PUFA n-6/n-3

Foi demonstrado que a dieta ocidental é relativamente deficiente em ácidos gordos n-3 e excessiva em ácidos n-6, o que está bem reflectido na razão PUFA n-6/n-3 estimada em 10-25/1 (Prates e Mateus, 2002; Simopoulos, 2002). Este facto está directamente implicado com o desenvolvimento de diversas doenças, como doenças cardiovasculares, cancro e doenças inflamatórias. O contrário se verifica, quando a ingestão de PUFA n-3 é adequada.

A FAO em 1994 sugeria como recomendável que as dietas apresentassem um razão n-6/n-3 entre 5/1 a 10/1. Actualmente, reconhece-se que as dietas devem apresentar uma relação entre ácidos n-6/n-3 que se aproxime de 4/1 ou 5/1, de forma a reduzir o risco de prevalência de doenças crónicas, características das sociedades desenvolvidas (Simopoulos, 2002). O Department of Health (1994) também sugeriu que o balanço entre os PUFA n-6 e n-3 da dieta não deve exceder 4,0. O National Institute of Health dos EUA (citado por Simopoulos, 2002) refere um razão de n-6/n-3 de 1 a 2.

Segundo os resultados, a razão n-6/n-3 no leite Nova Açores foi de 2,98 e no leite Terra Nostra foi de 3,12 (Figura 27).

O estudo de Leite e colaboradores (2006) revelou um índice de n-6/n-3 no leite dos Açores de 2,34, valor inferior ao apresentado neste estudo. Segundo Guerreiro (2004), o leite meio-gordo do Continente registou em média, um coeficiente n-6/n-3 de 8,01, valor mais elevado do que os leites dos Açores. O rácio em leites de ovelha para a produção de queijos DOP registou um índice médio de 4,2 (Ribeiro, 2004), maior do que os encontrados neste estudo.

Recorrendo às recomendações propostas por Department of Health (1994) e pelo National Institute of Health dos EUA para a dieta humana, o leite dos Açores encontra-se de acordo com o valor preconizado pelo DH (1994) e foi relativamente superior ao recomendado pelo NIH-EUA.

Relativamente aos queijos analisados, o coeficiente médio situou-se em 2,35. Comparando com os valores para o mesmo índice em queijos do Continente (Martins *et al.*, submetido) que foram respectivamente em queijo Agros de 5,26 e 8,49 no queijo Limiano. Observou-se que apresentaram índices mais elevados do que os revelados neste trabalho, o que os poderá penalizar do ponto de vista da saúde (Figura 28).

Os coeficientes n-6/n-3 em queijos de Azeitão DOP (3,38), Évora DOP (4,16) e Nisa DOP (3,70) descritos no estudo de Ribeiro (2004), foram mais elevados do que nos queijos dos Açores (Figura 28). Contudo, no estudo de Hauswirth *et al.* (2004) em queijos suíços obtiveram um rácio de n-6/n-3 relativamente inferior a todos outros estudos com cerca de 1,1. O equilíbrio deste índice deve-se essencialmente ao elevado conteúdo em ALA (18:3n-3) que possui o queijo suíço que assim contrabalança o n-6 (Hauswirth *et al.*, 2004). Relacionado o índice n-6/n-3 nos queijos dos Açores com os valores recomendados pelos dois organismos (DH e NIH), relevaram o mesmo resultado que no leite.

Nas manteigas em análise, o rácio n-6/n-3 apresentou um índice mais elevado na manteiga Nova Açores com cerca de 2,62 e com índices muito semelhantes nas manteigas Loreto e Milhafre dos Açores (2,16 e 2,14) (Figura 29). Comparando estes resultados com as

manteigas do Continente (Figura 29) nomeadamente das marcas comerciais Mimosa e Primor em que o índice médio foi de 8,88, índice superior ao obtido neste estudo. Nas manteigas dos Açores a recomendação proposta pelo DH (1994) foi cumprida enquanto que a recomendação preconizada pelo NIH-EUA foi ultrapassada ligeiramente.

No cômputo geral, os produtos analisados revelaram um bom índice n-6/n-3, uma vez que não excederam o valor recomendado pelo DH.

5.3.2. Índice PUFA/SFA

Constitui um parâmetro de excelência na avaliação da qualidade nutricional, atendendo a que cada vez mais se verifica o abandono da dieta tradicional, com predomínio da ingestão de gordura saturada.

O Department of Health (1994) recomendou que a razão PUFA/SFA para a dieta humana fosse superior a 0,45.

Os leites em estudo, revelaram um coeficiente de 0,04 (Figura 27), inferiores aos recomendados. Comparando com leites do Continente e leites de ovelha (Figura 27) ambos registaram um conteúdo em PUFA/SFA de 0,05, indicando que o índice PUFA/SFA foi pouco inferior ao deste estudo.

Os resultados posicionam os queijos dos Açores abaixo do que é recomendado, uma vez que, os três tipos de queijo apresentaram respectivamente 0,05, 0,04 e 0,05 nos queijos Loreto, Terra Nostra e Valformoso. Valores de rácios idênticos aos revelados neste estudo foram descritos na literatura para queijos do Continente e queijos DOP, (Figura 28) o que sugere que todos os queijos evidenciaram um elevado teor de SFA e um baixo teor de PUFA, característico deste tipo de alimento.

Relativamente às manteigas, apresentaram um conteúdo em PUFA/SFA em cerca de 0,05, muito abaixo do recomendado pelo DH (1994) (Figura 29). O mesmo ocorreu no estudo de Martins *et al.* (submetido), o que poderá desvalorizar este alimento em termos nutricionais, dado que a presença de SFA em grandes quantidades está conectada com a ocorrência de doenças cardiovasculares.

No entanto, é possível reduzir o conteúdo em SFA no leite, considerados prejudiciais para a saúde humana, aumentando a proporção de PUFA na dieta dos respectivos animais (Geay *et al.*, 2001; Prates e Mateus, 2002).

De um modo geral, os produtos analisados apresentaram um baixo índice PUFA/SFA, por causa do elevado teor de SFA, o que indica que a gordura destes produtos é extremamente saturada.

5.3.3. Índice AG-h/AG-H

Será interessante do ponto de vista dos benefícios para a saúde, estabelecer uma forma de avaliar o teor de gordura dos alimentos, baseada no conhecimento dos efeitos funcionais dos ácidos gordos e traduzida pela razão entre os ácidos gordos com efeito hipocolesterolémico e hipercolesterolémico.

Não há valores recomendados para o índice h/H em relação aos produtos lácteos, considerou-se como referência o valor de 2 em relação aos produtos cárneos (Santos-Silva *et al.*, 2002).

Os leites dos Açores revelaram em relação a este índice nutricional uma média de 0,55. No estudo de Leite *et al.* (2005), a razão h/H em leite dos Açores foi de 0,52 valor inferior ao deste estudo. Por outro lado, quando comparados os resultados obtidos neste estudo com os descritos por outros autores, verificou-se que os leites do Continente demonstraram um índice de 0,59 e que leites de ovelha para produção de queijos DOP evidenciaram um índice de 0,57. Ambos aparentaram ser mais vantajoso em termos de saúde já que registaram uma razão h/H maior, significando que o seu teor em ácidos gordos com efeito hipocolesterolémico é superior. Na literatura consultada não foram encontrados valores de referência para leites. Se considerar o valor recomendado por Santos-Silva *et al.* (2002), os leites dos Açores encontraram-se abaixo do recomendado, correspondendo a gorduras de qualidade nutricional inferior, traduzindo a predominância de ácidos gordos que promovem o aumento do CHR plasmático e assim o aumento do risco de DVC.

O queijo Terra Nostra exibiu uma razão maior de h/H de 0,58. Os índices do queijo Loreto e Valformoso apresentaram um valor de 0,55 e 0,54. Comparando o índice AG-h/AG-H dos queijos dos Açores com os queijos DOP, revelaram uma média semelhante. Em relação aos queijos do Continente, os queijos analisados registaram um índice superior. Na literatura científica consultada não foram encontrados valores de referência para queijos internacionais, mas, mais uma vez o índice ficou muito abaixo do valor proposto por Santos-Silva *et al.* (2002), relativamente aos produtos cárneos.

O índice AG-h/AG-H foi cerca de 0,54, tendo a manteiga Milhafre dos Açores apresentado o índice mais elevado com 0,59. No estudo de Martins *et al.* (submetido), em manteigas do Continente obtiveram um índice de 0,53, relativamente próximo deste estudo.

Visto que os alimentos analisados revelaram um índice de h/H inferior ao valor recomendado para produtos cárneos, no entanto aplicado aos produtos lácteos como forma de avaliar a sua qualidade nutricional.

Estes resultados exprimiram que as gorduras dos produtos lácteos apresentaram valores superiores de ácidos gordos com efeito hipercolesterolémicos face a ácidos gordos promotores do abaixamento do CHR plasmático (hipocolesterolémicos).

5.3.4. Índice CLA/(SFA+CLA)

Independentemente dos efeitos benéficos ou deletérios do CLA, dos SFA e do CHR e de acordo com o seu teor relativo nos alimentos e na dieta, os mecanismos de acção destes compostos bioactivos podem modelar efeitos antagónicos relativamente ao risco de desenvolvimento de cancro nos humanos.

Com base neste pressuposto e decorrente do estudo epidemiológico por eles desenvolvido, Eynard e Lopez (2003) sugeriram que a existência de quantidades proporcionais de CLA e SFA e colesterol, pode desempenhar um papel antagónico, produzindo efeitos contrários ou até mesmo nulos no processo de carcinogénese colorectal, desencadeado pelo consumo destes alimentos.

Não existem valores recomendados para o índice CLA/(SFA+CHR), em relação aos produtos lácteos, considera-se o valor 0,1 desta razão, em relação às carnes, como aquele que exprime maior valor nutricional e o valor de 0,01 como aquele que traduz menor valor nutricional (Eynard e Lopes, 2003). Os valores mais elevados correspondem a gorduras com qualidade nutricional superior.

O índice apresentou para o leite um valor médio de 0,002. Os leites do Continente (Guerreiro, 2004) demonstraram um índice médio de 0,04, relativamente superior ao deste estudo. Os leites de ovelha utilizados como matéria-prima para o fabrico do queijo DOP revelaram um índice médio de 0,015, superior aos leites dos Açores. Na literatura não se encontraram resultados descritos para outros leites internacionais. No entanto, comparando os resultados deste estudo com os valores recomendados para carne proposto por Eynard e Lopes (2003), os leites dos Açores correspondem a um reduzido valor nutricional.

Os queijos analisados apresentaram um índice médio de 0,023 semelhante ao valor também descrito para queijos DOP (Ribeiro, 2004). Comparando o índice encontrado para os queijos dos Açores com o valor recomendado por Eynard e Lopes (2003) evidenciou que a gordura dos queijos foi de menor valor nutricional.

Na literatura não se encontraram resultados descritos para manteigas. O que se observou neste estudo foi que as manteigas analisadas apresentaram um índice médio de 0,015, traduzindo-se a gordura da manteiga de baixa qualidade nutricional.

Dada a ausência de valores na bibliografia científica, reveste-se de maior importância os resultados obtidos deste índice, contribuindo e servindo de base a trabalhos futuros.

Apesar de todos os alimentos exprimirem um menor valor nutricional, isso não se reveste de carácter depreciativo já que podem apresentar teores de gordura saturadas elevados e colesterol mas, evidenciar quantidades significativas de CLA que poderão encontrar maior aceitação e ser importante em termos de saúde.

5.3.5. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

Ulbricht e Southgate, em 1991, propuseram estes dois índices que avaliam os ácidos gordos relativamente ao seu efeito no metabolismo das lipoproteínas.

Não existem valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogenicidade, no entanto, valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos gordos mais favorável em termos de saúde.

O leite dos Açores revelou um IA médio de 2,77 e um IT médio de 7,17. Comparando com os leites do Continente em que o IA médio foi de 2,50 e o IT médio foi de 3,28, ambos os índices revelaram-se inferiores aos do presente estudo. Avaliando os dois índices IA e IT médios nos leites de ovelha foram respectivamente 2,89 e 3,17, o primeiro foi superior ao encontrado neste estudo e o segundo foi inferior. O IT revelado neste estudo apresentou um valor muito elevado, o que parece indicar uma relação de ácidos gordos menos favorável em termos de saúde.

Em média, os queijos analisados revelaram um índice médio de IA de 2,52 e de IT de 7,23. Comparando os valores com os descritos na literatura, os queijos DOP demonstraram um IA de 3,01 e IT de 3,23. Este estudo apresentou um índice IA mais favorável face aos queijos DOP, no entanto apresentou um índice de IT mais elevado do que os queijos DOP, o que poderá ter implicação na saúde.

Relativamente aos queijos do Continente, os valores deste estudo revelaram índices de aterogenicidade e trombogenicidade inferiores, tendo os queijos do Continente apresentado respectivamente um IA de 2,88 e o IT de 7,91.

Face à ausência de valores recomendados, sugere-se que o queijo dos Açores apresenta um IA que poderá traduzir uma relação de ácidos gordos pouco favorável em termos de saúde, mais preocupante poderá ser o IT já que apresenta valor maior, podendo acarretar maiores problemas ao nível de saúde.

Avaliando os resultados, a manteiga dos Açores obteve um IA de 2,54 e um IT de 7,40. Comparando com manteigas do Continente, estas evidenciaram um IA de 2,64 e um IT de 7,06, o que indica que os valores deste estudo se situaram próximos. Não foi possível encontrar valores dos dois índices na literatura internacional, no entanto é de referir que os produtos lácteos dos Açores revelaram um IA menor que um IT. O principal motivo para que o IT fosse elevado, poderá em parte ser devido à contribuição dos ácidos gordos: 14:0, 16:0 e 18:0, com teores elevados nos produtos lácteos e que afectam este índice e que poderão exprimir uma relação desfavorável em termos de saúde.

5.4. Isómeros conjugados do ácido linoleico

O conteúdo de CLA em produtos lácteos apresenta uma gama de valores variável, situação resultante de numerosos factores sendo o mais importante a dieta do animal e o tipo de sistema de produção. Segundo vários autores, o teor de CLA no leite é mais elevado nos animais que são criados em sistemas de exploração extensivos do que nos animais que são produzidos em sistemas de exploração intensiva (Jahreis e Kraft, 2002). A principal diferença entre estes sistemas produtivos reside no tipo de alimentação dos animais. Nos primeiros os animais são alimentados essencialmente com pastagem. Em contrapartida, nos outros, os animais são principalmente nutridos à base de concentrados comerciais (ração). Dhiman *et al.* (1999) referiram que animais que se alimentam de pastagem têm um elevado aumento de CLA na gordura do leite comparando com animais em que a dieta contém 50% de forragem conservada (silagens) e 50% de grão. Dependendo das estações do ano, o conteúdo em CLA no leite varia entre 0,6 a 1,2% de gordura do leite, com concentrações mais elevadas na Primavera e Verão do que no Inverno (Riel, 1963; Lock e Garnsworthy, 2003). Neste período as pastagens apresentam-se mais ricas em PUFA, nomeadamente, em ácido linoleico (Bauchart *et al.*, 1984). Dietas à base de pastagem têm aumentado o valor nutricional do leite porque aumenta os ácidos

gordos insaturados de cadeia longa e a concentração de CLA (Kelly *et al.*, 1998; Watkins e Li, 2001), referem que o leite e outros produtos lácteos são excelentes fontes de CLA.

Os teores relativos totais de isómeros CLA por categorias no leite, observou-se que predomina a categoria *c/t*, com aproximadamente 90% do total, não se verificando valores significativamente diferentes nos dois leites. A categoria *t,t* total variou entre 10,37 - 11,04% do total do CLA, valores mais elevados que os registado no estudo de Yurawecz *et al.* (1998) que variaram entre 4,6-6,4% do total do CLA.

O teor total do CLA foi respectivamente de 0,011 mg/ml no leite Nova Açores e 0,015 mg/ml no leite Terra Nostra, não se verificando diferenças significativas entre eles ($P > 0,05$). Os valores obtidos no teor específico de CLA foram de 10,50 mg/g lípidos no leite Nova Açores e 11,41 mg/g lípidos no leite Terra Nostra. Comparando com o estudo efectuado por Guerreiro em 2004 (Figura 27), em três leites do tipo meio-gordo (Mimosa, Matinal e Agros) tendo em média 7,2 mg/g lípidos, os valores encontrados neste estudo permitem afirmar que contêm um teor específico de CLA mais elevado.

O teor total médio do CLA de leite gordo de ovelha utilizado para a produção de queijo DOP (Azeitão, Évora e Nisa), foi de 0,61 mg/ml de leite, sendo superior ao obtido neste trabalho. No entanto, as concentrações de CLA estão de acordo com o descrito na literatura, uma vez que o teor de CLA é mais elevado no leite de ovelha do que no leite de vaca (Jahreis *et al.*, 1999).

Quando comparados os valores do teor específico do leite meio-gordo Terra Nostra e Nova Açores com alguns valores da comunidade científica, apenas esses teores são superados por leites provenientes da Alemanha com teores de 12 mg/g de gordura (Precht e Molkentin, 1997) (Figura 27). Os leites analisados apresentam teores específicos maiores do que o leite de origem francesa (Wolff, 1994) com 7,4 mg/g de lípidos, do que o leite de origem italiana (Banni *et al.*, 1996) com 7,1 mg/g de gordura assim como dos Estados Unidos da América com 5,5 mg/g de lípidos (Chin *et al.*, 1992) (Figura 27). Os resultados do presente estudo reflectem o tipo de alimentação do animal a base de pastagens, o que conduz a teores específicos de CLA mais elevados dados pelo ácido linoleico presente na erva verde na ordem de 48 a 56% do total de ácido gordos (Bauchart *et al.*, 1984).

O valor do isómero *c9,t11* nos dois leites analisados foi de aproximadamente 80% do total do CLA. Este valor foi um pouco inferior ao obtido por Yurawecz *et al.* (1998) que variou entre 82,1 e 86,8% do total de CLA no leite. No estudo de Guerreiro (2004) para o isómero *c9,t11*, o leite meio-gordo analisado possui em média 79,21% do total de CLA, valor muito semelhante ao obtido neste trabalho.

O isómero *t*8,*c*10 situou-se perto dos 5% do total do CLA valor compreendido no intervalo no estudo de Yurawecz *et al.* (1998) que variou de 2,8-5,3% do total de CLA. O resultado obtido está em conformidade com o descrito na literatura, uma vez que normalmente este isómero do CLA é o segundo mais predominante na gordura dos ruminantes (Bauman *et al.*, 2003). Os resultados de estudos encontrados na literatura, referem-se apenas ao CLA total, não contemplando os restantes isómeros. Contudo, este estudo permitiu quantificar a maior parte dos isómeros, o terceiro maior isómero é o *t*9,*t*11 representando cerca de 2,98% do total de CLA no leite Nova Açores e de 3,81% no leite Terra Nostra. O isómero *t*10,*c*12 em que está demonstrada a sua acção anticarcinogénica (Fritsche *et al.*, 2000), não foi detectado nos dois leites analisados, o que poderá ter ficado co-eluído com o *c*9,*t*11 dado este apresentar uma grande quantidade.

Nos teores totais relativos de isómeros do CLA por categorias, predomina a categoria *c/t* com valores de 91% do total, não apresentando variação significativa nos três queijos. Nos resultados obtidos por Rickert *et al.* (1999), a categoria *c/t* revelou um total de 93,2%, valor relativamente maior que o encontrado neste estudo. No trabalho de Luna *et al.* (2005) observou-se um valor semelhante ao verificado neste estudo (90,7% do total).

Os teores totais relativos de isómeros do CLA na categoria *t,t* apresentou um valor médio de 8,87% do total, valor mais elevado que o registado por Rikert *et al.* (1999) que foi de 6,3% do total e encontra-se dentro do intervalo de variação proposto por Yurawecz *et al.* (1998) que se situa entre 5,8 e 9,2% do total. Luna e colaboradores (2005) apresentaram um valor para a categoria *t,t* muito próximo deste estudo, com um valor de cerca de 8,6% do total.

O teor total do CLA foi respectivamente de 3,05 mg/g de queijo no queijo Loreto, 2,68 mg/g de queijo no queijo Terra Nostra e 3,32 mg/g de queijo no queijo Valformoso, não se verificando diferenças significativas entre eles ($P > 0,05$).

O queijo Valformoso apresentou o valor mais elevado no teor específico do CLA com 14,82 mg/g de lípidos, seguido do queijo Loreto com 14,28 mg/g de lípidos e com o valor mais baixo o queijo Terra Nostra com 12,28 mg/g de lípidos. Na literatura estão descritos numerosos tipos de queijos, em que se referenciam alguns valores do teor específico (mg/g de lípidos), de análises efectuadas em queijos: 4,0 a 17,0 mg/g de lípidos (Fritsche e Steinhart, 1998) em queijos alemães; 5,3 a 15,8 mg/g de lípidos em queijos franceses (Lavillonniere *et al.*, 1998); 3,6 a 8,0 mg/g de lípidos em queijos americanos (Lin *et al.*, 1995); 7,5 a 7,9 mg/g de lípidos em queijo espanhol (Luna *et al.*, 2005). Relativamente a queijos comerciais produzidos no Continente com as designações de Queijo Limiano e Agros analisados no estudo de Martins *et al.* (submetido) os teores específicos de CLA foram de 5,18 mg/g de lípidos e 3,68 mg/g de

lípidos, respectivamente. O teor médio específico presente nos três queijos (Loreto, Terra Nostra e Valformoso) corresponde a 13,79 mg/g de lípidos, comparando os valores obtidos neste estudo com os valores referidos pela comunidade científica apenas são inferiores aos valores máximos dos queijos alemães e franceses (Figura 28). Os queijos provenientes da Ilha dos Açores apresentam ainda, um teor específico superior aos queijos do Continente (Limiano e Agros) (Figura 28). Luna *et al.* (2005) na sua investigação concluiu que durante o processamento do queijo não ocorreu modificação do teor de CLA. No entanto, os teores específicos do queijo foram superiores ao do leite, isto poderá ser devido ao maior teor de gordura do queijo.

Outros autores afirmam que a larga variação no teor de CLA nos queijos poderá ser devida aos diferentes efeitos durante o processamento ou o uso de diferentes culturas microbianas. Alguns autores demonstraram que alguns parâmetros como a temperatura, qualidade de proteína, escolha da cultura “starter” e período de maturação podem afectar o conteúdo em CLA nos produtos lácteos.

O isómero *c9,t11* apresentou diferenças significativas entre todos os queijos ($P < 0,05$), tendo o queijo Valformoso apresentado o valor mais elevado de cerca de 86,09% do total do CLA, e o queijo Terra Nostra obteve o valor mais baixo com 72,25% do total, o queijo Loreto obteve um valor de 82,35% do total do CLA, valor semelhante ao estudo de Luna *et al.* (2005) para queijo espanhol (82,79% do total do CLA). Yurawecz *et al.* (1998), para o isómero *c9,t11* revelou valores que variaram entre 80 e 83,5% do total do CLA, os queijos analisados possuem uma média de 80,23% do total do CLA, encontrando-se compreendidos no intervalo proposto por este autor. Comparando o valor médio do isómero *c9,t11* como o proposto por Rickert *et al.*, (1999) que foi de 83,5% do total do CLA, o valor obtido neste estudo foi mais baixo.

Sehat *et al.* (1998) identificaram a distribuição dos isómeros do CLA no queijo tendo: *c9,t11* (78 a 84%), *t7,c9+t8,c10* (8 a 13%); *t11,c13* (1 a 2%); *c12,t14* (< 1%) e *t,t* total (5 a 9%), comparando estes valores com os isómeros dos queijos analisados, o queijo Valformoso apresenta um teor específico mais elevado cerca de 86,09% do total do CLA, os outros queijos estão dentro do intervalo apresentado. Relativamente ao isómero *c/t11,13* característico dos animais que se alimentam de pastagem, apresentou uma média de 3,4% do total do CLA, valor mais elevado do que do estudo proposto por Sehat *et al.* (1998), no entanto o isómero *c12,t14* apresentou um valor semelhante. Dhiman *et al.*, (2005), apresentou um teor de isómero *c9,t11* em queijo processado de 75% do total de CLA, valor relativamente mais baixo que o obtido para o queijo Terra Nostra (82,35%) e queijo Valformoso (86,09%) mas mais elevado do que o queijo Loreto (72,25%).

Neste estudo, o segundo maior isómero é o *t8,c10* representando cerca de 8,28% do total do CLA, o terceiro maior isómero é o *c/t11,13* com 3,4% do total do CLA, tendo como base a distribuição dos isómeros do CLA apresentado por Luna *et al.* (2005), para os dois isómeros referidos apresentaram respectivamente 3,00% do total do CLA para o isómero *t8,c10* e 4,57% do total do CLA para o isómero *c/t11,13*. Relativamente ao isómero *t10,c12* em que foi demonstrado um efeito biológico evidente não foi detectado nos três queijos, poderá ter ficado co-eluído com o isómero *c9,t11* dada a sua grande quantidade.

Comparando sobre o ponto de vista do consumidor o teor específico do CLA dos queijos analisados com os queijos Azeitão DOP, Nisa DOP e Évora DOP (Ribeiro, 2004), os queijos dos Açores apresentaram valores mais elevados, com uma média de 13,79% do total do CLA face aos 11% do total do CLA para os queijos de ovelha DOP (Figura 28).

Os teores relativos dos totais de isómeros CLA por categorias nas três manteigas revelaram a predominância dos *c/t* com cerca de 92% do total, verificando-se diferenças significativas entre a manteiga Nova Açores e manteiga Loreto. Bauman *et al.* (2000), observaram que a manteiga continha 85,4% do total, valor relativamente mais baixo que o encontrado neste estudo. Em relação aos isómeros *t/t*, constata-se a mesma situação de variação significativa, tendo a manteiga Nova Açores um valor superior. Nesta categoria a média dos valores foi de 7,73% do total comparando com o estudo de Bauman *et al.*, (2000) que revelou um valor de 9,4% do total. Relativamente ao teor médio total do CLA foi de 6,57 mg/g de manteiga na manteiga Loreto, 8,35 mg/g de manteiga na manteiga Milhafre dos Açores e 7,71 mg/g de manteiga na manteiga Nova Açores, verificando-se diferenças significativas entre a manteiga Loreto e manteiga Milhafre dos Açores ($P < 0,05$).

O trabalho de Ledoux *et al.* (2005) analisou 54 manteigas produzidas em diferentes regiões de França durante as estações do ano: Inverno, Primavera e Verão. O referido trabalho obteve um nível médio total de CLA de 4,5 mg/g de manteiga no Inverno, 5,8 mg/g de manteiga na Primavera e 8,0 mg/g de manteiga no Verão. Comparando estes valores com os deste estudo é de realçar que as manteigas analisadas apresentam valores próximos das manteigas francesas produzidas no Verão. No Inverno, os animais estão em estábulos habitualmente alimentam-se de dieta com níveis baixos de ácido linoleico e PUFA; assim os níveis de CLA na gordura do leite no Inverno foram reduzidos devido à falta de substrato. Durante o período de transição do estábulo para a pastagem, os níveis de CLA na gordura do leite aumentam como o aumento na dieta de ácido linoleico e PUFA devido a erva verde muito rica em PUFA (Kelly *et al.*, 1998, Collomb *et al.*, 1999, Precht e Molkentin, 1999).

Relacionando com manteigas produzidas no Continente nomeadamente as marcas Mimosa, Primor e Matinal apresentaram o teor total de CLA mais reduzidos em relação a este estudo.

Collomb e colaboradores (2001) afirmaram que o nível de CLA aumenta significativamente com a altitude do pasto, como as manteigas analisadas provém de animais produzidos em pastagem situada em altitude pode ser a razão do seu elevado teor neste estudo.

O teor total de CLA (mg/g de manteiga) a manteiga Mimosa apresentou o valor mais elevado (3,26), tendo a manteiga Primor apresentado um valor intermédio de 3,05 e a manteiga Matinal a que obteve um valor mais baixo (1,59) (Martins *et al.*, submetido).

Existem vários factores descritos na literatura que sugerem que a variação do teor de CLA é devida a: área geográfica, condições climáticas e de manejo, alimentação e raça (Ledoux *et al.*, 2005) daí a variabilidade de valores encontrados.

O teor específico do CLA revelou diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a manteiga Milhafre dos Açores ($P < 0,05$). Relativamente aos teores específico do CLA foram de 8,08 mg/g de lípidos para a manteiga Loreto, 10,05 mg/g de lípidos para a manteiga Milhafre dos Açores e 9,47 mg/g de lípidos para a manteiga Nova Açores.

A comparação destes resultados com valores descritos na literatura científica, posiciona a manteiga dos Açores próxima dos valores de manteigas alemãs e italianas (9,4 mg/g de lípidos) (Fritsche e Steinhart, 1998; Precht e Molkentin, 2000), mas relativamente mais baixos em relação a manteigas irlandesas (14,1 mg/g de lípidos), e da Nova Zelândia (11,0 mg/g de lípidos) (MacGibbon *et al.*, 2001) (Figura 29). A manteiga dos Açores é mais rica em CLA do que as manteigas francesas, holandesas, americanas e canadianas (5,4 mg/g de lípidos, 7,3 mg/g de lípidos e 4,7 mg/g de lípidos) (Chin *et al.*, 1992; Wolff *et al.*, 1995; Ma *et al.*, 1999; Precht e Molkentin, 2000) (Figura 29). Comparando as manteigas dos Açores com as do Continente, as primeiras obtiveram teores específicos do CLA superiores. Na manteiga Mimosa foi de 4,99 mg/g de lípidos, na manteiga Primor foi de 4,84 mg/g de lípidos e na manteiga Matinal de 5,10 mg/g de lípidos, valores inferiores à média do teor específico encontrado neste estudo que foi de 9,2 mg/g de lípidos (Figura 29).

O isómero do CLA mais abundante foi o c9,t11 representando cerca de 82,1% do total dos isómeros do CLA. Bauman *et al.*, (2000) observou que a manteiga contém 76,5% do isómero c9,t11, valor mais baixo que o encontrado neste estudo. Alguns autores analisaram o isómero c9,t11 e apresentaram uma variação entre 78-88% do total do CLA (Dhiman *et al.*, 2005), o valor encontrado neste estudo situa-se dentro da variação. Actualmente, os resultados de estudos encontrados na literatura, referem-se apenas ao CLA total, não contemplando os restantes

isómeros. Assim, na manteiga dos Açores, o segundo maior isómero é o *t8,c10* representando cerca de 4,8% do total do CLA, o isómero *t11,c13* característico de produtos provenientes de leite produzidos por animais em pastagem representa 2,6% do total de CLA.

Comparando ao nível do teor específico e total do CLA, a manteiga Milhafre dos Açores produzida na Ilha Terceira com as outras manteigas provenientes da Ilha de S. Miguel, a primeira registou valores mais elevados, no entanto em termos de significância estatística ($P < 0,05$) apenas demonstrou ser diferente da Manteiga Loreto.

Na grande maioria dos casos, o leite, queijo e manteiga revelaram teores específicos de CLA elevados quando comparados com produtos similares (Figuras 27, 28 e 29).

5.5. Teor de colesterol

Segundo as recomendações dietéticas internacionais, o consumo diário de colesterol pelo Homem não deve exceder os 300 mg de colesterol (FAO, 1994).

No leite meio-gordo avaliado, o teor médio de colesterol total é de 0,43 mg/ml de leite, não se registando diferenças significativas ($P > 0,05$) entre o leite Terra Nostra e Nova Açores.

O INSA (2006) registou um valor de colesterol para o leite meio-gordo de 0,08 mg/ml leite, valor muito baixo comparando com o deste trabalho. No estudo de Guerreiro (2004), o teor médio de colesterol do leite meio-gordo analisado foi de 0,062 mg/ml de leite, valor relativamente inferior ao encontrado neste estudo. Outro autor, revelou um teor médio de colesterol total em leites gordos de ovelha de 0,16 mg/ml leite, também relativamente inferior ao referido neste estudo (Ribeiro, 2004). Em 2002, Piironen *et al.* caracterizaram o teor de colesterol em alguns produtos consumidos na Finlândia entre eles o leite meio-gordo, este variou entre 0,056 e 0,064 mg/ml leite, os leites analisados apresentaram valores superiores. O teor específico de colesterol do leite Terra Nostra foi de 33,2 mg/g lípidos e do leite Nova Açores foi de 36,2 mg/g lípidos. Comparando com produtos similares do Continente, estes obtiveram um teor médio específico de 4,13 mg/g lípidos, apresentando um valor muito inferior ao caracterizado neste trabalho (Figura 27). No que diz respeito ao teor médio específico do leite gordo de ovelha caracterizado no estudo de Ribeiro (2004), apresentou um valor de 2,68 mg/g lípidos, valor inferior ao obtido neste estudo (Figura 27). Os resultados deste estudo estão em conformidade com o descrito na literatura, uma vez que o teor de colesterol total representa 0,42% do total de gordura para leite meio-gordo (Jensen, 2002).

Nos queijos dos Açores analisados, o teor médio de colesterol total é de 0,78 mg/g queijo, no entanto foi o queijo Terra Nostra que apresentou o teor mais elevado de colesterol

(0,81 mg/g queijo). Tomando como referência a tabela de composição de alimentos do INSA, o teor de colesterol total para o queijo flamengo com 45% de gordura foi de 0,69 mg/g de queijo, este estudo apresentou uma concentração de colesterol total superior. Em relação ao estudo de Piironen *et al.* (2002), o queijo variou de 0,33 a 0,82 mg/g queijo, situando-se os resultados deste estudo próximo do valor máximo da variação. Verificou-se uma grande variabilidade de valores em queijos gregos, registando-se a título de exemplo, os valores de 72,5 mg/100 g de queijo grego de ovelha Feta, 95,8 mg/100 g de queijo grego Kefalotiri, 110,2 mg/100 g de queijo grego Graviera, 58,9 mg/100 g de queijo grego Telemes (Andrikopoulos *et al.*, 2003).

Comparando os queijos dos Açores com os queijos gregos existem tipos de queijos gregos com teores de colesterol superiores é o caso do queijo Kefalotiri e Graviera e com teores inferiores como os queijos Feta e Telemes.

O teor de colesterol total para o queijo de ovelha Azeite DOP foi de 0,52 mg/g queijo, os queijos de ovelha Évora DOP e Nisa foram de 0,63 mg/g queijo (Ribeiro, 2004), valores mais baixos que os encontrados neste estudo. De acordo com os resultados, observou-se que o teor de colesterol específico foi de 3,75 mg/g lípidos para o queijo Terra Nostra e 3,50 mg/g lípidos para o queijo Loreto e Valformoso (Figura 28). Confrontando com os resultados obtidos no estudo de Ribeiro (2004) que revelou um teor médio específico de colesterol de 1,93 mg/g lípidos, valor inferior ao deste estudo. Em 2005, Seçkin *et al.* avaliaram o conteúdo de vários produtos lácteos turcos ao nível da concentração em colesterol e verificaram que os queijos variam de 1,48 a 2,52 mg/g lípidos, voltaram a ser mais baixos que o deste estudo (Figura 28).

No que concerne ao colesterol total, existe diferenças significativas entre a manteiga Milhafre dos Açores e a Nova Açores ($P < 0,05$). Na manteiga Milhafre dos Açores o teor de colesterol total e específico revelou-se superior em relação às outras manteigas. Consultando a tabela de alimentos publicada em 2006 pelo INSA, o valor de colesterol total para a manteiga com sal foi de 2,3 mg/g manteiga, valor inferior ao registo neste estudo. Em relação ao teor de colesterol específico, constata-se que existe variação significativa entre a manteiga Milhafre dos Açores e a Nova Açores e a Milhafre dos Açores e a Loreto ($P < 0,05$). Os resultados obtidos no trabalho de Seçkin *et al.* (2005) para manteigas turcas variaram de 2,51 a 3,69 mg/g de lípidos, os resultados para a manteiga Loreto e Nova Açores (3,62 e 3,30 mg/g de lípidos, respectivamente) estão em conformidade com o descrito pelo autor citado (Figura 29).

Estudos epidemiológicos apontam para uma correlação positiva entre o colesterol da dieta e a incidência de doenças cardiovasculares, por meio de um aumento significativo do colesterol total plasmático (Mcnamara, 2000). Os produtos lácteos dos Açores apresentaram na sua maioria um teor de colesterol relativamente superior ao descrito na literatura. Tendo o

colesterol propriedades prejudiciais, o consumo destes produtos poderia não ser aconselhável dado ao seu teor de colesterol, no entanto não excedem o valor diário recomendado de 300 mg/dia. Estes produtos lácteos quando inseridos numa dieta equilibrada e variada não se revestem de qualquer problema.

5.6. Teor de vitaminas antioxidantes lipossolúveis

Os teores específicos de β -caroteno (B-CT), α -tocoferol (A-TF) e ésteres de retinol, não mostraram variação significativa entre os dois leites ($P>0,05$). O teor total de β -caroteno para o leite Terra Nostra foi de 0,30 $\mu\text{g/ml}$ leite e para o leite Nova Açores foi de 0,27 $\mu\text{g/ml}$ leite. Comparando com os dados publicados pelo INSA (2006) para o leite meio-gordo que foi de 0,12 $\mu\text{g/ml}$ leite, o valor encontrado neste estudo foi superior.

Hulshof *et al.* (2006) avaliaram a variação do conteúdo em retinol e carotenóides em leite e produtos lácteos da Holanda, obtendo para o leite meio-gordo um teor de β -caroteno de 0,078 $\mu\text{g/ml}$ leite, valor inferior ao deste estudo. O teor médio total do α -tocoferol registou um valor de 4,82 $\mu\text{g/ml}$ leite relacionando com o resultado publicado pelo INSA (2006) que foi de 0,3 $\mu\text{g/ml}$ leite, a concentração deste estudo foi mais elevada. Na sequência do estudo realizado Panfili *et al.* (1994) em laticínios de Itália revelou um teor de α -tocoferol de 0,61 $\mu\text{g/ml}$ leite, valor muito inferior ao deste trabalho. O teor total dos ésteres de retinol para o leite Terra Nostra foi de 3,74 $\mu\text{g/ml}$ leite e para o leite Nova Açores foi de 2,28 $\mu\text{g/ml}$ leite, apresentando diferenças significativas entre eles ($P<0,05$). Comparando o teor de retinol revelado pelo INSA (2006) que foi de 0,02 $\mu\text{g/ml}$ leite, o valor deste estudo voltou a ser superior. No estudo de Hulshof *et al.* (2006), o teor total de retinol apresentou um valor de 144 $\mu\text{g/ml}$ leite, maior do que o deste estudo. O teor específico de β -caroteno nos dois leites analisados, foi de 22 $\mu\text{g/ml}$ lípidos, relativamente superior ao obtido por Hulshof *et al.* (2006) que foi de 5,5 $\mu\text{g/ml}$ lípidos. O teor médio específico de α -tocoferol foi de 361,9 $\mu\text{g/ml}$ lípidos, tendo o leite Terra Nostra apresentado um valor superior (365,45 $\mu\text{g/ml}$ lípidos) (Figura 27).

O teor específico do β -caroteno apresentou variação significativa para o queijo Valformoso, apresentando este um valor inferior aos outros dois queijos. O queijo holandês Gouda com 8 semanas e 26 semanas obteve respectivamente, 2 e 1,6 $\mu\text{g/g}$ lípidos para o β -caroteno (Hulshof *et al.*, 2006). O teor médio específico de β -caroteno nos queijos açorianos foi de 3,96 $\mu\text{g/g}$ lípidos, teor mais elevado que os queijos holandeses. O queijo Terra Nostra obteve o valor mais elevado do teor específico de α -tocoferol com 67,4 $\mu\text{g/g}$ lípidos, tendo o queijo Loreto apresentado 62,8 $\mu\text{g/g}$ lípidos e o queijo Valformoso 59,9 $\mu\text{g/g}$ lípidos (Figura 28),

existindo uma diferença significativa entre o queijo Terra Nostra e o queijo Valformoso, não existindo diferenças para o queijo Loreto. O teor β -tocoferol apresentou uma concentração inferior a 1 $\mu\text{g/g}$ lípidos. Outro isómero do tocoferol o γ variou entre 2,27 e 2,96 $\mu\text{g/g}$ lípidos. A concentração dos ésteres de retinol do queijo Valformoso é mais elevada (42,7 $\mu\text{g/g}$ lípidos) tendo os queijos Loreto e Terra Nostra apresentado um valor de 33,5 $\mu\text{g/g}$ lípidos. O β -tocoferol, γ -tocoferol e os ésteres de retinol, não mostraram variação significativa para os três queijos. O teor total de β -caroteno no queijo Terra Nostra foi 0,92 $\mu\text{g/g}$ queijo, tendo o valor mais elevado, o queijo Loreto foi de 0,87 $\mu\text{g/g}$ queijo, tendo o queijo Valformoso apresentado o valor mais baixo (0,75 $\mu\text{g/g}$ queijo).

De acordo com valor de referência do INSA (2006) de 1,75 $\mu\text{g/g}$ queijo, os teores obtidos neste trabalho foram inferiores. Em queijos holandeses Gouda com 8 semanas e com 26 semanas os teores totais β -caroteno foram respectivamente de 0,62 e 0,48 $\mu\text{g/g}$ queijo (Hulshof *et al.*, 2006), valores inferiores aos queijos dos Açores. O teor total de α -tocoferol nos queijos analisados variou entre os 13,2 e 14,7 $\mu\text{g/g}$ queijo, confrontando com o resultado do INSA para queijo este foi de 4,4 $\mu\text{g/g}$ queijo, valor relativamente mais baixo que o encontrado neste estudo. Segundo o estudo de Gambelli *et al.* (1999) em que analisaram produtos lácteos fermentados comercializados em Itália e verificaram para o queijo "quark" que o teor total de α -tocoferol foi de 3,5 $\mu\text{g/g}$ queijo, isso implica que o teor neste estudo foi mais elevado. De acordo com Panfili *et al.* (1994) o teor de α -tocoferol de alguns queijos italianos entre eles o Provolone (4,93 $\mu\text{g/g}$ queijo), o Taleggio (5,20 e 6,47 $\mu\text{g/g}$ queijo) e Caciotta (2,48 $\mu\text{g/g}$ queijo) obtiveram teores inferiores ao deste estudo. O mesmo autor afirma que o queijo e o leite são boa fonte de vitaminas lipossolúveis, embora os conteúdos sejam fortemente afectados pela espécie animal e pela dieta. Daí a variação de valores apresentados na literatura.

Os teores totais dos isómeros do tocoferol (β , γ e Δ) apresentaram um valor inferior a 1 $\mu\text{g/g}$ queijo. O teor total γ -tocoferol encontrado está acima dos valores descrito na literatura, uma vez que o teor de γ -tocoferol foi cerca de 0,09 e 0,34 $\mu\text{g/g}$ queijo nos queijos italianos analisados por Panfili *et al.* (1994). O queijo Loreto e Terra Nostra apresentaram valores muito semelhantes para o teor total de ésteres de retinol cerca de 7 $\mu\text{g/g}$ queijo. O total e teor específico das vitaminas antioxidantes lipossolúveis em queijo de ovelha DOP apresentaram valores maiores do que este estudo.

O teor médio específico de β -caroteno nas manteigas dos Açores foi de 3,08 $\mu\text{g/g}$ lípidos, comparando com o estudo de Hulshof *et al.* (2006) para manteigas holandesas foi de 4,60 $\mu\text{g/g}$ lípidos, o valor encontrado neste estudo foi inferior. A manteiga Milhafre dos Açores


registou um teor específico de α -tocoferol de 101,74 $\mu\text{g/g}$ lípidos, as outras duas manteigas situaram-se entre 67,02 e 72,87 $\mu\text{g/g}$ lípidos (Nova Açores e Loreto, respectivamente).

Em relação aos outros isómeros do tocoferol (β , γ e Δ) revelaram grandes variações nos valores, o que torna difícil fazer grandes considerações. Na manteiga avaliada, o teor médio específico dos ésteres de retinol foi de 89,66 $\mu\text{g/g}$ lípidos, no entanto foi a manteiga Milhafre dos Açores que apresentou o teor mais elevado de ésteres de retinol (110,51 $\mu\text{g/g}$ lípidos). O teor total de β -caroteno variou entre 2,30 e 2,75 $\mu\text{g/g}$ manteiga, revelando a manteiga Milhafre dos Açores o valor mais elevado e a manteiga Loreto o teor mais baixo. O INSA (2006) para a manteiga com sal apresentou um teor de β -caroteno de 0,45 $\mu\text{g/g}$ manteiga, valor relativamente inferior ao apresentado neste estudo. A manteiga holandesa revelou um teor de 3,70 $\mu\text{g/g}$ manteiga (Hulshof *et al.*, 2006), valor superior ao deste estudo. O teor total de α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$ manteiga) registou para a manteiga Milhafre dos Açores 84,40 para a manteiga Loreto 59,30 e para a manteiga Nova Açores 54,57.

Comparando com o teor proposto pelo INSA (2006) que é de 20 $\mu\text{g/g}$ manteiga, os valores das manteigas dos Açores foram superiores. Em termos estatísticos houve diferenças significativas entre a manteiga Milhafre dos Açores e a manteiga Loreto, assim como entre a primeira e a manteiga Nova Açores ($P < 0,05$). A manteiga Milhafre dos Açores apresentou o valor mais elevado (91,83 $\mu\text{g/g}$ manteiga) em termos de teor total de ésteres de retinol, tendo a manteiga Loreto apresentado a concentração mais baixa de 55,39 $\mu\text{g/g}$ manteiga. Ocorreram diferenças significativas entre a manteiga Loreto e a Milhafre dos Açores bem como, entre a manteiga Loreto e a Nova Açores.

A variabilidade de valores encontrados na literatura poderá ser devida a natureza das amostras e diferença de métodos analíticos. Na grande maioria, os produtos lácteos dos Açores apresentaram teores mais elevados de vitaminas antioxidantes lipossolúveis do que os valores descritos na literatura, no entanto parecem apresentar teores intermédios de vitaminas antioxidantes lipossolúveis.

5.7. Estimativa do valor nutricional dos parâmetros analisados para o consumo *per capita* diário de leite, queijo e manteiga

De acordo com os resultados obtidos, referentes às amostras de leite, queijo e manteiga, reveste-se de extrema importância estimar a ingestão de gordura, face ao nosso consumo *per capita* diário de leite de 241,9 ml, queijo de 24,4 g e manteiga de 5,2 g (Instituto Nacional de Estatística, 2006)  assim como os principais parâmetros com importância biológica analisados. É

também importante fazer o seu enquadramento com o que a literatura científica aconselha em termos de doses diárias recomendadas, com indicadores de saúde pública.

Segundo a Balança Alimentar (2006), no grupo do leite e derivados, o leite representou em 2003 cerca de 70% do consumo *per capita* diário total, seguido dos iogurtes (14%) e do queijo (7%).

Dados estes produtos alimentares revelarem um consumo *per capita* elevado, reveste-se de extrema importância avaliar a sua ingestão do ponto de vista da fracção lipídica e comparar com produtos similares produzidos em Portugal.

Os leites dos Açores apresentaram concentrações de CLA mais elevadas do que os leites do Continente (Quadro 19). Os queijos DOP revelaram concentrações mais elevadas de CLA, o que poderá ser devido ao seu maior teor de gordura (Quadro 19). As manteigas dos Açores exibiram níveis de CLA superiores ao das manteigas do Continente. A quantidade de CLA veiculada por qualquer uma das doses dos diferentes alimentos descritos, corresponde a uma concentração muito abaixo da qual os efeitos biológicos se manifestam.

Quando às vitaminas antioxidantes lipossolúveis, todos os produtos lácteos revelaram-se abaixo da dose recomendada para a dieta humana.

Do ponto de vista do índice n-6/n-3, apenas o leite Terra Nostra registou um valor acima de 3. O DH-UK (1994) recomendou um valor inferior a 4 para este índice, todos os produtos registaram valores inferiores ao recomendado, o que poderá indicar um bom nível nutricional destas gorduras. Todos os produtos lácteos dos Açores revelaram um índice n-6/n-3 relativamente menor do que os produtos similares do Continente.

O valor recomendado para uma dieta equilibrada para o rácio PUFA/SFA deverá ser superior a 0,45. Todos os produtos lácteos analisados foram muito inferiores a este valor, o que revelou um desequilíbrio entre os ácidos poli-insaturados e os ácidos gordos saturados indicando que a gordura dos produtos dos Açores é saturada. Comparando com produtos similares produzidos no Continente, este índice demonstrou valores idênticos entre eles.

Segundo a literatura, nos produtos lácteos abundam os ácidos gordos saturados, o que faz diminuir este índice e responsabiliza estes ácidos como os causadores de problemas ao nível da saúde, nomeadamente ao aumento do CHR plasmático.

Quadro 19: Estimativa de ingestão média diária da fracção lipídica e respectivos rácios nutricionais, referentes aos leites, queijos e manteigas dos Açores, Portugal Continental (P.Cont.) e Portugal Continental DOP (P.DOP).

Consumo <i>per capita</i> diário	241,9 ml leite			24,4 g queijo					5,2 g manteiga				Ingestão diária recomendada para a dieta humana
	T. Nostra	N. Açores	P. Cont.	Loreto	T. Nostra	Valformoso	P. Cont.	P. DOP	Loreto	M. Açores	N. Açores	P. Cont.	
Gordura total (g)	3,1	2,9	3,6	5,3	5,3	5,4	5,5	9,6	4,2	4,3	4,2	2,5	65 g, em 2000 calorías ⁽¹⁾
Colesterol (mg)	106,0	102,1	14,9	18,6	19,8	18,8	—	14,0	18,8	23,7	17,2	—	300 mg ⁽²⁾
CLA (mg)	3,6	2,8	2,6	74,5	65,5	81,0	24,1	131,6	34,2	43,4	40,1	12,6	3 g ⁽³⁾
SFA (mg)	2107,4	1683,7	752,1	3047,2	3259,1	3238,4	3794,7	6522,4	2550,9	2501,9	2604,7	1809,7	<10% ⁽⁴⁾
MUFA (mg)	931,3	759,9	311,7	1387,0	1445,7	1421,9	1501,5	1748,5	1098,3	1165,4	1110,0	784,8	
TFA (mg)	65,6	60,2	7,9	146,9	66,5	138,4	188,7	447,3	120,0	123,4	123,3	84,6	
PUFA n-3 (mg)	17,9	18,0	4,5	35,6	32,4	37,1	28,6	64,5	32,0	30,1	30,2	13,0	1,6 g ⁽⁵⁾
PUFA n-6 (mg)	52,3	48,6	35,0	81,8	80,2	83,0	163,1	236,1	69,0	63,3	74,0	81,8	17 g ⁽⁵⁾
B-CT (µg)	71,1	64,7	—	21,5	22,5	18,3	—	—	15,6	13,2	14,3	—	
A-TF (µg)	1176,1	1157,6	—	333,9	358,9	322,5	—	178,8	308,4	438,9	283,8	—	15 mg ⁽⁶⁾
Ésteres de retinol (µg)	905,9	550,8	—	181,8	175,2	229,2	—	324,5	288,0	477,5	408,7	—	900 µg ⁽⁷⁾
Rácios													
n-6/n-3	3,12	2,83	7,74	2,30	2,53	2,24	6,84	3,77	2,16	2,14	2,62	6,15	<4 ⁽⁷⁾ ; 5:1 e 10:1 ⁽²⁾ ; 1-2 ⁽⁹⁾
PUFA/SFA	0,04	0,04	0,06	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	>0,45 ⁽⁸⁾
h/H	0,54	0,56	0,60	0,55	0,58	0,54	0,53	0,56	0,53	0,59	0,51	0,61	2 ⁽⁹⁾
CLA / (SFA+CHR)	0,002	0,002	0,040	0,024	0,021	0,025	—	0,025	0,013	0,017	0,015	—	0,1 ⁽¹⁰⁾

(1) Driskell (1993); (2) FAO (1994); (3) Ip *et al.* (1994); (4) National Academy of Science Food and Nutrition Board (1997); (5) National Academy of Science Food and Nutrition Board (2000); (6) National Academy of Science Food and Nutrition Board (2001); (7) Department of Health U.K (1994); (8) NIH-EUA (1994) citado por Simopoulos; (9) Santos-Silva *et al.* (2002) valor referente à carne (10) Eynard e Lopes (2003) valor referente à carne; 0,1 (boa qualidade); 0,01 (má qualidade).

Avaliando o índice $CLA/(SFA+CHR)$, apesar de ter sido baixo face ao recomendado, os produtos dos Açores poderão mesmo assim encontrar maior aceitação por parte dos consumidores já que apresentam teores elevados de CLA, contariando o excesso de SFA e CHR, que penaliza o valor nutricional destes produtos.

5.8. Comparação dos principais parâmetros analisados com valores da literatura

Reunindo toda a informação referente aos resultados obtidos neste estudo e comparando com os teores máximos, medianos e mínimos de valores da literatura, são apresentados gráficos para facilitar a discussão e conclusão dos diferentes teores específicos dos principais parâmetros analisados (Figuras 27, 28 e 29).

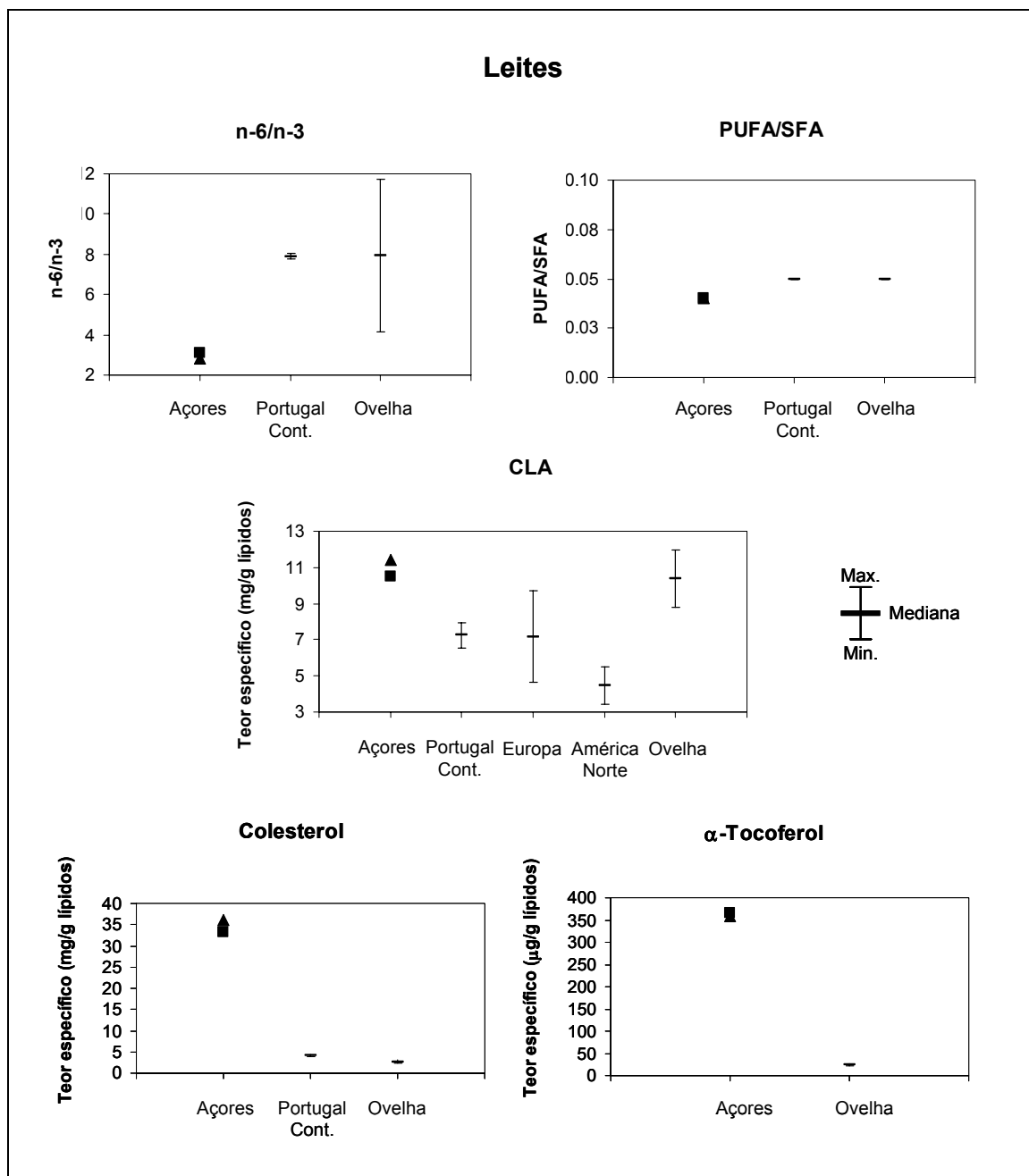


Figura 27: Comparação dos principais parâmetros dos 2 tipos de leite com a literatura científica.

Símbolos: ■ : leite Terra Nostra; ▲ : leite Nova Açores; - : Mediana encontrada na literatura científica.
 Açores – Terra Nostra, Nova Açores; Portugal Cont. – Mimoso, Matinal, Agros (Guerreiro, 2004); Ovelha – leite de ovelha Azeitão, leite de ovelha Évora e leite de ovelha Nisa (Ribeiro, 2004); Europa – Alemanha (Precht e Molkentin, 1997) e França (Wolff, 1994); América Norte – EUA (Chin *et al.*, 1992) e Canadá (Ma *et al.*, 1999).

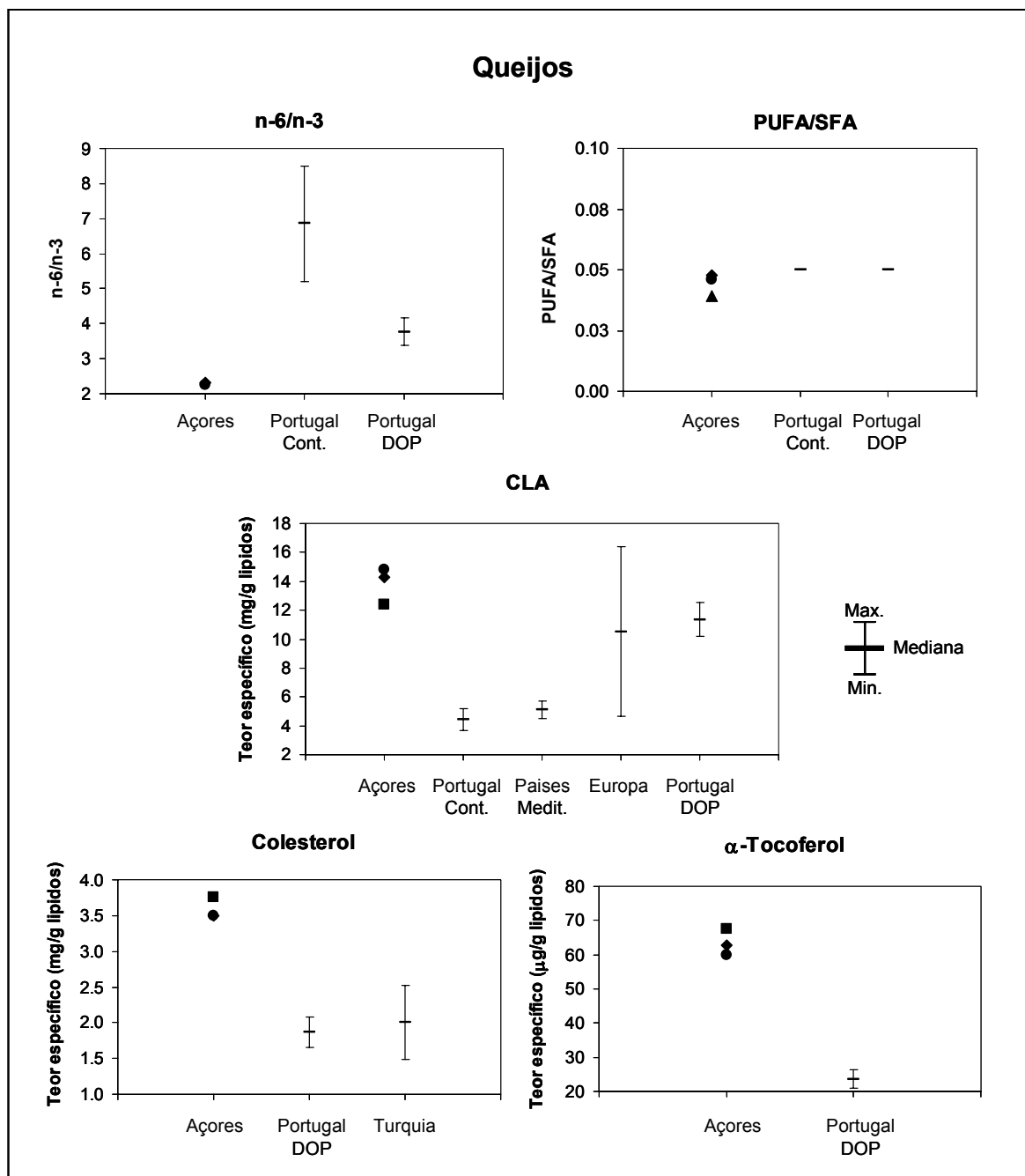


Figura 28: Comparação dos principais parâmetros dos 3 tipos de queijos com a literatura científica.

Símbolos: ◆ : queijo Loreto; ● : queijo Valformoso; ■ : queijo Terra Nostra – : Mediana encontrada na literatura científica.

Açores – Loreto, Valformoso e Terra Nostra; Portugal Cont. – Agros e Limiano (Martins *et al.*, submetido); Portugal DOP – queijo de ovelha Azeitão DOP, queijo de ovelha Évora DOP e queijo de ovelha Nisa DOP (Ribeiro, 2004); Países Medit. - Espanha (Luna *et al.*, 2005) e Turquia (Seçkin *et al.*, 2005); Europa – Alemanha (Fritsche e Steinhart, 1998) e França (Lavillonniere *et al.*, 1998); Turquia – Queijos Turcos (Seçkin *et al.*, 2005).

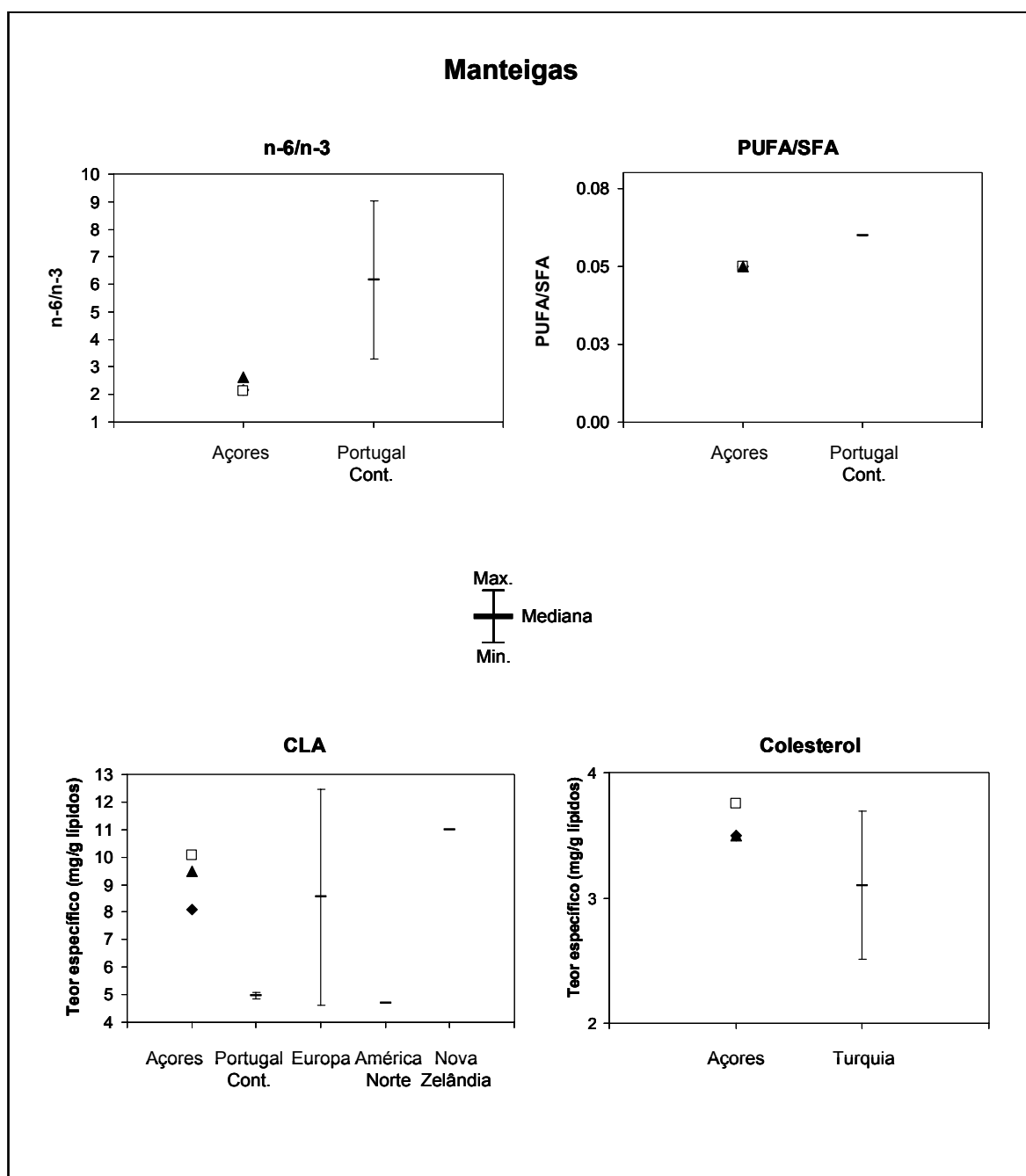


Figura 29: Comparação dos principais parâmetros dos 3 tipos de manteigas com a literatura científica.

Símbolos: ▲ : manteiga Nova Açores; □ : manteiga Milhafre dos Açores; ◆ : manteiga Loreto – : Mediana encontrada na literatura científica.

Açores – Loreto, Milhafre dos Açores e Nova Açores; Portugal Cont. – Mimosa, Primor e Matinal (Martins *et al.*, submetido); Europa – Itália (Precht e Molkentin, 2000), França (Wolff *et al.*, 1995) e Holanda (Precht e Molkentin, 2000); América Norte – EUA (Chin *et al.*, 1992) e Canadá (Ma *et al.*, 1999); Nova Zelândia – manteiga Nova Zelandesa (MacGibbon *et al.*, 2001); Turquia – manteiga turca (Seçkin *et al.*, 2005).

6. CONCLUSÕES

6.1. Conclusões

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a composição lipídica e a qualidade nutricional da gordura dos leites, queijos e manteigas das diferentes marcas comerciais analisadas não apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Os leites indicam uma boa razão PUFA n-6/n-3 em comparação com leites do Continente e leites de ovelha, não excedendo o valor recomendado para a dieta humana.

No entanto, a quantidade de PUFA é baixa, uma vez que o índice PUFA/SFA é muito baixo comparativamente ao valor recomendado para a dieta humana, parece indicar a presença de uma maior concentração de gordura saturada no leite analisado. Foram encontrados valores idênticos em leites do Continente e em leites de ovelha.

Os teores específicos de CLA situam-se próximos dos valores medianos do leite de ovelha, são superiores aos teores máximos do leite de vaca europeu e ainda se revelam relativamente superiores ao leite do Continente e América do Norte.

Relativamente ao teor específico de colesterol, os leites Nova Açores e Terra Nostra parecem ter níveis mais elevados do que os leites do Continente e leite de ovelha.

Quanto às vitaminas antioxidantes lipossolúveis apresentam valores médios, sendo de realçar as maiores concentrações de α -tocoferol e ésteres de retinol, tendo o α -tocoferol um teor específico muito superior ao leite de ovelha.

Pode-se sugerir que nos queijos analisados a gordura é muito saturada. Os queijos apresentam um índice PUFA/SFA muito reduzido e indicam a presença de grande quantidade de gordura saturada. Teores idênticos foram encontrados em queijos do Continente e queijos Portugueses DOP.

No entanto, os queijos Terra Nostra, Loreto e Valformoso parecem apresentar um bom índice n-6/n-3 comparativamente aos queijos do Continente e queijos Portugueses DOP, apesar da concentração de PUFA ser baixa. O índice n-6/n-3 é inferior ao valor recomendado para a dieta humana.

No caso do teor específico de CLA os queijos analisados parecem posicionar-se próximos do teor máximo dos queijos da Europa, acima dos teores máximos dos queijos Portugueses DOP e parecem ser ainda relativamente superiores aos queijos do Continente e Países Mediterrânicos.

Os teores específicos de colesterol registados são baixos mas ainda assim revelam níveis superiores aos dos queijos Portugueses DOP e Turcos.

Em relação ao α -tocoferol, os queijos em análise sugerem teores específicos maiores do que os queijos Portugueses DOP.

As manteigas Loreto, Milhafre dos Açores e Nova Açores parecem registar relativamente aos índices nutricionais de referência para a dieta humana, uma razão n-6/n-3 favorável, visto que o valor encontrado está dentro do recomendado e apresentam um índice inferior ao das manteigas do Continente.

Em contrapartida, a concentração de PUFA é baixa, uma vez que o índice PUFA/SFA é muito reduzido, indiciando a presença de uma gordura saturada; situação semelhante ocorre nas manteigas do Continente.

Em termos de teor específico de CLA, as manteigas analisadas parecem revelar-se superiores aos teores medianos das manteigas do Continente e América do Norte. A manteiga Loreto situa-se um pouco abaixo do teor mediano das manteigas Europeias, as manteigas Milhafre dos Açores e Nova Açores posicionam-se acima do teor mediano das manteigas Europeias. Todas as manteigas analisadas são inferiores aos teores medianos das manteigas da Nova Zelândia.

No caso do teor específico de colesterol, os resultados situam-se próximos dos teores máximos das manteigas Turcas.

Pode-se ainda concluir que não parece haver diferenças significativas na qualidade nutricional da gordura da manteiga Milhafre dos Açores produzida na Ilha Terceira quando comparada com manteigas produzidas na Ilha S. Miguel (Loreto e Nova Açores). Os principais índices nutricionais n-6/n-3 e PUFA/SFA registam valores semelhantes entre todas as manteigas. No entanto, a manteiga Milhafre dos Açores (Ilha Terceira) parece apresentar valores específicos de CLA e colesterol um pouco mais elevados face às outras manteigas produzidas na Ilha de S. Miguel.

De um modo geral, pode-se concluir que, estes produtos lácteos dos Açores parecem apresentar um bom índice n-6/n-3, não excedendo o valor recomendado para a dieta humana. No entanto, a concentração de PUFA é baixa, dado que o índice PUFA/SFA é muito baixo, revelador da presença de uma % elevada de gordura saturada. Na sua maioria, o leite, queijo e manteiga revelam teores específicos de CLA próximos dos teores máximos descritos na literatura, baixos níveis de colesterol, ainda assim acima dos teores máximos encontrados e concentrações de α -tocoferol superiores aos teores máximos da literatura consultada.

6.2. Perspectivas Futuras

Estudos deste tipo devem ser recomendados no futuro, uma vez que, para além da importância de informar o consumidor e mesmo os produtores da possível valia destes produtos, é bastante interessante do ponto de vista nutricional estudar os componentes da fracção lipídica tanto os benéficos como os deletérios em diferentes alimentos em que o papel da gordura seja importante.

Além disso, será também importante estudar qual a influência da alimentação do animal em pastagem na fracção lipídica do leite e nos diferentes produtos lácteos.

Por último, afigura-se também de interesse promover estudos epidemiológicos em que se avaliem os efeitos benéficos e prejudiciais para a saúde da ingestão destes produtos, se se comportam como uma mais valia ou se são adversos à saúde.

7. BIBLIOGRAFIA

- ADA (1999) - Position of American Dietetic Association: functional foods. Journal American Dietetic Association. 99 (1999) 1278-1285.
- ANDRIKOPOULOS, N., KALOGEROPOULOS, N., ZERVA, A., ZERVA, U., HASSAPIDOU, M. e KAPOULAS, M. V. (2003) – Evaluation of cholesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. Journal of Food Composition and Analysis. 16 (2003) 155-167.
- ARO, A., ANTOINE, J.M., PIZZOFERRATO, L., REYKDAL, O. e POPPEL, G. V. (1998) - *Trans* fatty acids in Dairy and Meat Products from 14 European Countries: The transfair study. Journal of Food Composition and Analysis. 11 (1998) 150-160.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE LACTICÍNIOS (2006) – Dados sectoriais: Informação sobre a produção leiteira e sua transformação em produtos industriais nas diferentes ilhas do Arquipélago dos Açores. ([http:// www.anil.pt](http://www.anil.pt).)
- BAER, R.J., RYALI, J., SCHINGOETHE, D.J., KASPERSON. K.M., DONOVAN, D.C., HIPPEN, A.R. e FRANKILIN, S.T. (2001) - Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. Journal of Dairy Science. 84 (2001) 345-353.
- BALL, G.F.M. (1988) - Fat-soluble vitamin A assays in food analysis. New York: Elsevier. 1988.
- BANG, H.O. e DYERBERG, J. (1972) - Plasma lipids and lipoprotein in Greenlandic west-coast Eskimos. Acta Medica Scandinavica. 192 (1972) 85-94.
- BANNI, S., CARTA, G., CONTINI, M.S., ANGIONI, E., DEIANA, M., DESSÍ, M.A., MELIS, M.P. e CORONGIU, F.P. (1996) - Characterization of conjugated diene fatty acids in milk and dairy products, and lamb tissues. Journal Nutrition Biochemistry. 7 (1996) 150-155.
- BASSLER, K.H. (1991) - On the problematic nature of vitamin E requirements: Net vitamin E. Z furs Ernährungswissenschaft. 30 (1991) 174-180.
- BAUCHART, D., VERITE, R. e RAMOND, B. (1984) - Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. Canadian Journal of Animal Science. 64 (1984) 233.
- BAUMAN, D.E., BARBANO, D.M. e DWYER, D.A. (2000) - Technical note: Production with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. Journal of Dairy Science. 83 (2000) 2422-2425.
- BAUMAN, D.E., CORL, B.A. e PETERSON, G.P. (2003) - The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. *In: Advances in conjugated linoleic acid research*. Champaign, IL EUA: AOCS press. J-L- Sébédio W. W. Christie, & Adolf (Eds.) Vol. 2 2003. p.146-173.
- BELITZ, H.D. e GROSCH W. (1999) – Chapter 10: Milk and dairy products. *In: Food Chemistry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999. p. 484-486.
- BELURY, M.A., NICKEL, K.P., BIRD, C.E. e WU, Y. (1996) - Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumour promotion. Nutrition and Cancer. 26 (1996) 149-157.

- BESSA, R.J.B. (1999) - Revalorização Nutricional das Gorduras dos Ruminantes. Symposium Europeo Alimentación en el siglo XXI. Bajadoz. Colégio Oficial de Veterinários de Bajadoz (1999) 283-313.
- BESSA, R.J.B., SANTOS-SILVA, J., RIBEIRO, J.M.R. e PORTUGAL, A.V. (2000) - Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. Livestock Production Science. 63 (2000) 210-211.
- BLATT, D.H., LEONARD, S.W. e TRABER, M.G. (2001) - Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory protein. Nutrition. 170 (2001) 799-805.
- BOUDREAU, A. e SAINT-AMANT L. (1992) – Capítulo VIII - Mantequilla. *In: Ciencia y tecnología de la leche*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1992. p. 219-247.
- BOYLSTON, T.D. e BELITZ, D.C. (2002) - Conjugated linoleic acid and fatty acid composition of yogurt produced from milk of cows fed soy oil and conjugated linoleic acid. Journal of Food Science. 67 (2002) 1973-1978.
- BRAMLEY, P.M., ELMADFA, I., KAFATOS, A., KELLY, F.J. MANIOS, Y., ROXBOROUGH, H.E., SCHUCH, W., SHEEHY, P.J.A. e WAGNER, K.H. (2000) - Vitamin E. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80 (2000) 913-938.
- BRANDÃO, S. (2002) – Novas Gerações de produtos lácteos funcionais. Universidade Federal de Viçosa.
- BREDA, J. (2003) – Fundamentos de Alimentação, Nutrição e Dietética. Coimbra Mar da Palavra – Edições Lda. 2003. p. 21-25.
- CÂNDIDO e CAMPOS (1995) - Alimentos funcionais – Uma revisão. Bol. SBCTA, Volume 29, nº 2 1995. p.107.
- CARMO I. (2004) – Capítulo 5: Alimentos Funcionais. *In: Alimentação Saudável Alimentação Segura*. Lisboa: Edições Dom Quixote, 2004. p. 409-411.
- CARROLL, K.K., CUTHRIE, N., NESARETNAM, K., GAPOR, A. e CHAMBERS, A.F. (1996) – Anti-cancer properties of tocotrienols from palm oil. *In: Nutrition, lipids, health, and disease*. Champaign, IL: AOCS Press. Ong Ash, Niki E., Packer L. (Eds.) 1996. p. 117-121.
- CAYUELA, J.M., GARRIDO, M.D., BANON, S.J. e ROS, J.M. (2003) - Simultaneous HPLC Analyse of α -tocopherol and cholesterol in fresh pig meat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 (2003) 1120-1124.
- CHATELAIN, E., BOSCOBOINIK, D.O. e BARTOLI, G.M. (1993) - Inhibition of smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity by tocopherols and tocotrienols. Biochimica et Biophysica Acta. 1176 (1993) 83-89.
- CHEW, B.P., WONG, T.S., SHULTZ, T.D. e MAGNUSON, N.S. (1997) - Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. Anticancer Research. 17 (1997) 1099-1106.

-
- CHIN, S.F., LIU, W., STORKSON, J.M., HA, Y.L. e PARIZA, M.W. (1992) - Dietary sources of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. Journal of Food Composition and Analysis. 5 (1992) 185-187.
- CHIN, S.F., STORKSON, J.M. e PARIZA, M.W. (1993) - Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. A new class of food-derived anticarcinogens. *In: Food Flavor and Safety: Molecular Analysis and Designs*. Spanier, A.M., Okai, H., e Tamara, M, Eds, American Chemical Society. 1993. p. 262-271.
- CHIZZOLINI, R., ZANARDI, E., DORIGONI, V. e GHIDIN, S. (1999) - Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. Trends in Food Science & Technology. 10 (1999) 119-128.
- COLLINS, F.Y., MCSWEENEY, L.H.P. e WILLINSON, G.M. (2003) - Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. International Dairy Journal. 13 (2003) 841-866.
- COLLOMB, M., BUTIKOFER, U., SPHNI, M., JEANGORS, B. e BOSSET, J.O. (1999) - Composition en acides gras et en glycérides de la matière grasse du lait de vache en zones de montagne et de plaine. Sciences Des Aliments. 19 (1999) 97-110.
- COLLOMB, M., BUTIKOFER, U., SIEBER, R., BOSSET, J.O. e JEANGROS, B. (2001) - Conjugated linoleic acid and *trans* fatty acid composition of cows milk fat produced in lowlands and highlands. Journal of Dairy Research. 68 (2001) 519-523.
- COLLOMB, M., BUTIKOFER, U., SIEBER, R., BOSSET, J.O. e JEANGROS, B. (2002) - Composition of fatty acids in cow`s milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high resolution gas chromatography. International Dairy Journal. 12 (2002) 649-659.
- COLLOMB, M., SCHMID, A., SIEBER, R., WECHSLER, D. e RYHANEN, E. (2006) - Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. International Dairy Journal. 16 (2006) 1347-1361.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. (1993) - Community Bureau of reference – BRC. Certified Reference Material. Brussels, April 1993.
- COOK, M. E., MILLER, C.C., PARK, Y. e PARIZA, M.W. (1993) - Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune - induced growth depression. Poultry Science. 72 (1993) 1301-1305.
- CORL, B.A., BAUMGARD, L.H., GRIINARI, J.M., DELMONTE, P., MOREHOUSE, K.M. e YURAWECZ, M.P. (2002) - *Trans*-7, *cis*- 9 CLA is synthesized endogenously by Δ 9-desaturase in dairy cows. Lipids. 37 (2002) 681-688.
- DE, H. e ZIDOVETZKI, R. (1988) - Study of the interactions of retinoids with phospholipids bilayers. Biochimica et Biophysica Acta. 946 (1988) 244-252.

-
- DEBIER, C., POTTIER, J., GOFFE, C. e LARONDELLE, Y. (2005) - Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrums and milk. Livestock Production Science. 98 (2005) 135-147.
- DEPARTMENT OF HEALTH (1994) - Nutritional Aspects of Cardiovascular disease: Report on Health and Social Subjects. nº 46.(1994) HMSO, London.
- DHIMAN, T.R., ANAND, G.R., SATTER, L.D. e PARIZA, M.W. (1999) - Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. Journal Dairy Science. 82 (1999) 2146-2156.
- DHIMAN, T. R., NAM, S. e URE, A. (2005) - Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 45 (2005) 463-482.
- DIETSCHY, J.M. (1998) - Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. Journal of Nutrition. 128 (1998) 444S-448S.
- DIETSCHY, J.M., WOOLLET, L.A. e SPADY, D.K. (1993) - The interaction of dietary cholesterol and specific fatty acid in the regulation of LDL receptor activity and plasma LDL - cholesterol concentrations. Annals of the New York Academy Science. 676 (1993) 11-26.
- DUMAIS, R., BLAIS J.A. e CONRAD, F. (1992) - Capitulo IX- queso In: Ciencia y tecnología de la leche. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. 1992. p. 249
- EYNARD, A.R. (1997) - Does chronic essential fatty acid deficiencies (EFAD) constitute a pro-tumorigenic condition? Medical Hypotheses. 48 (1997) 55-62.
- EYNARD, A.R. e LOPES, C.B. (2003) - Conjugated linoleic acid (CLA) versus saturated fats/cholesterol: Their proportion in fatty and lean meats may affect the risk of developing colon cancer. Lipids in Health and Disease. 2 (2003), 1-5.
- FERREIRA, F.A.G. (1983) - Nutrição Humana. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 1983. 69-78.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (1994) - Fats and Oils in Human Nutrition Divisão de publicações FAO, Roma, Itália. ISBN 92-5-10. (1994) 3621-3627.
- FOOD STANDARDS AGENCY INFORMATION BULLETIN ON METHODS OF ANALYSIS AND SAMPLING FOR FOODSTUFFS. (2001) - Food Standards Agency. 1 (2001) 25-26.
- FRITSCHÉ, J. e STEINHART, H. (1997) - *Trans* fatty acid content in German margarines Lipid-Fett. 99 (1997) 214-217.
- FRITSCHÉ, J. e STEINHART; H. (1998a) - Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. Zeitschrift für Lebensmittel – Untersuchung und Forschung. 206 (1998) 77-82.
- FRITSCHÉ, J. e STEINHART, H. (1998) - Analysis, occurrence, and physiological properties of *trans* fatty acid (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA): A review. Lipid – Fett. 100 (1998) 190-210.

-
- FRITSCHÉ, J., RICKERT, R., STEINHART, H., YURAWECZ, M.P., MOSSOBA, M.M., SEHAT, N., ROACH, J.A.G., KRAMER, J.K.G. e KU, Y. (1999) - Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods, and dietary intake. Lipid-Fett. 101 (1999) S272-276.
- FRITSCHÉ, J., FRITSCHÉ, S., SOLOMON, M. B. e MOSSOBA, M. (2000) - Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef. European Journal of Lipid Science and Technology. 102 (2000) 667-672.
- FRITSCHÉ, S., RUMSEY, T., YURAMECZ, M., KU, Y. e FRITSCHÉ, J. (2001) - Influence of growth promoting implants on fatty acid composition including conjugated linoleic isomers in beef fat. European Food Research and Technology. 212 (2001) 621-629.
- GAMBELLI, I., MANZI, P., PANFILI, G., VIVANTI, V. e PIZZOFERRATO, I. (1999) - Constituents of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. Food Chemistry. 66 (1999) 353-358.
- GEAY, Y., BAUCHART, D., HOCQUETTE, J.F. e CULIOLI, J. (2001) - Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. Reproduction Nutrition Development. 41(2001) 1-26.
- GERMAN, B.J. e DILLARD, J.C. (2006) - Composition, structure and absorption of milk lipids: A source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 46 (2006) 57-92.
- GREGORY, J.F. (1996) - In: Food Chemistry, 76 New York: O.R. Fennema (Ed.) Marcel Decker. (1996) p. 531.
- GRIFFIN, B. A. (1999) - Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. The Proceeding of the Nutrition Society. 58 (1999) 163-169.
- GRIINARI, J.M., CHOUINARD, P.Y. e BAUMAN, D.E. (1997) - *Trans* fatty acid hypothesis of milk fat depression revised. Proceedings of the Cornell nutrition conference for feed manufacturers. Cornell University, Ithaca, N. Y. 1997. p. 208-216.
- GUERREIRO, V. R. M. T. (2004) - Lípidos bioativos, benéficos e prejudiciais para a saúde humana, presentes em leites comerciais. Tese de mestrado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, Lisboa.
- GURR, M. (1996) - Fats. In: Human nutrition and dietetics. London: Churchill Livingstone. Garrow, J.S., James, W.P.T. (Eds.) 1996. p. 77-102.
- HA, Y.L., GRIMM, N.K. e PARIZA, M.W. (1987) - Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis. 8 (1987) 1881-1887.
- HA, Y.L., GRIMM, N.K. e PARIZA, M.W. (1989) - Newly recognised anticarcinogenic fatty acid: Identification and quantification in natural and processed cheeses. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 37 (1989) 75-81.

- HA, Y.L., STORKSON, J. e PARIZA, M.W. (1990) - Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. Cancer Research. 37 (1990) 75-81.
- HALPERN, J.M. (1997) – Capítulo 22 – Lípidos: Definição, classificação e constituintes. *In: Bioquímica*. Lidel Edições Técnicas. 1997. p. 212- 217.
- HAUSWIRTH, C., MARTIN, R.L.S. e BEER, H.J. (2004) - High n-3 fatty acid content in Alpine Cheese the basis for an Alpine Paradox. Circulation American Heart Association. (2004) 103-107.
- HASLER, C.M. (1998) - Functional foods: their role disease prevention and health promotion. Food Technology. 52 (1998) 57-62.
- HOLMAN, R.T. e MAHFOUZ, M.M. (1981) - *Cis* and *trans*- octadecenoic acids as precursors of polyunsaturated fatty acids. Progress Lipid Research. 20 (1981) 151-156.
- HOOD, R.L. (1996) - Tocotrienols and cholesterol metabolism. *In: Nutrition, lipids, health, and disease*. Champaign, IL: AOCS Press. Ong. A.S.H., Niki E., Packer L. (Eds.). 1996. p.96-103.
- HU, X., JANDACEK, R.J. e WHITE, W.S. (2000) - Intestinal absorption of beta-carotene ingested with a meal rich in sunflower oil beef tallow: Postprandial appearance in triacylglycerol-rich lipoproteins in women. American Journal of Clinical Nutrition. 71 (2000) 1170-1180.
- HUGHES, P.E., HUNTER, W.J. e TOVE, S.B. (1982) - Biohydrogenation of unsaturated fatty acids: Purification and properties of cis9, trans11-octadecadienoate reductase. Journal of Biological Chemistry. 257 (1982) 3643-3649.
- HULSHOF, P., ROEKEL-JANSEN, T., BOVENKAMP, P. e WEST, C. (2006) - Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in the Netherlands. Journal of Food Composition and Analysis. 19 (2006) 67-75.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (2006) - Consumos diários. *In: Balança Alimentar Portuguesa 1990-2003*. Lisboa. Instituto Nacional de estatística (2006). (Versão online <http://www.ine.pt>.)
- INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (INSA) (2006) - Tabela da Composição de alimentos. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição. Lisboa ISBN: 972-8643-19-5. 2006. p. 22-24.
- IP, C., CHIN, S.F., SCIMECA, J.A. e PARIZA, M.W. (1991) - Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivate of linoleic acid. Cancer Research. 51 (1991) 6118-6124.
- IP, C., SINGH, M., THOMPSON, H.J. e SCIMECA, J.A. (1994) - Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. Cancer Research. 54 (1994) 1212-1215.
- JAHREIS, G., FRISTSCHKE, J. e STEINHART, H. (1996) - Monthly variations of milk composition with special regards to fatty acids depending on season and farm management systems – Conventional versus ecological. Lipid – Fett. 98 (1996) 356-359.

- JAHREIS, G., FRISTSCHE, J. e KRAFT, J. (1999) - Species-dependent, seasonal, and dietary variation of conjugated linoleic acid in milk. *In: Advances in conjugated linoleic acid research.* Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W. e Nelson, C.J. Eds. AOCS Press, Champaign. IL. Vol. 1 1999. p. 215-225.
- JAHREIS, G. e KRFAT, J. (2002) - Sources of conjugated linoleic acid in the human diet. Lipid Technology. 14 (2002) 295-350.
- JENSEN, R.G. e NEWBERG, D.S. (1995) - Bovine milk lipids. *In: Handbook of milk composition.* Jensen, R.G., Ed. Academic Press, San Diego, CA. 1995. p. 543-576.
- JENSEN, R.G. (2002) - The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. Journal of Dairy Science. 85 (2002) 285-350.
- KATSANIDIS, E. e ADDIS, D. (1999) - Novel HPLC Analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue. Free Radical Biology & Medicine. 27 (1999) 1137-1140.
- KELLY, M.L., KOLVER, E.S., BAUMAN, D.E., VAN AMBURGH, M. E. e MULLER, L.D. (1998) - Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. Journal of Dairy Science. 81 (1998) 1630-1636.
- KEPLER, C.R.K.P, HIRONS, J.J. e MCNEILL, O. (1966) - Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. Journal of Biological Chemistry. 241(1966) 1350-1354.
- KEPLER, C.R., e TOVE, S.B. (1967) - Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. 3. Purification and properties of a linoleate Δ^{12} - cis, Δ^{11} - trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. Journal of Biological Chemistry. 242 (1967) 5686-5692.
- KHOSLA, P., HAJIRI, T., PRONCZUCK, A. e HAYES, K. C. (1997) - Replacing dietary palmitic acid with elaidic acid (t-C18:1 Δ - 9) depress HDL and increases CETP activity in Cebus monkeys. Journal of Nutrition. 127 (1997) 531S-532S.
- KRAFT, J., COLLOMB, M., MOCKEL, P., SIEBER, R. e JAHREIS, G. (2003) - Differences in CLA isomers distribution of cow`s milk lipids. Lipids. 38 (2003) 657-664.
- KRAMER, J.K., PARODI, P.W., JENSEN, R.G., MOSSOBA, M.M., YURAWECZ. M.P. e ADOLF, R.O. (1998) - Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. Lipids. 33 (1998) 835.
- KRITCHEVSKI, D. (1999) - Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis. Information. 10 (1999) S42.
- KROMHOUT, D., MENOTTI, A. e BLOEMBERG, B. (1995) - Dietary saturated and *trans* fatty acids and cholesterol and 25 - year mortality from coronary heart disease: The Seven Countries Study. Preventive Medicine. 24 (1995) 308-31
- KROMHOUT, D. (2001) - Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. Public Health Nutrition. 4(2B) (2001) 441-457.

- LAVILLONNIERE, F., MARTIN, J.C., BOUGNOUX, P. e SÉBÉDIO, J.L. (1998) - Analysis of conjugated linoleic acid isomers and content in French cheeses. Journal of the American Oil Chemists Society. 75 (1998) 343-352.
- LEDOUX, M., CHARDIGNY, J. M., DARBOIS, M., SOUSTRE, Y., SÉBÉDIO, J. L. e LALOUX, L. (2005) - Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. Journal of Food Composition and Analysis. 18 (2005) 409-425.
- LEE, K.N., KRITCHEVSKY, D. e PARIZA, M.W. (1994) - Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis. 108 (1994) 19-25.
- LEITE, J.T.T.T., LIMA, E.M.C. e BAPTISTA, J.A.B. (2006) - Determinação do teor de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite micaelense. Brochura Leite I + D. ANIL. ([http:// www.anil.pt](http://www.anil.pt).)
- LI, Y. e WATKINS, B.A. (1998) - Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. Lipids. 33 (1998) 417-425.
- LIEW, C., SCHUT, H.A., CHIN, S.F., PARIZA, M.W. e DASHWOOD, R.H. (1995) - Protection of conjugated linoleic acid against 2-amino-3-methylimidazol (5,5-f) quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. Carcinogenesis. 16 (1995) 3037-3043.
- LIN, H., BOYLSTON, T.D., CHANG, M.J., LUEDECKE, L.O. e SHULTZ, T.D. (1995) - Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. Journal of Dairy Science. 78 (1995) 2358-2365.
- LIU, K.L. e BELURY, M.A. (1998) - Conjugated linoleic acid reduces arachidonic acid content and PGE2. The dietary and nutritional survey of British adults - further analysis. London, HMSO.
- LIU, Q., SCHELLER, K.K. e SCHAEFFER, D.M. (1996) - Technical note: A simplified procedure for vitamin E determination. Journal of Animal Science. 74 (1996) 2406-2410.
- LIVREA, M.A., VALENZA, M., BONGIORNO, A., CACCIO, M. e TESORIERE, L. (1992) - Antioxidant activity of *all-trans* and *cis*-isomers of natural retinoids towards lipid peroxidation induced in retinal microsomas. Free Radical Research Communication. 16 (1992) 1228 (abstr.)
- LOCK, A.L. e GARNSWORTHY, P.C. (2003) - Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. Livestock Production Science. 79 (2003) 47-59.
- LUNA P., FUENTE, A.M. e JUÁREZ, M. (2005) - Conjugated linoleic acid in processed cheeses during the manufacturing stages. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53 (2005) 2690-2695.
- MA, D.W.L., WIERZBICKI, A.A., FIELD, C.J. e CLANDININ, M.T. (1999) - Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47 (1999) 1956-1960.

- MACGIBBON, A.K.H., VAN DER DOES, Y.E.H., FONG, B.Y., ROBINSON, N.P. e THOMSON, N.A. (2001) - Variations in the CLA content of New Zealand Milk. Australian Journal of Dairy Technology. 56 (2001) 158.
- MACHILIN, L.J. (1991) - Handbook of vitamins. 2ª Ed. Marcel Dekker. New York, 1991. p. 99-144.
- MARCHIOLI, R., SCHWEIGER, C., LEVANTESI, G., TAVAZZI, L. e VALAGUSSA, F. (2001) - Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: Epidemiology and clinical trial data. Lipids. 36 (2001) s53-s63.
- MARTINS, S., ALFAIA, C., RIBEIRO, V., GUERREIRO, T., LOPES, P., FONTES, C., CASTRO, M., SOVERAL, G. e PRATES, J. - (submetido) Contents of CLA isomers in ruminant-derived foods and estimation of their contribution for the daily intake in Portugal.
- MATHIAS, M.M. e DUPONT, J. (1979) - The relationship of dietary fats to prostaglandin biosynthesis. Lipids. 14 (1979) 247-252.
- MCNAMARA, D.J. (1990) - Relationship between blood and dietary cholesterol. Advances in Meat Research. 6 (1990) 63-87.
- MCNAMARA, D.J. (2000) - Dietary cholesterol and atherosclerosis. Biochimica et Biophysica Acta. 1529 (2000) 310-320.
- MILLER, C.C., PARK, Y., PARIZA, M.W. e COOK, M.E. (1994) - Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. Biochemical Biophysical Research Communications. 198 (1994) 1107-1112.
- MOLKENTIN, J. (2000) - Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substance in bovine milk lipids. British Journal of Nutrition. 84 (2000) Suppl.1, S47-S53.
- MOREIRA, A. FONSECA, J., RODRIGUES, J. e VAZ, M. (2000) - Ácidos gordos poli-insaturados ω -3. Que papel na imunomodulação? Revista Portuguesa de Alimentação Humana. 63 (2000) 12-28.
- MOSLEY, E.E., POWELL, G.L., RILEY, M.B. e JENKINS, T.C. (2002) - Microbial biohydrogenation of oleic acid to *trans* isomers in vitro. Journal of Lipid Research. 43 (2002) 290-296.
- NAPOLI, J.L. e RACE, K.R. (1988) - Biogenesis of retinoic acid from β -carotene: Differences between metabolism of β -carotene and retinal. Journal of Biological Chemistry. 263 (1988) 17372-17377.
- NESTEL, P., CLIFTON, P. e NOAKES, M. (1994) - Effects of increasing dietary palmitoleic acid compared with palmitic and oleic acids on plasma lipids of hypercholesterolemic men. Journal of Lipid Research. 35 (1994) 656-662.
- NP 2283 (1984), Manteiga: Determinação dos teores de água, de resíduo seco isento de matéria gorda e de matéria gorda. Lisboa. Direcção Geral da Qualidade, 1984. 6 p.

-
- NP EN ISO 5508 (1990) - Gorduras e óleos de origem animal e vegetal: Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos.
- OLSON, J.A. (1989) - Pro-vitamina A function of carotenoids: the conversion of β -carotene into vitamin A. Journal of Nutrition. 119 (1989) 105-108.
- PACKER, L. (1991) - Protective role of vitamin in biological systems. American Journal Nutrition. 53 (1991) 1050S-1055S.
- PANFILI, G., MANZI, P. e PIZZOFERRATO. (1994) - High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of tocopherols, carotenes and retinol and its geometric isomers in Italian cheeses. Analyst. 119 (1994) 1161-1165.
- PAPAS, A.M. (1999) - Antioxidant status, diet, nutrition and health. Boca Raton, FL. CRC Press.
- PARODI, P.W. (1977) - Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. Journal of Dairy Science. 60 (1977) 1550-1553.
- PARIZA, M.W. e HARGRAVES, W.A. (1985) - A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumours by 7, 12- dimethylbenz (a) anthracene. Carcinogenesis. 6 (1985) 591-593.
- PARODI, P.W. (1994) - Conjugated linoleic acids: An anticarcinogenic fatty acid present milk fat. Australian Journal of Dairy Technology. 49 (1994) 93-97.
- PARIZA, M.W., PARK, Y. e COOK, M.E. (2000) - Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: Evidence and speculation. Experimental Biology and Medicine. 223 (2000) 8-13.
- PARIZA, M.W., PARK, Y. e COOK, M.E. (2001) - The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Progress in Lipid Research. 40 (2001) 283-298.
- PFALZGRAF, A., TIMM, M. e STEINHART, H. (1994) - Gehalte von *trans* – Fettsäuren in Lebensmitteln, Zeitschrift Ernährungswissenschaft. 33 (1994) 24-43.
- PFEUFFER, M. e SCHREZENMEIR, J. (2000) - Bioactive substance in milk with properties decreasing risk of cardiovascular disease. British Journal of Nutrition. Supp II (2000) S155-S159.
- PIIRONEN, V., TOIVO, J. e LAMPI, A. M. (2002) - New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. Journal of Food Composition and Analysis. 15 (2002) 705-713.
- PIPEROVA, L.S., SAMPUGNA, J., TETER, B.B., KALSCHUR, K.F., YURAWECZ, M.P. e KU, Y. (2002) - Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9-containing CLA in lactating dairy cows. Journal of Nutrition. 132 (2002) 1235-1241.
- POLLARD, M.R., GUNSTONE, F.D., JAMES, A.T. e MORRIS, L.J. (1980) - Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. Lipids. 15 (1980) 306-314.

- PRATES, J.A. e MATEUS, C.M.R.P. (2002) - Componentes com actividade fisiológica dos alimentos de origem animal. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. 97 (2002) 541, 3-12.
- PRECHT, D. e MOLKENTIN. (1997) - Effect of feeding on conjugated cis 9, trans Δ 11-octadecadienoic acid and other isomers of linoleic acid in bovine milk fats. Nahrung. 41 (1997) 330-335.
- PRECHT, D. e MOLKENTIN, J. (1999) - Analysis and seasonal variation of conjugated linoleic acid and further cis-trans-isomers of C18:1 and C18:2 in bovine milk fat. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 51 (1999) 63-78.
- PRECHT, D. e MOLKENTIN, J. (2000) - Frequency distribution of conjugated linoleic acid and trans fatty acid content in European bovine milk fats. Milchwissenschaft. 55 (2000) 687-691.
- PRIOR, W.A (2000) - Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. Free Radical Biology & Medicine. 28 (2000) 141-164.
- RIBEIRO, S. C. J. (2004) - Caracterização da qualidade nutricional da fracção lipídica de 3 queijos de ovelha do Sul de Portugal com denominação de origem protegida: Azeitão DOP, Nisa DOP e Évora DOP. Tese de mestrado. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.
- RICKERT, R., STEINHART, H., FRISTCHE, J., SEHAT, N. YURAWECZ, M.P., MOSSOBA, M.M., ROACH, J.A.G., EULITZ, K., KU, Y. e KRAMER, J.K. G. (1999) - Enhanced resolution of conjugated linoleic acid isomers by tandem-column silver-ion high performance liquid chromatography. Journal of High Resolution Chromatography. 22 (1999) 144-148.
- RIEL, R.R. (1963) - Physico-chemical characteristics of Canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. Journal of Dairy Science. 46 (1963) 102-106.
- SANTOS-SILVA, J., BESSA, R.J.B. e SANTOS-SILVA, F. (2002) - Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. Livestock Production Science. 77 (2002) (2-3), 187-194.
- SCHONBERG, S. e KROKAN, H.E. (1995) - The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cell lines is in part due increased lipid peroxidation. Anticancer Research. 15 (1995) 1241-1246.
- SEÇKIN, K., GURSOY, O., KINIK, O. e AKBULUT, N. (2005) - Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. LWT. 38 (2005) 909-915.
- SEHAT, N., KRAMER, J.K.G., MOSSOBA, M.M., YURAWECZ, M.P., ROACH, J.A.G., EULITZ, K., MOREHOUSE, K.M. e KU, Y. (1998) - Identification of conjugated linoleic 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 (1998) 963-971.
- SESSLER, A.M. e NTAMBI, J.M. (1998) - Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. Journal of Nutrition. 128 (1998) 923-926.

-
- SHANTHA, N.C., DECKER, E.A. e USTUNOL, Z. (1992) - Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. Journal of the American Oil Chemists Society. 69 (1992) 425-428.
- SHANTHA, N.C., RAM, L.N., O'LEARY, J., HICKS, C.L. e DECKER, E.A. (1995) - Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. Journal of Food Science. 60 (1995) 695-697.
- SHUTZ, T.D., CHEW, B.P. e SEAMAN; W.R. (1992a) - Differential stimulation and inhibitory responses of human MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid and conjugated linoleic acid in culture. Anticancer Research. 12 (1992) 2143-2145.
- SHUTZ, T.D., CHEW, B.P., SEAMAN; W.R. e LUEDECKE, L.O. (1992b) - Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. Cancer Letters. 63 (1992) 125-133.
- SIES, H., STAHL, W. e SUNDQUIST, A.R. (1992) - Antioxidant functions of vitamins: Vitamin E and C, beta-carotene, and other carotenoids. Annals of the New York Academy of Sciences. 669 (1992) 7-20.
- SIEBER, R., COLLOMB, M., AESCHLIMANN, A., JELEN, P. e EYER, H. (2004) - Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. International Dairy Journal. 14 (2004) 1-15.
- SIMOPOULOS, A.P. (2000) - Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA - Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. Poultry Science. 79 (2000) 961-970.
- SIMOPOULOS, A.P. (2002) - The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomedicine & Pharmacotherapy. 56 (2002) 365-379.
- SMITH, D.R., KNABE, D.A., CROSS, H.R. e SMITH, S.B. (1996) - A diet containing myristoleic plus palmitoleic acids elevates plasma cholesterol in young growing swine. Lipids. 31 (1996) 849-858.
- SPECTOR, A.A. e YOREK, M.A. (1985) - Membrane lipid composition and cellular function. Journal of Lipid Research. 26 (1985) 1015-1035.
- SUGANO, M., TSUJITA, A., YAMASAKI, M., NOGUCHI, M. e YAMADA, K. (1998) - Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. Lipids. 33 (1998) 521-527.
- SUGANO, M., TSUJITA, A., YAMASAKI, M., YAMADA, K., IKEDA, I. e KRITCHEVSKY, D. (1997) - Lymphatic recovery tissue distribution, and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats. Journal of Nutritional Biochemistry. 8 (1997) 38-43.
- THAKUR, M.L. e SRIVASTAVA, U.S. (1996) - Vitamin – E metabolism and its application. Nutrition Research. 16 (1996) 1767-1809.

-
- THOMPSON, H., ZHU, Z., BANNI, S., DARCY, K., LOFTUS, T. e IP, C. (1997) - Morphological and biochemical status of mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid: Implication for a reduction in mammary cancer risk. Cancer Research. 57 (1997) 5067-5072.
- TRABER, M.G., COHN, W. e MULLER, D.P.R. (1992) - Absorption, transport and delivery to tissues. *In: Vitamin E in health and disease*. Packer, L., Fuchs, J. (Eds), New York, Marcel Dekker, 1992. p. 35-53.
- TROISI, R., WILLET, W.C. e WEISS S.T. (1992) - *Trans*-fatty intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. American Journal of Clinical Nutrition. 56 (1992) 1019-1024.
- UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. (2002) - USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 15. Nutrient Data Laboratory Home Page.
- ULBRICHT, T.L.V. e SOUTHGATE, D.A.T. (1991) - Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet. 338 (1991) 985-992.
- VAANANEN, P.S., OLLILAINEN, V., MATTILA, P., LEHIKONEN, K., SALMELA-MOLSA, E. e PIIRONEN, V. (2000) - Simultaneous HPLC analysis of fat-soluble vitamins in selected animal products after small-scale extraction. Food Chemistry. 71 (2000) 535-543.
- VANDEN HEUVEL, J.P. (1999) - Peroxisome proliferators-activated receptors: a critical link among fatty acids, gene expression and a carcinogenesis. Journal of Nutrition. 129 (1999) 575S-580S.
- WAHLE, K.W.J. (1983) - Fatty acid modification and membrane lipids. Proceeding of the Nutrition Society. 42 (1983) 273-287.
- WATKINS, B.A. e LI, Y. (2001) - Chapter 27: Conjugated linoleic acid: The present state of knowledge. *In: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*. Robert E.C. Wildman (ed), NY, ISBN: 0-8493-8734-5. 2001. p. 445-476.
- WATTS, G.F., JACKSON, P., BURKE, V. e LEWIS, B. (1996) - Dietary fatty acids and progression of coronary artery disease in men. American Journal of Clinical Nutrition. 64 (1996) 202-209.
- WEGGEMANS, R.M., ZOCC, P.L., URGENT, R. e KATAN, M.B. (1999) - Differences between men and women in the response of serum cholesterol to dietary changes. European Journal of Clinical Investigation. 29 (1999) 827-834.
- WILLET, W.C., STAMPFER, M.J., MANSON, J.E., COLDITZ, G.A., SPEIZER, F.E. e ROSNER, B.A. (1993) - Intake of *trans* fatty acid and risk of coronary disease among women. Lancet. 341 (1993) 581-585.
- WHITLOCK, L.A., SCHINGOETHE, D.J. e HIPPEN, A.R. (2002) - Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows than when fed separately. Journal of Dairy Science. 85 (2002) 234-243.
- WOLFF, R.L. (1994) - Contribution of *trans*-18:1 acid from dairy fat to European diets. Journal of the American Oil Chemists Society. 71 (1994) 277-283.

-
- WOLFF, R.L. (1995) - Content and distribution of *trans*-18:1 acids in ruminant milk and meats fats. Their importance in European diets and their effect on human milk. Journal of the American Oil Chemists Society. 72 (1995) 259-272.
 - WONG, M.W., CHEW, B.P., WONG, T.S., HOSICK, H.L., BOYLSTON, T.D. e SHULTZ, T.D. (1997) - Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. Anticancer Research. 17 (1997) 987-993.
 - WOOD, J.D. e ENSER, M. (1997) - Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. British Journal of Nutrition. Suppl. 1 (1997) S49-S60.
 - WORLD HEALTH ORGANISATION STUDY GROUP (1990) - Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. *In: WHO Technical Report Ser. 797*
 - YANG, A., BREWSTER, M.J., LANARI, M.G. e TUME, R.K. (2002) - Effect of vitamin E supplementation on alpha-tocopherol and beta-carotene concentrations in tissues from pasture and grain-fed cattle. Meat Science. 60 (2002) 35-40.
 - YURAWECZ, M., ROACH, J.A.G., SEHAT, N., MOSSOBA, M.M., KRAMER, J.K.G., FRITSCHKE, J., STEINHART, H. e KU, Y. (1998) - A new conjugated linoleic acid isomer, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. Lipids. 33 (1998) 803-809.