

Ana Cristina de Sousa Pereira

## HÁBITOS DE CONSUMO DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS: ESTUDO PRELIMINAR

### **Dissertação**

Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

Março, 2013



Ana Cristina de Sousa Pereira

## HÁBITOS DE CONSUMO DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS: ESTUDO PRELIMINAR

### **Dissertação**

Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

Trabalho efetuado sob orientação de

Prof. Doutora Edite Maria Relvas Neves Teixeira de Lemos

Trabalho co-orientado por

Prof. Doutora Maria João Cunha Silva Reis Lima

Prof. Doutora Maria Conceição Gonçalves Barreto Oliveira Castilho

Março, 2013



## I. AGRADECIMENTOS

Este trabalho não é apenas o resultado do meu empenho individual, mas sim de um conjunto de esforços que tornaram possível a sua concretização. Desta forma, manifesto a minha gratidão a todos os que estiveram presentes nos momentos mais difíceis e me ajudaram a superá-los de alguma forma.

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora Prof. Doutora Edite Teixeira Lemos pela disponibilidade, pela forma como me orientou, pelo entusiasmo e motivação que me deu.

Às minhas co-orientadoras Doutora Maria João Lima e Doutora Conceição Castilho agradeço também a participação e motivação para a realização deste trabalho.

Ao Doutor Jorge Oliveira pelos seus ensinamentos e a permanente disponibilidade para ajudar e esclarecer a parte estatística deste trabalho.

Ao Jumbo de Viseu e Pingo Doce de Tondela pela disponibilidade apresentada para a utilização das suas instalações para realização de inquéritos.

E finalmente,

Aos meus amigos

e

à minha família pelo apoio nas alturas mais difíceis.

## II. ÍNDICE

I.	AGRADECIMENTOS.....	III
II.	ÍNDICE .....	IV
III.	ÍNDICE DE FIGURAS .....	VI
IV.	ÍNDICE DE TABELAS .....	VII
V.	RESUMO E PALVRAS-CHAVE .....	VIII
VI.	ABSTRACT AND KEYWORDS.....	X
VII.	INTRODUÇÃO .....	12
VIII.	OBJETIVOS.....	15
	PARTE I FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
	CAPITULO 1 – ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	18
	CAPITULO 2 – FITOESTERÓIS: DEFINIÇÃO, ESTRUTURA QUÍMICA, FONTES E MECANISMOS DE AÇÃO.....	26
	CAPITULO 3 – FITOESTERÓIS ALIMNETOS FUNCIONAIS: SEU PAPEL NA PRESERVAÇÃO E ATRASO DA DOENÇA CARDIOVASCULAR.....	32
	CAPITULO 4 – MECANISMO DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS .....	37
	CAPITULO 5 – ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS, DOSE RECOMENDADA E MOMENTO DE ADMINISTRAÇÃO .....	43
	CAPITULO 6 – SEGURANÇA E EFICÁCIA DOS FITOESTERÓIS.....	46
	CAPITULO 7 – ASPETOS SOCIAIS E ECONÓMICOS. ACESSO E DIREITO Á ESCOLHA DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS-.....	57
	PARTE II ESTUDO EXPERIMENTAL .....	64
	CAPITULO 1 – MATERIAL E MÉTODOS .....	65
	CAPITULO 2 – RESULTADOS.....	67
	CAPITULO 3 – DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....	78

CAPITULO 4 – CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	81
PARTE III BIBLIOGRAFIA E ANEXOS .....	83
IX. BIBLIOGRAFIA .....	84
X. ANEXOS .....	97

### III. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Comparação da estrutura do colesterol, e dos principais esteróis vegetais .....	26
Figura 2: Esquematização dos conselhos para uma alimentação saudável .....	35
Figura 3: Absorção do colesterol a nível intestinal e efeitos dos fitoesteróis .....	40
Figura 4: Caracterização global, por género da população inquirida, para o iogurte (A) e para a margarina (B).....	67
Figura 5: Distribuição dos inquiridos por idade e por género relativamente ao iogurte (A) e à margarina (B).....	68
Figura 6: Motivos escolhidos para o não consumo de iogurte (A) e para o não consumo de margarina (B) de acordo com o género .....	70
Figura 7: Causas para não consumo do iogurte (A) e da margarina (B) consoante os grupos etários .....	71
Figura 8: Influência dos níveis de colesterol por género no iogurte (A) e na margarina (B) .....	73
Figura 9: Influência dos níveis de colesterol por classes de idades no iogurte (A) e na margarina (B).....	73
Figura 10: Facilidades dos consumidores encontrarem o iogurte (A) e a margarina (B) .....	74
Figura 11: Preferência de sabor por género no iogurte .....	75
Figura 12: Frequência de consumo do iogurte (A) e da margarina (B).....	75
Figura 13: Consumo de medicamentos no iogurte (A) e na margarina (B) .....	76
Figura 14: Consumo de medicamentos no iogurte (A) e na margarina (B) por classes de idades .....	76
Figura 15: Efeito no colesterol nos consumidores de iogurte (A) e margarina (B) .....	77
Figura 16: Efeito no colesterol dos consumidores de iogurte (A) e de margarina (B) por género .....	77

#### **IV. ÍNDICE DE TABELAS**

Tabela 1: Conteúdo de esteróis vegetais em alguns alimentos (valores médios por 100 g peso edível) Adaptado de (Madureira, 2008) .....	28
Tabela 2: Recomendações da máxima terapêutica dietética para a redução do c-LDL, segundo o ATP III (2002) .....	34
Tabela 3: Hábitos de consumo de iogurtes e margarinas por género .....	69
Tabela 4: Consumo dos produtos por grupos etários.....	70
Tabela 5: Informação sobre colesterol elevado nos não consumidores inquiridos .....	72
Tabela 6: Informação sobre colesterol elevado nos consumidores inquiridos....	73

## V. RESUMO E PALVRAS-CHAVE

O interesse crescente pelos alimentos enriquecidos com esteróis vegetais deve-se ao fato de que estes diminuem as concentrações sanguíneas de colesterol sem efeitos adversos colaterais. Neste contexto, o enriquecimento de alimentos com esteróis vegetais poderá constituir uma ajuda importante na proteção da população contra a aterosclerose e doenças cardiovasculares. As informações sobre o comportamento alimentar são praticamente inexistentes em Portugal, pelo que se torna indispensável perceber a importância dos produtos funcionais nos hábitos de consumo. O presente trabalho pretendeu avaliar os hábitos de consumo de uma população de Viseu relativamente aos leites fermentados com baixo teor de gordura enriquecidos com esteróis vegetais e margarinas enriquecidas com fitoesteróis.

Para cada produto foram feitos 577 inquéritos a indivíduos escolhidos aleatoriamente numa população que efetuava as suas compras semanais em vários hipermercados da cidade de Viseu. Inquiriu-se sobre vários parâmetros respeitantes a leites fermentados com baixo teor de gordura enriquecidos com esteróis vegetais e margarinas enriquecidas com fitoesteróis.

Os resultados preliminares obtidos mostraram que, para a maioria dos inquiridos a compra dos alimentos era condicionada pelo seu custo elevado. Os indivíduos que afirmaram consumir os produtos eram maioritariamente mulheres com idade entre os 40≤65 anos. Relativamente aos parâmetros avaliados não se observam diferenças estatisticamente significativas entre ambos os sexos. Estes inquiridos ingeriam maioritariamente o alimento 1vez/dia (leites fermentados, margarina (fatia/dia)) fazendo esta escolha por apresentarem colesterol elevado ou por lhes atribuírem efeitos preventivos para a doença. Para além disso quer os que estavam sob terapêutica antilipidémica quer os que não estavam declararam observar efeitos positivos na hipercolesterolemia.

Parece evidente que são as preocupações com a saúde que influenciam a aquisição dos leites fermentados com baixo teor de gordura e margarinas enriquecidos com fitoesteróis. As declarações feitas sobre os níveis de

colesterol, ingestão declarada e efeitos observados parecem sugerir uma ingestão com quantidade e frequência suficiente. Também a faixa etária que mais consome parece estar de acordo com as recomendações. A elevada taxa de não consumidores encontrada no estudo e que alega não necessidade e descrença de efeitos mesmo quando tal não acontece pode atribuir-se à escassez de informação nos rótulos e/ou custo acrescido do produto. Esclarecer sobre a importância da inclusão destes produtos na dieta sozinhos ou como coadjuvantes de terapêutica instituída poderá ser uma forma de conseguir o equilíbrio na gestão da hipercolesterolemia.

**Palavras-chave:** Alimentos funcionais, fitoesteróis, esteróis vegetais, colesterol, antilipídicos, hábitos de consumo.

## VI. ABSTRACT AND KEYWORDS

The increasing interest in plant sterol enriched foods is due to the fact that they reduce blood cholesterol concentrations without adverse side effects. In this context, enriched foods with phytosterols may be helpful in protecting the population against atherosclerosis and cardiovascular diseases. Information on feeding behavior is practically unknown in Portugal, therefore it is essential to understand the importance of functional products in the consumption habits of the Portuguese population. The aim of the present work is to evaluate in a population of Viseu, Portugal, the consumption habits of two products enriched with phytosterols: low-fat fermented milk and margarines.

For each product 577 inquiries were made. The sample was randomly selected in a population shopping in hypermarkets at Viseu. The individuals were inquired about their habits of consumption regarding two products enriched with phytosterols: low-fat fermented milk and margarines.

The preliminary results have shown that women aged  $40 \leq 65$  years were the biggest consumers of these products. Most of the respondents who claimed to buy these products consumed them once a day (fermented milk products, margarine (slice / day)). Most of the consumers under antidyslipidemic therapeutics as well as those who were not have noticed positive effects on hypercholesterolemia.

It seems obvious that health concerns influence the purchase and consumption of phytosterol enriched low-fat fermented milk and margarines. The positive effects observed by the respondents on their cholesterol levels seem to suggest that the frequency and dose of ingestion are correct. However, the higher cost of these products when compared to its traditional versions as well as the lack of information in the label could be the main reasons for such a high number of non-consumers in the universe of the respondents.

Clarifying the importance of the inclusion of phytosterol enriched foods in the diet either on their own or as coadjuvants of antidyslipidemic therapeutics can be

helpful in managing hypercholesterolemia and preventing cardiovascular disease.

**Keywords:** Functional foods, phytosterols, plant sterols, cholesterol, lipid-lowering, consumption habits

## VII. INTRODUÇÃO

Os hábitos dietéticos como parte essencial do estilo de vida, desempenham um papel fundamental na saúde e na determinação de doenças crônicas prevalentes. A maioria dos estudos demonstra que a saúde, o bem-estar e a longevidade do ser humano estão estritamente relacionados com a diversidade bioquímica dos nutrientes contidos nos alimentos que consumimos. Existe um conhecimento crescente de novas propriedades dos nutrientes e dos alimentos como fonte de moléculas bioativas capazes de interagirem com genes, proteínas e distintas vias metabólicas. Isto é, especialmente importante em referência às doenças cardiovasculares, existindo cada vez mais evidências do potencial dos alimentos em prevenir e atrasar o seu aparecimento e manifestação. Esta evidência tem sido demonstrada por diversos autores utilizando alimentos e nutrientes específicos (verduras, frutas, frutos secos e pescado) e com padrões alimentares específicos (por exemplo através da dieta vegetariana e dieta mediterrânea) (Ros Rahola, 2007).

Nas últimas décadas surgiu um novo paradigma na nutrição, os alimentos que alegam proporcionar saúde e bem-estar e evitam o risco de adoecer, os chamados de “alimentos funcionais” e “nutracêuticos” (Lichtenstein et al., 2005). Os alimentos funcionais têm benefícios para a saúde, além das propriedades nutricionais básicas inerentes à sua composição química e são apresentados na forma de alimentos convencionais para serem consumidos na dieta usual (Souza, et al., 2003). O sistema cardiovascular constitui o alvo mais importante dos alimentos funcionais, entre os quais se destacam os alimentos enriquecidos com esteróis vegetais (fitoesteróis) os quais, dispõem de um corpo de evidências científicas abundante e consistente (Lichtenstein et al., 2005). A designação de nutracêutico é utilizada para descrever um componente com ação terapêutica ou nutricional, faz parte de um alimento, planta ou outra substância de origem natural que possa ter sido purificado ou concentrado, e que é utilizado para melhoria da saúde através da prevenção ou “tratamento” de uma doença. Este tipo de nutrientes isolados, suplementos dietéticos ou dietas compostas por alimentos geneticamente modificados,

produtos à base de ervas ou alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (Kwak e Jukes, 2001; Roberfroid et al., 2002).

Considerando que a doença vascular aterosclerótica constitui uma das principais causas de morbidade e mortalidade das sociedades desenvolvidas (Ros Rahola, 2007); o recurso a alimentos enriquecidos com fitoesteróis transforma-os em alimentos funcionais e surge como um recurso importante podendo ser utilizado em prevenção primária como coadjuvante dietético e também como coadjuvante da terapêutica dislipidemiante instituída. Com efeito, a sua utilização tem a vantagem de, não apresentar efeitos adversos colaterais, e terem um custo baixo e boa acessibilidade (Eussen et al, 2010).

Os fitoesteróis ou esteróis vegetais são componentes naturais das células vegetais que exercem diversas funções biológicas análogas às do colesterol nas células de mamíferos (especialmente nas membranas celulares) (Pires, 2006). Embora exista uma semelhança nas estruturas químicas entre o colesterol e os esteróis vegetais, há porém uma diferença considerável nas suas capacidades de absorção (Rozner e Garti, 2006). Os fitoesteróis apresentam capacidade para reduzirem a absorção de colesterol. Essa redução pode dever-se à diminuição da absorção intestinal do colesterol exógeno de origem alimentar e do endógeno de origem biliar. A nível intestinal, os esteróis vegetais não vão inibir diretamente a absorção de colesterol pelos enterócitos, mas competem com ele para a incorporação nas micelas mistas de sais biliares. Devido à sua hidrofobicidade superior à do colesterol, a afinidade dos esteróis vegetais pelas micelas é superior à do colesterol. Se o nível de colesterol nas micelas diminui então há uma redução da quantidade de colesterol absorvível solubilizado (Bernardes, 2010). Porém, os mecanismos pelos quais os fitoesteróis levam a uma diminuição do colesterol não estão totalmente esclarecidos, porque o próprio mecanismo de absorção do colesterol e das suas frações também o não está. As principais formas até aqui descritas relacionam-se, a nível intestinal, com a competição pela integração nas micelas e um aumento da expressão dos transportadores ABCG5/8, a nível celular como o aumento dos recetores LDL, no entanto, outros transportadores e outras proteínas poderão estar envolvidos e ainda desconhecidos (Rozner e Garti, 2006).

Não há relatos de efeitos adversos do consumo dos alimentos enriquecidos com fitoesteróis, embora não exista informação da segurança a longo prazo. De igual modo não existem evidências relativamente à possibilidade de aumentar o risco de aterosclerose ou mesmo de diminuir a absorção de vitaminas lipossolúveis, desde que ingeridos nas situações e quantidades recomendadas (máximo de 3 g/dia) e acompanhados de uma dieta rica em frutos e vegetais (Ros Rahola, 2007).

Neste contexto, e como já atrás referido os alimentos enriquecidos com fitoesteróis têm uma importante repercussão sanitária, constata-se porém que num país em que 70% da população apresenta níveis de colesterol elevado (> 190 mg/dL), em que o Estado gasta cada vez mais dinheiro no tratamento de doenças que podem ser prevenidas com alteração de hábitos de vida “não saudáveis” e com a introdução de complementos dietéticos há um total desconhecimento dos hábitos de consumo dos portugueses e da sua perceção face a estes produtos.

## VIII. OBJETIVOS

Nos últimos anos, as tendências mundiais da alimentação indicam um interesse crescente dos consumidores por determinados alimentos, que para além do seu valor nutritivo apresentam benefícios metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos em saúde. Estas variações dos padrões de alimentação levaram à criação de uma nova área de investigação na ciência dos alimentos e nutrição: os alimentos funcionais. Este fenómeno não é isolado e nem aconteceu por acaso, insere-se numa mudança de hábitos e costumes. O cidadão contemporâneo preocupa-se com uma vida saudável e com o bem-estar. Se ao longo da introdução referimos a importância dos alimentos enriquecidos em fitoesteróis a verdade é que não encontramos estudos feitos em Portugal sobre conhecimento, atitude e comportamento da população face a este tipo de produtos.

A presente dissertação teve como propósito a avaliação dos hábitos de consumo da população de Viseu relativamente aos seguintes alimentos funcionais: leites fermentados com baixo teor de gordura enriquecidos com esteróis vegetais e margarinas enriquecidas com fitoesteróis.

Definimos este objetivo tendo em conta o fato de estes produtos serem os mais conhecidos, ser uma área pouco explorada e também por considerarmos importante a compreensão do comportamento dos consumidores.

Propusemo-nos atingir este objetivo geral através dos seguintes objetivos específicos:

Caracterização da população que consome os produtos (leites magros fermentados enriquecidos com fitoesteróis (iogurte) e margarinas enriquecidas com fitoesteróis),

Conhecimento do motivo, da frequência, da preferência de sabor e da acessibilidade dos produtos,

Perceção do conhecimento por parte do consumidor dos níveis de colesterol total normal e elevado (> 190 mg/dL).

Informação aproximada (autorrelatada) do uso de fármacos dislipidémicos,

Autopercepção de eficácia dos produtos.

Consideramos o presente estudo organizado em quatro partes:

A Parte I é dedicada ao enquadramento teórico, sendo composta por **sete** capítulos; a Parte II evidencia o nosso contributo pessoal e está dividida em quatro capítulos. Consideramos ainda uma Parte III onde se apresentam as principais obras consultadas na elaboração desta dissertação e também os anexos onde constam os inquéritos utilizada.

A Parte I, incidirá sobre a fundamentação teórica onde se abordarão temas como os alimentos funcionais, se definem os esteróis e suas principais fontes, sua importância, mecanismos de ação, efeitos e toxicidade.

Na Parte II, são referidas as variáveis consideradas no estudo, são apresentados dos instrumentos utilizados, as características da amostra, os métodos de análise estatística utilizados. A apresentação e análise dos resultados são o capítulo II e ainda a discussão dos mesmos, constituem o capítulo III. No capítulo IV III e final serão apresentadas algumas conclusões e sugestões.

***PARTE I***

***FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA***

## CAPITULO 1

### ALIMENTOS FUNCIONAIS

---

O conceito de que o consumo de alimentos pode trazer benefícios para a saúde é bastante antigo e começou com Hipócrates há 2500 anos. Mais recentemente, nos anos oitenta do século passado, este conceito foi recuperado no Japão onde, tal como noutros países Asiáticos, o consumo de certo tipo de alimentos aos quais se associavam benefícios terapêuticos permitiu a criação de um mercado de alimentos diferenciado e cujo consumo tem sido crescente. A partir da segunda metade do século vinte, mais precisamente no fim dos anos sessenta, também nas sociedades ocidentais se começou a dar atenção aos benefícios que certos alimentos poderiam trazer para a saúde com o desenvolvimento pela Unilever das margarinas Flora e Becel, ricas em ácidos gordos polinsaturados e destinadas aos doentes hipercolesterolémicos (Weststrade *et al.*, 2002). Antes, no início do século vinte, outras tentativas de comercialização de produtos como alimentos benéficos para a saúde tinham sido ensaiadas, constituindo a bebida “Coca-Cola” um exemplo não tão bem sucedido (do ponto de vista funcional) como os produtos previamente citados (Weststrade *et al.*, 2002). O sucesso comercial de alguns destes produtos, concomitantemente com o envelhecimento das populações, o aumento exponencial dos custos com a saúde e a evidência epidemiológica de que o consumo de frutas e vegetais, por exemplo, era acompanhado de uma redução nos riscos de aparecimento de doenças cardiovasculares ou cancro, criaram um interesse acrescido por este tipo de alimentos. (Palou *et al.*, 2004; Palou *et al.*, 2003).

Contudo esta nova perspetiva de um alimento ser detentor de benefícios para a saúde, criou a necessidade de se comprovar cientificamente a sua efetiva influência, ou a dos seus componentes específicos, na melhoria do estado de saúde ou de bem-estar dos consumidores. Para alguns autores (Spence, 2006), torna-se particularmente necessário evitar cair em conceitos simplistas como seja o de “bons” e “maus” alimentos, defendendo que esta pressão do mercado deveria ser abandonada, sendo antes preferível clarificar o papel dos alimentos nas dietas, numa ótica de aproveitamento das suas

funções nutritivas. Impõe-se assim identificar cientificamente os componentes fisiologicamente ativos dos alimentos e, posteriormente, averiguar a robustez da evidência identificada (eficácia), assim como a segurança dos produtos a lançar no mercado.

O presente capítulo inclui uma definição de alimentos funcionais e da problemática a eles inerente.

### **1.1. Conceito de alimentos funcionais**

Os primeiros alimentos funcionais foram lançados no Japão em 1991 aquando da criação de uma nova categoria de alimentos designada FOSHU (Food for Specific Health Use), com o objetivo de reduzir os custos crescentes no setor da saúde. No entanto, para um produto ser classificado nesta nova categoria de alimentos seria necessário provar cientificamente os efeitos que teria para a saúde. Para além disso, o produto teria que ser considerado um alimento e não um suplemento. Este tipo de alimentos é reconhecido pelo Ministério da Saúde e Bem-Estar Japonês, em cujo registo constam mais de 300 produtos com características de alimento funcional (Clare, 2002).

Nos Estados Unidos da América, a posição oficial da Food and Drug Administration (FDA), que tem como responsabilidade proteger a saúde pública, é a de que as substâncias específicas dos alimentos podem constituir-se como um fator de favorecimento da saúde como parte de uma dieta diversificada (Alvídrez- Morales et al. 2002).

Todavia, apesar de não existir uma definição oficial para alimento funcional, a Funcional Food Science in Europe adotou a seguinte definição: “Um alimento pode ser considerado como funcional se estiver demonstrado que apresenta efeito fisiológico benéfico para a saúde e/ou redução dos riscos de doenças crónicas, para além da função nutricional básica.” O ingrediente funcional tem de permanecer no alimento e apresentar os seus efeitos nas quantidades em que é ingerido na dieta. Deve ser consumido regularmente, como parte de uma dieta variada (Diplock et al, 1999).

Abordando tanto a perspetiva norte-americana como a europeia, o conceito de alimento funcional baseia-se, genericamente, na modificação ou alteração

dos alimentos com o objetivo de promover a saúde dos consumidores, nomeadamente o bem-estar e a redução de risco de doença, ao fazer parte de uma dieta saudável (Oliveira, 2008).

A funcionalidade destes alimentos baseia-se em componentes com atividade fisiológica (componentes bioativos), a qual poderá estar naturalmente no alimento ou o que é mais comum terem de ser formulados, com recurso a tecnologias apropriadas, de forma a otimizar as propriedades benéficas desejadas (Martins et al, 2004).

É de realçar que estes alimentos têm que ser derivados de ingredientes naturais, não podendo ser uma cápsula, comprimido ou pó; como já foi referido anteriormente deve ser consumido como parte da dieta diária; terá uma função especial quando ingerido, servindo para regular um processo natural particular, tais como: aperfeiçoamento dos mecanismos de defesa biológica, prevenção de doenças específicas; controlo de distúrbios físicos e mentais e abrandamento do processo de envelhecimento (Martins et al, 2004).

Atualmente, a ideia de dieta adequada no mero sentido de proporcionar nutrientes suficientes para assegurar a sobrevivência de um indivíduo, de satisfazer as suas necessidades metabólicas básicas e de saciar a fome é insuficiente (Palou et al, 2003;). Além disso, do ponto de vista de segurança alimentar enfatiza-se a possibilidade de existirem alimentos para promover a saúde, melhorar o bem-estar e reduzir o risco de doença (Bellisle et al, 2003). Deste modo, o conceito de “nutrição adequada” tende a substituir-se por “nutrição ótima”, e fala-se dos alimentos funcionais ou outras denominações idênticas (*Foods for Specific Health Use ou Specific Health Promoting Foods*), refletindo o fato de que alguns podem ter uma ação benéfica que vai mais além dos seus efeitos nutricionais básicos.

Os alimentos funcionais não têm uma definição universalmente aceite. De uma certa forma, todos os alimentos são funcionais, uma vez que providenciam valor nutritivo, aroma e sabor. Assume-se, no entanto, que um alimento adquire estatuto de alimento funcional se originar efeitos fisiológicos benéficos para a saúde, no que respeita especificamente à redução do risco de desenvolvimento

de doença ou à otimização de uma situação de saúde, para além da sua função básica nutritiva (Hasler, 2002; ADA reports, 2004).

Posteriormente, organizações como a Food and Drug Administration (FDA) e a European Food Safety Authority (EFSA) sentiram necessidade de clarificar o conceito de benefício para a saúde, esclarecendo que os alimentos funcionais não servem para tratamento, cura, diagnóstico ou atenuação da doença pois estas funcionalidades são atribuídas aos fármacos (Richardson, 2005; Schneeman, 2007). Esta necessidade de esclarecimento assenta no facto de que o peso da dieta em muitas doenças crónicas é variável (Hasler, 2002), sendo estas, na verdade, um produto multifactorial resultante de fatores como a dieta, o comportamento dos indivíduos, o ambiente e as características genéticas de cada um (Richardson, 2005).

Aqueles factos associados à constatação de que muitos alimentos apresentavam componentes bioativos que nem sempre se manifestavam fisiologicamente efetivos quando integrados numa dieta completa, ou que só eram adequados a determinados estratos etários, impôs a necessidade de só se atribuir o estatuto de alimento funcional, àqueles alimentos cujos efeitos fisiológicos fossem comprovados cientificamente (Weststrate *et. al.*, 2002; Hasler, 2002).

Numerosos alimentos convencionais que integram a dieta mediterrânea tradicional podem considerar-se funcionais, uma vez provadas as suas propriedades com estudos em populações humanas e efetuados para cada alimento funcional nas condições normais de consumo humano (Hasler, 2002). Porém saliente-se que um produto alimentar pode ser funcional para toda a população ou apenas para um subgrupo particular de pessoas, por exemplo os afetados por um ou mais fatores de risco cardiovascular (hipertensão, deslipidemia), os que apresentam problemas gastrointestinais (obstipação) ou os obesos (Palou et al, 2004; Palou et al, 2002; Chadwick et al, 2003).

## **1.2. Conceção de novos alimentos funcionais**

O primeiro passo na investigação e desenvolvimento de um alimento funcional pode ser a identificação de um composto que produz um efeito

específico e benéfico para a saúde (por exemplo os fitoesteróis), depois tem que se investigar a interação desse composto com outros elementos da dieta e conhecer a sua função no organismo em diferentes campos de ação (genético, molecular, bioquímico, fisiológico). Ultrapassados estes pontos, requer uma investigação básica fundamental e o conhecimento dos mecanismos de ação. A partir desta base pode-se definir um efeito funcional que deve demonstrar-se em modelos relevantes e, posteriormente avaliar a sua eficácia em humanos, mediante estudos que podem demonstrar uma relação estatística e válida entre a ingestão e os benefícios específicos que se supõe ter o novo alimento funcional (Diplock e Aggett, 1999).

A identificação e aprovação de biomarcadores adequados é uma grande ajuda, como por exemplo as concentrações sanguíneas de colesterol LDL respeitantes às doenças cardiovasculares (Diplock e Aggett, 1999). Um aspeto importante é avaliar as margens de segurança para as doses efetivamente produtoras de efeitos funcionais, que devem ser seguras e aplicáveis a todos os principais grupos da população, incluindo aqueles aos quais não é dirigido o eventual alimento funcional.

### **1.3. Avaliação da segurança e eficácia dos alimentos funcionais**

Os alimentos funcionais são uma novidade na Europa, pelo que no seu desenvolvimento devem-se ter em conta marcos legislativos amplos que podem variar dependendo do caso. Porém, uma correta avaliação deve contemplar os seguintes aspetos: segurança e eficácia.

Na Europa, a segurança é organizada por avaliações científicas que se realizam ao abrigo de diferentes normas que se ocupam de controlar qualquer novidade nos alimentos e nos seus processos de obtenção. No que diz respeito à eficácia, a evolução da situação europeia encontra-se na aplicação de novas normas sobre alegações de saúde ou de propriedades saudáveis.

Existem alguns exemplos de novos alimentos que se consideram funcionais, como os esteróis vegetais (Hallikaine et al, 2000; Ntanios e Duchateau, 2002) que se têm avaliado na Europa (SCF, 2000; SCF, 2002). Esta avaliação tem-se concentrado maioritariamente nos aspetos da

segurança, mencionando-se muito pouco sobre a eficácia e possíveis benefícios.

Para reforçar estas avaliações, pode considerar-se o recurso a estudos de seguimento *postmarketing* (*Post Launch Monitoring*), como estratégia adicional frente a incertezas que só se podem resolver com análises históricas (SCF, 2002).

#### **1.4. Alegações ou reivindicações de saúde**

Aos consumidores preocupa-os cada vez mais a maneira como a alimentação afeta a saúde. Assim, a indústria alimentar tem reagido com uma informação nutricional mais detalhada nos rótulos e, com frequência, declarações relativas aos efeitos benéficos de alguns alimentos ou componentes.

O princípio fundamental que define as proclamações ou alegações de saúde nos alimentos é que devem provar-se cientificamente. Provavelmente, a definição mais acertada de “alegação” é a estabelecida em 1991 pelo *Codex Alimentarius* (*Codex Alimentarius*, 1991): “Qualquer representação que diz, sugere ou implica que um alimento tem certas características relacionadas com a sua origem, propriedades nutricionais, natureza, produção, processamento, composição ou qualquer outra qualidade”. No entanto, o termo “alegação de saúde” é interpretado de diferentes formas segundo o país.

A importância da regulamentação e das alegações de saúde dos alimentos é fundamental nos desenvolvimentos relacionados com os produtos alimentares, em muitos sentidos, dada a atual situação de força e ambiguidade que rodeia as alegações que aparecem nos anúncios, rótulos, etc., relacionadas com a nutrição e saúde. Prevê-se um incremento do setor dos alimentos com propriedades benéficas para a saúde.

Esta nova abordagem no que diz respeito às declarações sobre as propriedades saudáveis advém que as informações relativas aos produtos alimentares e o seu valor nutricional utilizados no rótulo, a comercialização e a publicidade devem ser claras, precisas e pertinentes, além de demonstráveis.

Por ordem de importância, acima do consumo de produtos funcionais está, naturalmente, uma alimentação saudável (Ferrari e Torres, 2002). Além deste facto, o simples consumo de alimentos funcionais, com a finalidade de obter um menor risco para o desenvolvimento de doenças, não atingirá o objetivo proposto se não for associado a um estilo de vida saudável levando em consideração, principalmente, a alimentação e a atividade física. O desenvolvimento deste mercado é, em grande parte, influenciado pelo grau de familiaridade e aceitação que os consumidores têm em relação a estes produtos, conceito designado por alguns autores como “*acceptability*” (Niva e Mäkelä, 2007). Vários estudos foram desenvolvidos em diversos países no sentido de analisar o consumo de alimentos funcionais. Ao nível do conhecimento destes produtos verificou-se que o grau de notoriedade não é elevado em vários países da Europa, nomeadamente no Reino Unido, na França, na Alemanha, (Hilliam, 1999) e na Polónia (Krygier, 2007), assim como em outras áreas do globo, como no Brasil (Viana et al., 2008). Um dos fatores determinantes da aceitação do seu consumo é a atitude positiva face a estes produtos e a crença na sua eficácia.

Vários autores verificaram que um número considerável de consumidores acredita na eficácia dos produtos funcionais (Patch et al. 2005; Niva e Mäkelä, 2007). Além disso, outros estudos constataram também a importância dessa crença para o seu consumo (Kolodinsky et al., 2008).

### **1.5. Fitoesteróis como alimentos funcionais**

Existem várias classes de alimentos funcionais, sendo que os fitoesteróis pertencem aos fitoquímicos (Martins et al, 2004).

Os fitoesteróis (esteróis e estanois) são substâncias de origem vegetal que têm despertado interesse pela sua capacidade de reduzir as concentrações sanguíneas de colesterol, podendo desempenhar um papel relevante na proteção frente à aterosclerose e doenças cardiovasculares associadas aos indivíduos que sofrem hipercolesterolemia (Amundsen et al, 2002; Ntanios e Duchateau, 2002; Hallikainen et al, 2000).

O enriquecimento de diversos alimentos com fitoesteróis tem um processo rigoroso de avaliação científica quanto à sua eficácia e segurança, ambas demonstradas tanto em estudos com animais como em estudos clínicos.

Na realidade, o desenvolvimento e utilização dos fitoesteróis em alimentos funcionais é o redescobrimto de algumas propriedades já conhecidas na antiguidade, se bem que em condições de conhecimento científico e tecnológico que permitem o seu desenvolvimento ótimo (Ros Rohola, 2007).

A autorização das margarinas enriquecidas com esteróis vegetais, como novo alimento, constitui um sucesso na Europa ao produzir a aceitabilidade formal com todas as garantias de segurança de um alimento funcional como novo alimento.

Os fitoesteróis têm uma estrutura similar à do colesterol e competem com ele na formação no intestino das micelas lipídicas mediante as quais têm lugar a sua absorção; afetam também o sistema específico de transporte de colesterol através das membranas e podem atuar sobre outros processos celulares. Considera-se que o consumo de 1 a 3g/dia é eficaz para a diminuição dos valores de colesterol LDL sem afetar negativamente o colesterol HDL ou outros processos, exceto a absorção de certos nutrientes lipossolúveis, em particular o betacaroteno, pelo que se recomenda que a sua ingestão continuada seja acompanhada de uma dieta abundante em verduras e frutas ricas em betacaroteno e vitaminas lipossolúveis (Noakes et al, 2002).

A introdução de novos produtos funcionais com fitoesteróis, inicialmente na Finlândia (enriquecido com estanois) e, sobretudo, a partir da autorização como novo alimento de margarinas enriquecidas com ésteres de fitoesteróis (8%) comercializadas na União Europeia em 2000 (Scientific Committee on Food, 2000), deu lugar à abordagem de numerosas iniciativas para enriquecer diversos alimentos (desde produtos de padaria a bebidas) com fitoesteróis.

Levanta-se por sua vez questões (alegações ou *health claims*, rótulos, interações, ingestão acumulada de princípios ativos, aspetos económicos e éticos, etc.) não apenas no que diz respeito ao caso particular, mas ao panorama que se abre em todo o setor alimentar relacionado com a saúde, com a possibilidade de numerosos produtos enriquecidos de diversos tipos e condições.

## CAPITULO 2

# FITOESTERÓIS: DEFINIÇÃO, ESTRUTURA QUÍMICA, FONTES E MECANISMOS DE AÇÃO

### 2.1. Definição e estrutura dos fitoesteróis

Os fitoesteróis ou esteróis vegetais estão presentes naturalmente em todos os frutos, legumes, grãos e outras plantas, onde desempenham um papel crucial na estabilização de membranas celulares (Jones, 2004). Trata-se de um grupo heterogêneo de compostos presentes no reino vegetal. E como componentes básicos das membranas das plantas, estabilizam as camadas fosfolipídicas duplas do mesmo modo que o colesterol nas membranas celulares dos animais (Ros Rahola, 2007). Quimicamente, os esteróis vegetais apresentam analogias estruturais com a molécula de colesterol (núcleo tetracíclico próprio dos esteróis), mas diferenciam-se pela natureza da sua cadeia lateral (grupo metilo ou etilo adicional e/ou uma dupla ligação adicional) (Pires, 2006) (Figura 1).

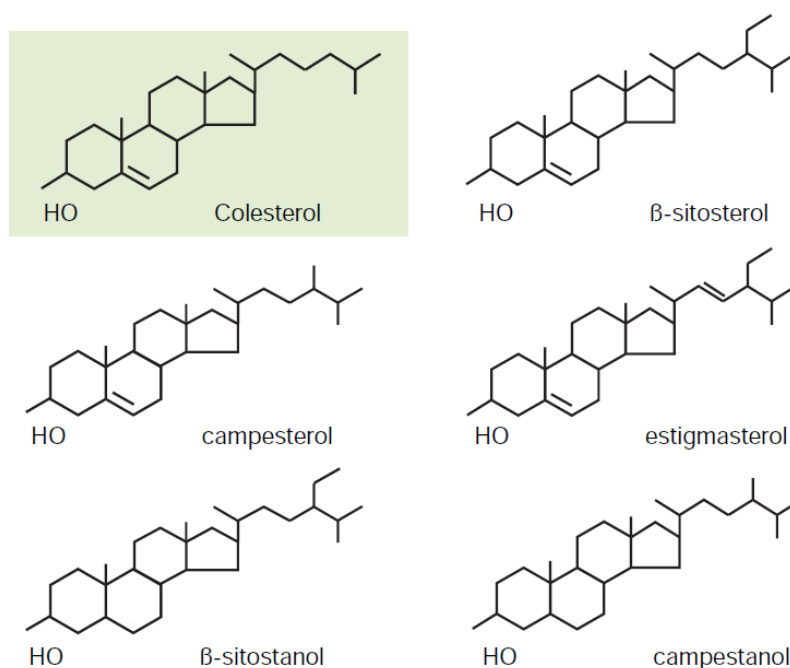


Figura 1: Comparação da estrutura do colesterol, e dos principais esteróis vegetais

Não podendo ser sintetizados pelo organismo humano, os fitoesteróis são obtidos a partir do consumo de alimentos ricos nestas substâncias (Jong et al. 2003).

Os esteróis estão presentes nas células eucarióticas, mas ausentes nas células procarióticas (Clifton, 2002). Foram descritos quimicamente pela primeira vez em 1922. Na altura foram descobertas sementes de abóbora que continham um esteroide chamado  $\beta$ -sitosterol (Bernardes, 2010).

A maioria dos fitoesteróis contém 28 ou 29 átomos de carbono e uma ou duas ligações duplas, uma no núcleo esteroide e por vezes outra na cadeia lateral hidrocarbonada, estes diferem do colesterol que contém 27 átomos de carbono (Ros Rahola, 2007).

Tal como o colesterol, os fitoesteróis sintetizam-se a partir da acetil-CoA por via do esqualeno. O esqualeno ( $C_{30}H_{50}$ ) é um composto orgânico produzido por todos os organismos superiores, sendo reconhecido pelas suas propriedades benéficas a nível da saúde humana (Ros Rahola, 2007).

Como já foi mencionado, quimicamente os esteróis vegetais apresentam analogias estruturais com a molécula de colesterol, um núcleo tetracíclico próprio dos esteróis, diferenciando-se pela natureza da sua cadeia lateral na posição C-24 (grupo metilo ou etilo adicional e/ou uma dupla ligação adicional) (Bernardes, 2010). Exemplos de alguns fitoesteróis comuns são o sitosterol (figura 1), que é o colesterol com a inclusão de um grupo etil extra na posição C-24, isto é 24-etilcolesterol, o campesterol (figura 1), que é colesterol com a inclusão de um grupo extra metil na posição C-24, isto é 24-metilcolesterol e o estigmasterol (figura 1), que é colesterol com a inclusão de um grupo etil adicional na posição C-24 e ligação dupla na posição C-22, isto é  $\Delta^{22}$ -24-etilcolesterol (Moreau, 2002).

A estrutura do núcleo também pode ser saturada, sem duplas ligações, aspeto que caracteriza o subgrupo dos estanois, cujos principais representantes são o  $\beta$ -sitostanol e o campestanol. Os estanois podem ser produzidos pela hidrogenação dos esteróis (Bernardes, 2010).

É óbvio que as propriedades químicas, físicas e nutricionais desta classe de fitoesteróis podem ser muito diferentes (Piironen et al. 2000). As diferentes frações são assumidas para existirem em diferentes partes das células das plantas. Esteróis vegetais livres são parte da parede celular com uma propriedade estrutural (Normen et al. 1999).

Semelhante ao colesterol nos humanos, os fitoesteróis têm como principal função nas plantas regular a fluidez da membrana. Uma vez que cada fitoesterol apresenta propriedades estruturais diferentes e por isso influenciam a estabilidade da membrana de diferentes formas, a razão entre os fitoesteróis particulares numa determinada membrana determina a sua fluidez (Bays et al, 2001).

## **2.2. Fontes Alimentares**

Na natureza os esteróis vegetais são encontrados quer na sua forma livre, quer na forma de ésteres. Como já foi mencionado, os alimentos mais ricos em esteróis vegetais são os óleos de milho e de soja, e algumas sementes e frutos secos como o sésamo e as amêndoas (Ostlund, 2002). Pelo contrário, as frutas e os vegetais fornecem quantidades muito pequenas Tabela 1. Os esteróis vegetais estão presentes em quantidades insignificantes na maioria das espécies vegetais, à exceção de alguns cereais (Bernardes, 2010). Mas também há grandes diferenças quantitativas entre alimentos semelhantes (Tabela 1). Por exemplo, dentro das gorduras, o óleo de milho é de longe o mais rico), o azeite e a margarina mais pobres estando em menor quantidade no óleo de palma.

Nos cereais verifica-se que os farelos e as farinhas integrais são os que maiores concentrações apresentam, sendo a farinha de trigo a que mais baixos valores apresenta (28 mg/100g edível). Quanto aos vegetais e frutas, o seu conteúdo é bastante mais baixo. Dos que foram analisados, os que têm maiores concentrações, por 100g de peso edível, são as azeitonas pretas com 50 mg, as couves de Bruxelas com 43 mg, o maracujá com 44 mg e aqueles com menores concentrações são o tomate com 4,7 mg, o pimento com 7,2 mg, a melancia com 1,3 mg e o melão com 1,8 mg. Existem atualmente algumas bases de dados relativas a alimentos habitualmente consumidos na Suécia e na Holanda.

Tabela 1: Conteúdo de esteróis vegetais em alguns alimentos (valores médios por 100 g peso edível) Adaptado de (Madureira, 2008)

<b>Alimentos</b>	<b>Conteúdo em esteróis (mg/100 g peso edível)</b>
<b>Cereais</b>	
Gérmen de trigo	344
Farinha de centeio	86
Farinha de trigo integral	70
Flocos de trigo	68
Flocos de cereais integrais	65
Farinha de milho	52
Massas cozidas	36
Farinha de trigo	28
<b>Gorduras</b>	
Óleo de milho	912
Óleo de canola	668
Margarina líquida	522
Óleo de girassol	213
Margarina	153
Azeite	154
<b>Frutos secos e sementes</b>	
Sementes de sésamo	404
Sementes de girassol	322
Pistacho	297
Nozes	189
<b>Outros</b>	
Chocolate preto	126
Chocolate de leite	94
<b>Vegetais</b>	
Azeitonas pretas	50
Couve-de-bruxelas	43
Couve-flor	40
Brócolos	39
Cogumelos	18
Couve branca	13

Pimento	7,2
Tomate	4,7
Batata cozida	3,8
Frutos	
Maracujá	44
Laranja	24
Figo	22
Pêssego	15
Banana	14
Maça	13
Pêra	12
Melão	1,8
Melancia	1,3

A ingestão de fitoesteróis é distinta nas diferentes populações dependendo dos hábitos dietéticos. A dieta ocidental tem uma média de 150 a 450 mg/dia, pelo que os vegetarianos podem consumir 1g por dia. Os óleos vegetais contêm em média 150 a 500 mg por 100g, enquanto que os óleos de milho, colza, farelo de arroz e gérmen de trigo contêm quantidades superiores. O sitosterol e o campesterol são os mais abundantes e, em média, compreendem 65% a 30%, da ingestão de fitoesteróis com uma dieta regular (Ros Rahola, 2000).

Um estudo recente (Sioen et al. 2011) efetuado na Bélgica revelou que o consumo alimentar total estimado de esteróis vegetais se situa entre os 218mg/dia (mulheres) e os 280 mg/dia (homens). De um modo geral estabelece-se que o consumo diário de fitoesteróis varia entre 1 a 3 g, correspondendo aproximadamente à mesma quantidade de colesterol na dieta.

Relativamente à dieta portuguesa não existem dados sobre o conteúdo de esteróis vegetais consumido na dieta (Bernardes, 2010).

### **2.3. Adição de fitoesteróis a alimentos**

A adição de doses farmacológicas de fitoesteróis a alimentos permitiu o aumento da sua disponibilidade na alimentação ocidental, pobre em alimentos vegetais.

Os fitoesteróis são insolúveis em água e em gordura (Ottestad et al., 2013) e tendem a formar cristais estáveis (Ostlund 2007). A adição a alimentos foi possível a partir da esterificação com ácidos gordos, tornando-os lipossolúveis (Thompson, 2005). Por isso, foram primeiramente adicionados a margarinas e só mais tarde a outros alimentos (Thompson, 2005; Devaraj e Jialal, 2006, 2006). Na realidade, a característica dos ésteres de esteróis vegetais torna-os mais aplicáveis para o seu uso em óleos, margarinas, molhos e outros meios lipofílicos. No entanto, os fitoesteróis livres exercem perfeitamente a sua ação noutras aplicações tais como lácteos, bebidas e cereais.

A incorporação em matérias pouco gordas é agora possível graças à emulsificação com lecitina (Ortega e Lopez-Sobaler, 2006; Ottestad et al., 2013) Formam-se complexos mais dispersáveis, aumentando a sua biodisponibilidade (Ottestad et al., 2013; Ostlund 2007).

Estudos realizados nos anos 70 demonstraram que a esterificação de fitoesteróis com ácidos gordos de cadeia longa aumenta a sua solubilidade em meio lipofílico, o que na prática possibilita o seu uso mais efetivo em alimentos ricos em gordura. Nos anos 80, as vantagens da utilização dos ésteres de fitoesteróis no enriquecimento dos alimentos já eram reconhecidas. Na grande maioria dos estudos, utilizando bebidas magras e margarinas com baixo teor em gordura, verifica-se uma diminuição do C-LDL de 8,1 a 60%. A adição de fitoesteróis a leite magro é 3 vezes mais efetiva que a adição a pão ou cereais (Devaraj e Jialal, 2006; Ottestad et al., 2013). Adicionados a formulações sem gordura, inibem significativamente a integração micelar e a bioacessibilidade do colesterol a nível intestinal). A adição a sumo de laranja e a sumo de laranja de baixo teor calórico revelou-se eficaz (Devaraj e Jialal, 2006). Os alimentos de baixo valor calórico são uma mais-valia pois possibilitam a integração em dietas hipocolesterolemiantes, de redução do peso e de controlo glicémico, problemas que surgem geralmente associados (Devaraj e Jialal, 2006).

## CAPÍTULO 3

### **FITOESTERÓIS ALIMENTOS FUNCIONAIS: SEU PAPEL NA PREVENÇÃO E ATRASO DA DOENÇA CARDIOVASCULAR**

---

#### **3.1. Benefícios dos alimentos enriquecidos com fitoesteróis: doença cardiovascular**

A nível mundial, a doença cardiovascular (DCV) ou doenças do aparelho circulatório (DAC) são responsáveis pela morte anual de cerca de 17 milhões de pessoas, sendo responsável por aproximadamente 29% do total de mortes registadas a nível mundial (OMS, 2011).

Na Europa, os óbitos por DCV representam 50% da mortalidade total e 30% destas mortes ocorrem antes dos 65 anos, considerando-se que esta doença é uma das principais causas de morte prematura ao nível dos países europeus.

Em Portugal houve um decréscimo gradual na taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares de 44,2% em 1990 para 32,3% em 2010. Contudo, em 2008 estas permaneciam no topo da lista de causa de morte (Instituto Nacional de Estatística (INE, 2008)). De entre as mortes cardiovasculares, 23% devem-se a doença cardíaca isquémica, com destaque para as Síndromes Coronárias Agudas (SCA) (Santos, 2009). Em 2011, segundo a OMS, em Portugal estas patologias são responsáveis por cerca de 40% dos óbitos e constituem também uma relevante causa de incapacidade. As DAC, na sua maioria, têm uma base aterosclerótica (devem-se principalmente à acumulação de gorduras na parede dos vasos sanguíneos). Este fenómeno tem início numa fase precoce da vida, progride silenciosamente ao longo dos anos, envolvendo o cérebro, o coração e a circulação periférica e vulgarmente já está avançado no momento em que surgem as primeiras manifestações clínicas (OMS, 2011). O processo de desenvolvimento desta patologia é complexo e está associado a múltiplos fatores de risco (FR). Os FR, de acordo com a Carta Europeia para a Saúde do Coração podem ser divididos em modificáveis e não modificáveis, formando as seguintes quatro categorias: biológicos (pressão arterial, açúcar, lípidos, peso), associados aos estilos de vida (tabaco, dieta, álcool, sedentariedade) e outros fatores modificáveis (rendimentos, educação,

condições de vida, condições de trabalho) e fixos (sexo, idade, etnia e genética).

De facto, a maior parte das DCV resulta destes FR modificáveis tendo o controlo destes fatores revelado ser uma arma eficaz na redução das complicações fatais e não fatais, das doenças cardiovasculares. De entre todos os fatores de risco, um dos mais marcantes encontra-se relacionado com o metabolismo das lipoproteínas e as possíveis alterações ocorridas neste. Sabendo que 70% da população portuguesa tem colesterol elevado (SPC, 2012), torna-se urgente implementar e desenvolver medidas para prevenir e/ou atrasar a doença.

Tal como os ácidos gordos ómega-3, as fibras solúveis (aveia, guar,pectina), os frutos secos (nozes e amêndoas), o alho (*Allium sativum*), a soja, o chá e o vinho, os fitoesteróis estão entre os nutrientes recomendados para reduzir o risco de doença cardiovascular (Lichtenstein e tal., 2006, European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice, 2012).

O *Adult Treatment Panel III* (ATP III) introduziu o princípio da máxima terapêutica dietética como modo de reduzir o c-LDL na prática clínica. Este princípio é um dos componentes *major* das alterações terapêuticas do estilo de vida. De acordo com o ATP III (2002) a aplicação destas recomendações dietéticas (Quadro I) permite uma redução do c-LDL em cerca de 25 %, comparativamente à típica dieta dos EUA.

Tabela 2: Recomendações da máxima terapêutica dietética para a redução do c-LDL, segundo o ATP III (2002)

<b>Modificação recomendada da dieta</b>	<b>Redução aproximada do c-LDL</b>
↓ Gordura saturada para <7%	8-10
↓ Colesterol na dieta para <200 mg/dia	3-5
Adicionar estanois/esteróis até 2 g/dia	6-10
Incluir fibras na dieta 5-10 g/dia	3-5
↓ Peso (4-5 Kg) (IMC desejável 19-25)	5-8
Redução total do c-LDL	25-30

Como se pode constatar da Tabela 2, é recomendada a inclusão de alimentos funcionais na dieta, nomeadamente estanois/esteróis.

Outras recomendações na área da dieta lipídica incluem a redução dos ácidos gordos trans e da gordura total na dieta para valores inferiores a 30 % do total energético ingerido, devendo a maioria consistir de ácidos gordos insaturados.

Na figura 2 estão esquematizadas as principais medidas dietéticas recomendadas. Para além disso deverão ainda observar-se ainda outros cuidados para a preparação dos alimentos, como utilizar métodos de cozinhar que precisem menor quantidade de gordura (cozidos, assados e grelhados, estufados), utilizar a fritura com moderação, evitar as carnes processadas com muita gordura, selecionar carnes magras e retirar toda a gordura possível antes de cozinhá-la. Consumir alimentos de origem vegetal em vez de origem animal, evitar alimentos processados, em especial os fritos. Incluir na dieta diariamente 2-3 porções de frutos e hortícolas e aumentar a ingestão de fibra (30-40g/dia) (European Guidelines, 2012).



Figura 2: Esquematização dos conselhos para uma alimentação saudável

Como já referido, o grande interesse despertado pelos alimentos enriquecidos com fitoesteróis deve-se, principalmente, a facto de que estes diminuem as concentrações sanguíneas de colesterol, sem efeitos adversos colaterais. Foi nesse contexto que se considerou que o aumento da quantidade de esteróis vegetais numa grande diversidade de alimentos pode ser uma ajuda importante na proteção das pessoas com hipercolesterolemia.

As primeiras observações do efeito hipocolesteremiante dos fitoesteróis datam há mais de 50 anos, quando ao alimentar galinhas com sementes de soja se observou uma diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol sanguíneo (Ros Rahola, 2007 ). Efeitos análogos foram observados em estudos sucessivos, tanto em animais como em humanos, sugerindo que os benefícios da soja se devem à sua composição em esteróis vegetais. A partir daqui foram vários os estudos efetuados quer com diferentes alimentos quer utilizando diferentes doses e até mesmo a sua associação com diferentes moléculas terapêuticas (Blair et al, 2000).

Estudos *in vitro* sugerem ainda que os esteróis vegetais (sitosterol e campesterol) poderiam afetar a formação da placa aterosclerótica não só por diminuição dos lípidos circulantes mas também por serem capazes de atrasar o crescimento e diminuir a proliferação das células musculares lisas (importante nos primeiros estádios de formação da placa aterosclerótica) (Awad et al, 2001)

### **3.2. Outros efeitos biológicos dos fitoesteróis**

Além das ações sobre o metabolismo lipídico e lipoproteico, os esteróis vegetais afetam outros processos metabólicos. O efeito sobre a absorção de vitaminas lipossolúveis, especialmente os carotenoides, é talvez o principal «problema» de uma ingestão de esteróis vegetais, pois os fitoesteróis podem interferir na sua absorção. Como os carotenoides e os tocoferóis são transportados pelas lipoproteínas (especialmente as LDL), as suas concentrações podem ser afetadas pela redução da concentração plasmática de LDL (Pires, 2006).

Foram ainda relatados efeitos protetores dos esteróis vegetais face ao cancro do colon, mama e próstata (De Jong, 2003). Para além disso ressalta-se que a hiperplasia da próstata trata-se clinicamente na Europa com produtos que contêm doses baixas de sitosteróis (60mg/dia) com melhoria significativa dos sintomas (De Jong, 2003). Encontraram-se ainda referências a efeitos positivos dos esteróis no sistema imunitário (Bouic et al., 1999).

## CAPÍTULO 4

### MECANISMO DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS

---

#### 4.1. Efeito dos fitoesteróis sobre o metabolismo do colesterol: Mecanismos de ação

Existem evidências experimentais que têm demonstrado que os esteróis vegetais têm um importante efeito hipocolesterolêmico, reduzindo tanto as concentrações de colesterol total como as de colesterol LDL (Moghadasian, 2000). Quanto ao seu mecanismo de ação têm-se proposto diferentes possibilidades. Os esteróis vegetais afetam a absorção intestinal do colesterol, a sua síntese e o sistema de eliminação (Jong et al, 2003).

##### 4.1.1. Absorção intestinal de colesterol e metabolismo lipoproteico

O colesterol, tanto o que é obtido através da dieta como o biliar, é absorvido entre 35% e 70% no intestino. Ao nível do estômago as enzimas digestivas começam a decompor as gorduras que posteriormente seguem para o intestino delgado (Figura 3 a). Uma vez no duodeno, as gorduras são emulsionadas com a ajuda da biliar e dos sucos pancreáticos (Rozner e Garti, 2006). Esses produtos emulsionados formam agregados de pequenas moléculas conhecidas como micelas, estas são pequenas o suficiente para passar por difusão através das microvilosidades intestinais e permitem assim a absorção de lípidos através da bordadura em escova da superfície das células intestinais (Figura 3 a) (Berne e Levy, 2000).

O transporte de colesterol da bordadura em escova para o interior do enterócito não está completamente esclarecido, contudo existem duas hipóteses sobre o mecanismo em questão. A primeira é de que essa passagem é feita por difusão passiva, um processo baseado no gradiente de concentração, sem dispêndio de energia. A segunda hipótese, por sua vez, defende que o colesterol é absorvido através de um processo mediado por proteínas. O recetor *Niemann- Pick C-1 like-1* (NPC1L1) transporta o colesterol da bordadura em escova para dentro dos enterócitos (Rozner e Garti, 2006).

A absorção de colesterol parece ser regulada por uma classe de proteínas de membrana denominadas Adenosina trifosfato-*binding cassette* (*ATP-binding cassette* - *ABCG5*, *ABCG8* e *ABC1*) que são transportadores que se localizam na bordadura em escova dos enterócitos e que regulam o *up-take* de colesterol, secretando-o dos enterócitos, de novo para o lúmen intestinal (Repa et al, 2002; Rozner e Garti, 2006).

Uma vez nos enterócitos o colesterol tem que ser esterificado pela acetilcoenzima A antes de ser incorporado nos quilomicra (Kwiterovich, 2000; Rozner e Garti, 2006) que são depois libertados na membrana basolateral, por exocitose, e deixam o intestino através dos vasos linfáticos, sendo drenados no ducto torácico, em direção ao fígado (Berne e Levy, 2000).

Os ácidos biliares utilizados na digestão dos lípidos são reabsorvidos no íleo e são também depois levados para o fígado através da circulação portal, onde são reutilizados na produção da biliar (Berne e Levy, 2000).

Apesar das suas estruturas químicas serem similares, os esteróis vegetais e o colesterol diferem significativamente no que respeita à sua absorção intestinal. Pode dizer-se que os esteróis vegetais são pouco absorvidos no intestino (0,4% a 3,5%) e os estanois ainda menos (0,02% a 0,3%).

A digestão de fitoesteróis inicia-se na boca onde os alimentos que os contém começam a ser degradados em moléculas de gordura menores, para poderem ser emulsionadas. À semelhança do que acontece com o colesterol a emulsificação das gorduras aumenta a área de contacto para as enzimas digestivas actuarem (Rozner e Garti, 2006).

O transporte dos esteróis vegetais nas micelas acredita-se ser feito ou por difusão ou pelos mesmos transportadores do colesterol (*NPC1L1*, *ABC1*, *ABCG5* e *ABCG8*).

Uma vez no interior do enterócitos os esteróis vegetais têm que ser esterificados pela ACAT, tal como o colesterol, antes de serem incorporados nos quilomicra e subsequentemente lançados na corrente sanguínea. Contudo os fitoesteróis apresentam baixa afinidade para a ACAT e logo são fracamente esterificados. Este fato pode explicar a diminuída absorção de fitoesteróis e a sua baixa concentração sanguínea (Ostlund et al, 2002, Rozner e Garti, 2006).

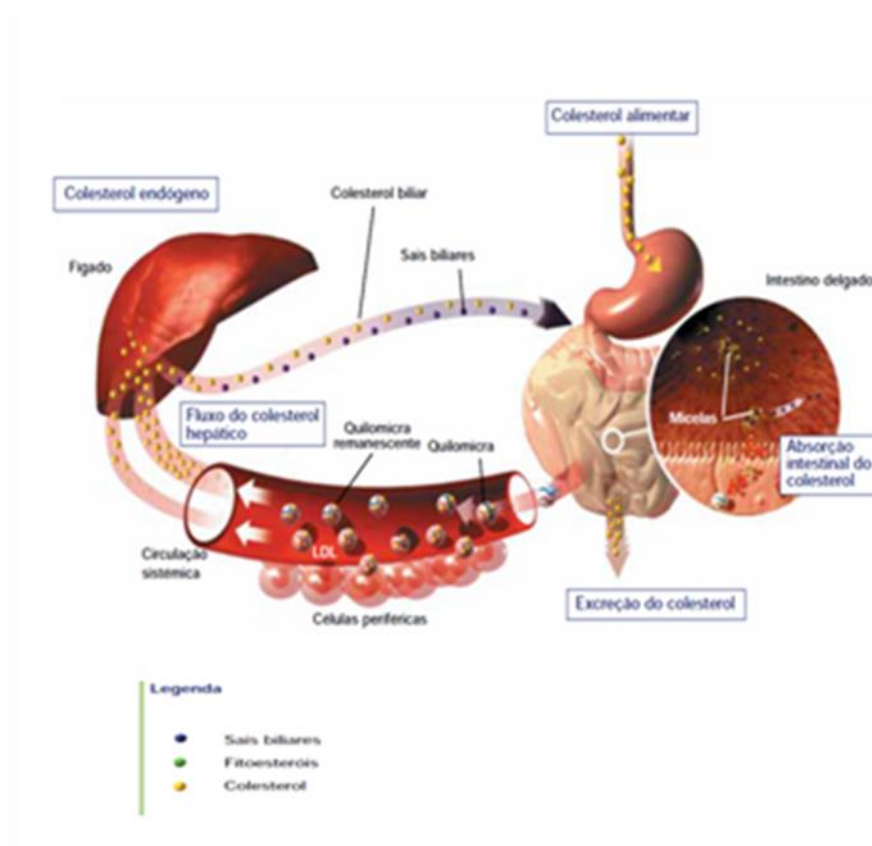
Desde inícios dos anos 50 que se tem estudado os fitoesteróis como potenciais inibidores da absorção de colesterol (Best et al., 1954). Contudo só

em 1995 foram adicionados a alimentos pela primeira vez na Finlândia (Clifton., 2009).

Os mecanismos pelos quais os fitoesteróis interferem com a absorção de colesterol não estão ainda completamente esclarecidos, contudo são reconhecidos três aspectos possíveis para esse efeito. Efeitos a nível físico-químico, efeitos no local de absorção e efeitos a nível da circulação intracelular de esteróis (Rozner e Garti, 2006) que descrevemos abaixo.

Sistematizamos na Figura 3 a) e b) a forma de absorção do colesterol e os efeitos dos esteróis vegetais

### a) Metabolismo Intestinal do colesterol



## b) Mecanismo de ação dos fitoesteróis

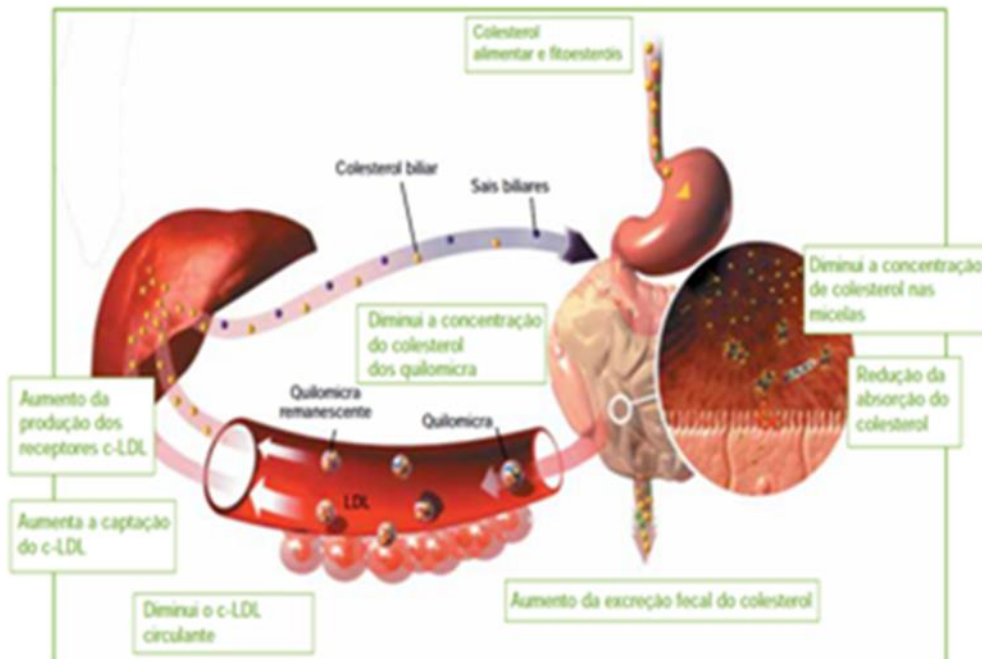


Figura 3: Absorção do colesterol a nível intestinal e efeitos dos fitoesteróis

### i) Efeitos a nível físico-químico:

Os esteróis vegetais, pelo facto de serem mais hidrofóbicos que o colesterol, tem maior afinidade para as micelas. Assim sendo podem substituir o colesterol nestas partículas e ser absorvidos em vez dele (Rozner e Garti, 2006).

Existe também a hipótese dos fitoesteróis e o colesterol formarem, juntos, cristais fracamente absorvíveis, contudo esta co-cristalização parece ser pouco provável de acontecer in vivo (Rozner e Garti, 2006).

## **ii) Efeitos no local de absorção:**

A enzima pancreática esterase do colesterol hidrolisa este composto transformando-o em colesterol livre e só na forma livre é que o colesterol pode ser absorvido pelos enterócitos. Ora, devido à sua semelhança estrutural com o colesterol os esteróis vegetais parecem atuar como substrato para essa enzima diminuindo a sua atividade e logo a sua ação sobre o colesterol (Rozner e Garti, 2006).

## **iii) Efeitos a nível da circulação intracelular de colesterol:**

O “*uptake*” (*influxo*) de colesterol é regulado por transportadores presentes na bordadura em escova da membrana intestinal (ABCG5 e ABCG8) (Plat e Mensink, 2002).

Estes transportadores usam ATP como fonte de energia para excretar os esteróis de novo para o lúmen intestinal e devido a semelhanças estruturais, os fitoesteróis competem com o colesterol por estes transportadores (Rozner e Garti, 2006, Duan e Wang, 2004). Estes transportadores intestinais eliminam colesterol e sitosterol para evitar a sua absorção e acumulação, embora o seu funcionamento seja muito mais eficaz no caso do sitosterol, devolvendo grande parte deste esterol presente no enterócito de novo ao intestino para a sua eliminação (Duan e Wang, 2004).

Outra possível forma de ação é o facto de os fitoesteróis parecerem suprimir a actividade da ACAT e conseqüentemente reduzirem o *up take* de colesterol (Rozner e Garti, 2006). Limitando esterificação e incorporação do colesterol em quilomicra, diminuem a sua absorção e a sua concentração plasmática (Rozner e Garti, 2006).

A inibição da absorção do colesterol produz uma deficiência relativa de colesterol, em resposta à qual se produz um incremento da síntese endógena que não chega a compensar a diminuição de colesterol produzido para inibir a sua absorção. O mesmo ocorre com a síntese do recetor das LDL da circulação, que também aumenta (Gylling e Miettinen, 1994; Plat e Mensink, 2002). Este feito incrementa a eliminação das LDL e também das IDL da circulação, e dado que estas são as percussoras das LDL, desta maneira também diminui a sua produção (Gylling et al, 1999), sem afetar as

concentrações de triglicéridos e colesterol HDL (Hendriks et al, 1999). Depois a ingestão de esteróis vegetais diminuem, portanto, as concentrações de colesterol LDL, mas também as de colesterol total devido à menor absorção e apesar do incremento compensatório na sua síntese (Ling e Jones, 1995; Howell et al, 1998), mesmo em indivíduos que já ingerem baixas quantidades de colesterol na dieta (Maki et al, 2001; Hallikainen e Uusitupa, 1999). Este efeito observa-se tanto com esteróis vegetais livres como esterificados (Jones et al, 2000).

Atualmente continuam a estudar-se mecanismos adicionais capazes de explicar o efeito redutor das concentrações sanguíneas de colesterol por parte dos esteróis na dieta.

## CAPITULO 5

### **ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS, DOSE RECOMENDADA E MOMENTO DE ADMINISTRAÇÃO**

---

Não se devem esquecer os possíveis riscos de um consumo excessivo, em particular o consumo de esteróis implica uma diminuição da disponibilidade de betacaroteno (provitamina A) e talvez em menor quantidade, a biodisponibilidade de outros nutrientes lipossolúveis.

Desde a introdução da margarina Pro-activ, enriquecida com esteróis vegetais, são numerosas as propostas de estender o enriquecimento em esteróis vegetais a vários produtos alimentícios: gorduras para barrar, leite e produtos lácteos, iogurte, queijos, produtos de padaria, bebidas diversas, produtos cárneos, molhos, etc. A tendência à proliferação destes novos produtos são a resposta à lógica da indústria alimentar frente a uma busca crescente.

Atualmente, só alguns deles são autorizados na Europa. A decisão aprovar um novo produto com esteróis vegetais não pode basear-se só na avaliação da segurança de cada um deles, considerados individualmente já que a disponibilidade no mercado de todos poderia dar lugar a um consumo exagerado de esteróis vegetais, em especial se os novos produtos não se comercializam com a informação suficiente.

Parece claro que os efeitos máximos benéficos de redução das concentrações de colesterol sanguíneo são alcançados a doses de 1 a 3 g por dia, dependendo do alimento enriquecido em fitoesteróis, da formulação de esteróis concreta, dos hábitos dietéticos e de outros fatores. Por outro lado, não se estabeleceu com suficiente precisão uma ingestão diária máxima tolerável para os esteróis vegetais devido, pois não existem dados suficientes em humanos para doses acima das 6 a 9 g diárias, ingeridas regularmente e por um tempo prolongado.

Considerando que os efeitos benéficos se observam para doses 1 a 3g/dia e que não se detetaram benefícios adicionais para doses superiores, é prudente evitar a ingestão de esteróis que excedam esses valores sendo igualmente de evitar em grávidas, mulheres que amamentam e crianças por não se dispor de informação suficiente

Aparentemente não existem vantagens em ingerir fitoesteróis várias vezes ao dia, pois os fitoesteróis parecem permanecer algum tempo no intestino, assim é suficiente e também mais conveniente, uma toma diária única. No entanto a hora do dia é importante devendo ser tomado a uma refeição principal (Poli et al., 2008, AbuMweis et al., 2008). O efeito na diminuição do colesterol é visível ao final da 3ª semana e requer para isso um consumo regular (Poli et al., 2008), pois a cessação da suplementação com fitoesteróis pode levar a um aumento dos valores de colesterol LDL (Kwiterovich et al., 2003). AbuMweis et al (2008) verificaram que os níveis de colesterol total e LDL não diminuam nos indivíduos que apenas tomaram uma dose diária (1,7g/dia) de fitoesteróis ao pequeno-almoço, independentemente das quantidades de colesterol presentes nessa refeição. Assim estes autores sugerem a hipótese de existir de um ritmo circadiano de absorção de colesterol (AbuMweis et al., 2006).

Deste modo, o horário de ingestão dos fitoesteróis não é indiferente ao ritmo circadiano da síntese de colesterol (AbuMweis et al., 2008, AbuMweis et al., 2006). Por volta das 6 horas da manhã a síntese endógena de colesterol atinge o pico máximo e vai diminuindo ao longo do dia. A produção de ácidos biliares também tem um ritmo diurno que é o oposto ao da produção de colesterol (AbuMweis et al., 2008). Uma vez que a síntese e a absorção de colesterol estão inversamente relacionadas, AbuMweis et al (2008) sugerem a hipótese da absorção de colesterol ser menor de manhã e aumentar durante o dia, ou seja apresentar um ritmo circadiano contrário ao da produção de colesterol. Esta hipótese explica o facto de uma única dose de fitoesteróis não apresentar efeitos na diminuição do colesterol total e LDL quando tomada ao pequeno-almoço (AbuMweis et al., 2006)

Em contraste com os estudos em produtos enriquecidos com esteróis vegetais sabe-se muito menos sobre o efeito das concentrações baixas de fitoesteróis presentes de um modo natural nas dietas atuais (Ostlund et al, 2002). Em geral, considera-se que os valores de esteróis vegetais podem contribuir para alcançar ou manter baixas concentrações de colesterol, se bem que este possível efeito muitas vezes pode passar despercebido.

Tem-se descrito que os fitoesteróis presentes de modo natural no óleo de milho (que contém cerca de 0,8% de fitoesteróis) podem reduzir

significativamente a absorção de colesterol (Ostlund et al, 2002, Anderson et al, 2004).

## CAPITULO 6

### SEGURANÇA E EFICÁCIA DOS FITOESTERÓIS

---

A segurança e a eficácia são os aspetos chave a ter em conta nos alimentos funcionais. Na Europa, a segurança dos alimentos está garantida mediante a aplicação de uma rigorosa avaliação científica, que se realiza antes da sua comercialização, e que se aplica a qualquer novidade nos alimentos e nos processos da sua obtenção (Palou et al, 2004).

Enquanto muitos dos novos alimentos que consumimos antes de 1997 não passaram pelo filtro de uma avaliação escrita no que diz respeito à sua segurança, a situação mudou na Legislação de Novos Alimentos, deste modo, desde 15 de Maio de 1997 todos os novos alimentos são rigorosamente avaliados. As margarinas enriquecidas com esteróis vegetais são o primeiro alimento funcional avaliado quanto à sua segurança dentro do quadro global da União Europeia, de acordo com a Legislação Europeia de Novos Alimentos (EC. Regulation No. 258/97, 2007). Em conclusão, esta legislação estabelece que para que autorizem a comercialização de um novo alimento ou ingrediente alimentar devem-se cumprir três condições: a) não deve oferecer nenhum risco para o consumidor; b) não deve induzir o consumidor em erro; e c) não deve diferir de outros alimentos ou ingredientes alimentares a que se destinam a substituir, para que o seu consumo normal não implique desvantagens para o consumidor do ponto de vista nutricional.

No que diz respeito à eficácia dos fitoesteróis, a situação da legislação na Europa apresenta muitas diferenças em relação a países como os Estados Unidos e Japão. Recentemente está-se a desenvolver uma legislação que pretende harmonizar as condições e a exigência científica exigível para permitir que um alimento possa incorporar alegações nutricionais e de saúde. Esta nova legislação aborda a atual diversidade de normas em que se regem os vários países europeus, cujo rigor difere de uns para os outros, e que frequentemente confundem os consumidores. Assim, alguns alimentos consideram-se saudáveis e podem-se comercializar com tais alegações só em alguns países. No entanto, há aqueles que conseguem superar os diversos filtros e comercializam-se em todos os países europeus.

Países como o Japão ou os Estados Unidos têm já uma legislação bem estabelecida. Assim, por exemplo, no caso dos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) tem autorizado a utilização de rótulos e alegações de saúde (health claims) sobre a associação entre esteróis vegetais e a redução do risco de doenças cardiovasculares. Em resposta ao pedido das campanhas interessadas, a FDA pronunciou-se nos termos seguintes: "De acordo com a totalidade da evidência disponível publicamente, a Agência tem concluído que os ésteres de esteróis/estanóis podem reduzir o risco da doença cardíaca coronária" (FDA, 2000).

Em geral, pode concordar-se que a eficácia dos alimentos funcionais deve estabelecer-se claramente com suficientes evidências científicas, incluindo estudos em diversos modelos e sistemas experimentais, e estudos de intervenção em populações humanas, a curto e longo prazo, seguindo diretrizes de consumo habitual e caracterizando adequadamente as populações alvo (Palou et al, 2004, Palou et al, 2003; Roberfroid, 2000). Assim, por exemplo, uma meta análise de 18 ensaios clínicos tem premiado a eficácia das margarinas que contêm esteróis e estanóis vegetais, sugerindo que o consumo regular de 2g/dia diminuem significativamente (10%) das concentrações sanguíneas de colesterol LDL em indivíduos de 40 a 59 anos de idade (Hendriks et al, 2003).

Alguns estudos têm analisado a evolução a longo prazo da doença cardiovascular quando se tem uma dieta com alimentos enriquecidos com esteróis vegetais (Hendriks et al, 2003; Miettinen e Gylling, 2004) e, em todos os casos, os estudos de intervenção em humanos observa-se uma diminuição dos valores de colesterol sérico que se associa a uma redução na incidência da doença cardiovascular (Gould et al, 1998; De Jong, 2003). Neste sentido, tem-se estimado que a redução da concentração de colesterol produzida pelas margarinas que contêm esteróis vegetais pode associar-se a uma diminuição de 20% a 25% no risco de sofrer de doenças cardiovasculares, o qual constitui um efeito superior ao esperado de reduzir a ingestão de gorduras saturadas dos níveis recomendados (Miettinen e Gylling; 2004, Law et al, 1994).

Adicionalmente, os estudos desenvolvidos com margarinas enriquecidas com ésteres de esteróis vegetais têm-se estendido a toda uma diversidade de alimentos (preparados lácteos, queijos, iogurtes, etc.) e sob diversas condições. Só alguns deles se têm autorizado na Europa, ao que resta esperar que o enriquecimento com esteróis vegetais se expanda ainda mais no futuro imediato.

### **6.1. Comprovação da eficácia**

Em humanos, a maioria dos estudos têm sido dirigidos para determinar a eficácia dos esteróis vegetais, nas doses típicas, quanto à sua capacidade de reduzir as concentrações sanguíneas de colesterol, particularmente colesterol LDL, e sem afetar outros parâmetros, como o colesterol HDL, triglicéridos, etc. Em nenhum dos casos se tem descrito efeitos secundários ou reações adversas, o que contempla os resultados dos estudos toxicológicos em animais e outros estudos em diversos sistemas e modelos *in vitro*.

Praticamente sem exceções, todos os estudos que têm utilizado doses diárias de entre 1 a 3 g de esteróis ou estanois incorporados em diversos alimentos têm demonstrado a eficácia desta intervenção na redução do colesterol, e isto tem-se comprovado em populações variadas: em crianças, adultos e idosos; em pessoas com hipercolesterolemia moderada ou grave; em pacientes tratados com outros fármacos hipolipemiantes (Ros Rahola, 2007).

Na primeira meta-análise de 14 estudos clínicos controlados com placebo em que se utilizaram doses de esteróis/estanois entre 0,8 e 4g por dia em veículos gordos, constataram-se reduções significativas nas concentrações do soro do colesterol total e LDL, sem mudanças no colesterol HDL ou dos triglicéridos. A relação dose-resposta era linear até uma dose de uns 2 g/dia de esteróis/estanois, e sugeria-se que a eficácia aumentava com a idade. Numa meta-análise subsequente, analisaram-se 41 estudos controlados que empregaram doses de esteróis/estanois entre 0,7 e 4,2 g/dia, a maior parte das vezes incorporadas em matrizes gordas, durante períodos de entre 10 dias e um ano (a maioria, entre 3 e 6 semanas). A gama de respostas do colesterol LDL foi de -3% a -25%, sendo a redução média de uns 10%, de novo sem

efeitos aparentes sobre os triglicéridos ou o colesterol HDL. Também se constatou que a resposta era dependente da dose até aos 2g ao dia e não aumentava com doses superiores. Um estudo recente utilizando doses diárias de estanois de 0, 2, 3 e 4 g confirmou que não há limite de resposta. Por este motivo, a dose diária recomendada de esteróis ou estanois é de cerca de 2g (Ros Rahola, 2007).

Nos últimos anos têm-se publicado muitos estudos com esteróis ou estanois incorporados em alimentos com baixo conteúdo gordo, que se podem considerar mais indicados que as margarinas ou outras gorduras para untar para a população com altas taxas de colesterol a maioria tem-se utilizado em bebidas lácteas e iogurtes com baixo teor de gordura, em cereais, carne magra e sumos. Como nos estudos com esteróis/estanois dispersos em matrizes gordas, a eficácia na redução do colesterol LDL com doses perto de 2g/dia em alimentos com baixo teor de gordura oscila entre os 5% e os 15% (Ros Rahola, 2007).

A variedade de respostas médias do colesterol LDL a doses de esteróis e estanois de  $\geq 1,6$  g/dia oscila entre -5% e -25% em distintos estudos. É importante salientar que o efeito de redução do colesterol dos esteróis/estanois é aditivo ao de uma dieta saudável. Além disso, a eficácia mantém-se, mesmo se a dieta for pobre em colesterol, porque a bÍlis carrega grandes quantidades de colesterol no intestino, cuja reabsorção se inibe da mesma maneira que a do colesterol dietético (Ros Rahola, 2007).

Convém referir que na análise dos estudos que avaliam o efeito hipolipemiante dos fitoesteróis o efeito de suplementação com fitoesteróis é comparado com uma dieta que contém fitoesteróis *ab initio*, e não com uma dieta sem fitoesteróis. Esta comparação avalia a eficácia da suplementação com fitoesteróis na dieta utilizada, mas não responde ao potencial papel dos fitoesteróis na redução dos lípidos. A presunção implícita de que não existe na dieta um efeito basal dos fitoesteróis enviesava a análise e tende a subestimar a eficácia destes.

É, portanto, compreensível e expectável que seja difícil realizar ensaios clÍnicos com os fitoesteróis do mesmo modo com que se avaliam os

medicamentos. A quantidade significativa de fitoesteróis nos alimentos sólidos e a variabilidade da dieta na população pode explicar os diferentes resultados obtidos nos estudos efetuados. Muitos dos estudos efetuados foram realizados com esteróis e estanois esterificados em doses  $\geq 2$  g/dia adicionados a uma matriz alimentar contendo óleos, tal como margarina, evidenciando uma redução do c-LDL de 10 a 15 %. Este efeito não parece ser dependente da frequência da administração, observando-se uma redução semelhante do c-LDL para a ingestão de margarina enriquecida com fitoesteróis apenas ao almoço ou a mesma quantidade repartida pelas 3 refeições, sugerindo que outros mecanismos para além da formação das micelas mistas possam estar presentes.

Relativamente aos produtos lácteos com baixo teor em gordura enriquecidos com estanois (iogurte, iogurte líquido ou leite) a eficácia parece ser inferior à margarina, observando-se uma redução do colesterol total e do c-LDL de aproximadamente 4 e 5 %, respetivamente.

No entanto, quando o iogurte líquido é consumido ao almoço, a redução do colesterol total e do c-LDL aumenta, respetivamente, para 8 e 12 % (Seppo et al., 2007).

Estes diferentes resultados podem ser explicados por a redução do c-LDL pelos fitoesteróis depender da formação das micelas mistas intestinais, que resultam da competição dos esteróis vegetais com o colesterol. As refeições sólidas, como as que estão subjacentes à ingestão de margarina, atrasam o esvaziamento gástrico e prolongam o tempo para a formação de micelas. Por sua vez, a ingestão de iogurte líquido ao almoço garante o início do fluxo da secreção biliar e da formação de micelas. Isto é, para se obter uma maior eficácia na redução do c-LDL com os produtos lácteos com baixo teor em gordura enriquecidos com estanois, recomenda-se o seu consumo à refeição. Parece haver consenso que 2 g/dia de fitoesteróis é a dose mais adequada à redução do c-LDL. Estudos dose-resposta mostraram que existem diferenças entre 0,8 e 1,6 g/dia, e que mais de 2,2 g de fitoesteróis por dia não reduzem o c-LDL.

Os fitoesteróis não alteram a trigliceridemia nem o c-HDL. Diversos estudos mostraram que os estanois são mais eficazes na redução do colesterol do que

os  $\Delta 5$ -esteróis a curto prazo (2 meses) (O'Neill et al. 2004) e a longo prazo (12 meses) (O'Neill et al., 2005). Para além da eficácia, poderá também haver diferenças entre estes dois subgrupos de fitoesteróis na eventual aterogenicidade (ver Toxicologia e Segurança); os estanois são menos absorvidos e têm menores concentrações séricas que os  $\Delta 5$ -esteróis. As avaliações de vários estudos realizadas de forma sistemática evidenciaram a eficácia dos fitoesteróis na redução do c-LDL em indivíduos com normo e hipercolesterolemia e diabéticos (Moruise et al., 2006; Low et al., 2005).

## **6.2. Eficácia dos esteróis vegetais em combinação com outros agentes hipocolesterolémicos**

Os esteróis vegetais podem ser uma ferramenta adicional no tratamento de pessoas com hipercolesterolemia. Nos estudos em que se averiguou o efeito dos alimentos enriquecidos com ésteres de esteróis vegetais, consumidos por pacientes submetidos a tratamento com fármacos hipocolesterolémicos (como as estatinas) (Blair et al, 2000; Nignon et al, 2001), verificou-se uma diminuição das concentrações de colesterol LDL. Como a redução da absorção intestinal de colesterol está associado a um aumento da síntese hepática, especulou-se sobre se o tratamento combinado fitoesteróis-estatinas terá um efeito sinérgico na redução de colesterol no sangue. Vários ensaios clínicos controlados têm demonstrado que os fitoesteróis adicionados às estatinas são efetivos na redução do c-LDL em 7 a 15,6 %. Este efeito aditivo à terapêutica com as estatinas de cerca de 8% na redução do c-LDL é equivalente à duplicação da dose de uma estatina. É mais eficaz e ao mesmo tempo mais seguro do que o aumento das doses de estatinas (Ros Rahola, 2007).

Por outro lado, os doentes que beneficiam menos de uma terapêutica com uma estatina serão muito provavelmente os que apresentam uma absorção mais elevada de colesterol e uma maior sensibilidade à redução do c-LDL pelos inibidores da absorção do colesterol (Goldberg et al., 2006). Não existem estudos que evidenciem uma redução do risco de doença cardiovascular com os fitoesteróis. No entanto, Katan et al (2003). Extrapolam de ensaios clínicos com medicamentos hipolipemiantes que a diminuição de 10% do c-LDL pode reduzir o risco cardiovascular em 12 a 20% aos 5 anos.

### **6.3. Estudos toxicológicos e segurança clínica dos fitoesteróis**

São numerosos os estudos e avaliações da segurança alimentar dos esteróis vegetais efetuados por grupos de investigação, centros, organismos oficiais e instituições, assim como no âmbito internacional. Aqui nos referimos principalmente ao âmbito europeu e as atuações cobertas pelo Comité Científico da Alimentação Humana (*Scientific Committee on Food (SCF)*), organismo oficial para a avaliação científica dos riscos em matéria de segurança alimentar na União Europeia entre 1997 e 2002. Desde 2002, estas funções são desempenhadas pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) e, mais concretamente, no que se refere à avaliação dos novos alimentos, o seu Painel Científico de Produtos Dietéticos, Nutrição e Alergias (NDA), comumente conhecido por Painel Científico de Nutrição ([http://www.efsa.eu.int/science/nda/catindex\\_en.html](http://www.efsa.eu.int/science/nda/catindex_en.html)).

A informação toxicológica é fundamental na avaliação dos riscos nos novos alimentos, pelo que também são importantes os estudos nutricionais, os estudos em humanos, estimar a exposição previsível (taxa de ingestão prevista), os estudos mecanísticos, etc., de modo que todas as evidências devem considerar-se em conjunto.

Em 2000 o SCF considerou os estudos sobre a formação específica de esteróis vegetais proposta pela Unilever para as suas margarinas pro.activ e, prevendo um consumo médio de 20-30 g/dia do novo alimento de 8% de fitoesteróis considerado aceitável. A informação toxicológica disponível abordou estudos sobre a absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos esteróis vegetais (Sanders et al, 2000), estudos de toxicidade subcrónica (Hepburn et al, 1999), de genotoxicidade (Wolfreys e Hepburn, 2002), de toxicidade no desenvolvimento e na reprodução (Waalkens-Berendsen et al, 1999), de atividade estrogénica potencial (Baker et al, 1999), estudos da microflora e composição fecal (Ayesh et al, 1999; Weatstrate et al, 1999), estudos em humanos (Weatstrate et al, 1999) e outros estudos (SCF, 2000). O SCF concluiu que não existem riscos evidentes de segurança destes esteróis vegetais específicos.

Diversos estudos estão disponíveis para os esteróis vegetais, os estanois, também sem resultados adversos: genotoxicidade em doses do limite de

solubilidade (Turnbull et al, 1999); toxicidade reprodutiva em duas gerações de ratos com concentrações de 4,4% de ésteres de estanois vegetais (equivalentes a 2,5% dos estanois totais da dieta) (Whittaker et al, 1999); toxicidade oral subcrónica (Turnbull et al, 1999) ou toxicidade para o desenvolvimento (Slesinski et al, 1999) em ratos, embora as concentrações dietéticas de 5% na ingestão subcrónica destas substâncias diminua as concentrações plasmáticas das vitaminas lipossolúveis E e K e, num grau inferior, a vitamina D. este efeito também foi observado nos valores hepáticos das vitaminas lipossolúveis, exceto a vitamina K que não foi analisada.

O potencial mutagénico dos esteróis vegetais e dos ésteres de fitoesteróis foram estudados mais recentemente segundo uma análise de mutagenicidade em bactérias e em análises *in vitro* de mutações cromossómicas (Wolfreys e Hepburn, 2002). Em nenhuma das análises os fitoesteróis mostraram nenhuma evidência de atividade mutagénica.

A potencial aterogenicidade dos fitoesteróis é uma das preocupações da sua administração. Duas observações merecem a nossa reflexão. A primeira respeita a presença de aterosclerose coronária em doentes com sitosterolemia\* a qual é caracterizada por concentrações séricas elevadas de fitoesteróis, sem hipercolesterolemia, o que sugere que os altos níveis circulantes de esteróis vegetais podem ser aterogénicos (Patel e Thompson, 2006). A segunda observação fundamenta-se em estudos epidemiológicos, nomeadamente nos resultados do estudo 4S. Neste estudo, o tratamento com a simvastatina, a qual eleva a concentração sérica dos fitoesteróis, não reduziu os eventos coronários nos doentes que registaram uma maior elevação sérica dos fitoesteróis (Miettinen et al., 2000). Embora se observe uma associação entre o aumento de fitoesteróis no soro e o seu teor na placa aterosclerótica, é desconhecido o modo e a contribuição dos fitoesteróis na patogenia desta 14.

#### **6.4. Efeitos dos esteróis sobre a biodisponibilidade de carotenoides e vitaminas lipossolúveis**

As vitaminas lipossolúveis (carotenos e tinol ou provitamina A e vitaminas D e E) compartilham com o colesterol a solubilização micelar como passo prévio à sua absorção intestinal, pelo que tem havido uma certa preocupação

pela possível interferência dos esteróis/estanóis. Vários estudos clínicos têm demonstrado uma redução discreta de pequenas quantidades destas vitaminas após a ingestão de esteróis ou estanóis. Contudo, uma vez absorvidas, estas moléculas lipofílicas são transportadas em lipoproteínas, de modo que quando as suas concentrações séricas são ajustadas para os níveis de colesterol, desaparecem as diferenças entre alimento ativo e placebo, com a exceção do betacaroteno. Os níveis de betacaroteno reduzem entre os 15% e os 20%, mas permanecem dentro dos limites normais e este não terá sido motivo de preocupação, exceto em situações de aumento das necessidades, como na infância, em que se deve encorajar o consumo de fontes naturais de betacaroteno, como frutas, verduras ricas em carotenoides. Tem-se demonstrado que a ingestão de esteróis/estanóis no contexto de uma dieta enriquecida em carotenoides evita a redução das suas concentrações séricas. Os resultados de uma meta análise demonstraram que a concentração sérica das vitaminas A, D e E (retinol, colecalciferol e a-tocoferol), a-caroteno e o licopeno não são afectadas. No caso do a-caroteno observou-se uma ligeira diminuição mas apenas com consumos superiores a 2 g/dia (Plant, 2005). Este efeito pode ser contrariado com aumento da ingestão de frutos e legumes, como cenoura, abóbora, pêsego, espinafres, brócolos (Devaraj, 2006).

Não existem evidências que a ingestão de estanóis reduz a absorção de vitamina K.

### **6.5. Potencial aterogenicidade dos fitoesteróis**

A potencial aterogenicidade dos fitoesteróis é uma das preocupações da sua administração. Duas observações merecem a nossa reflexão. A primeira respeita a presença de aterosclerose coronária em doentes com sitosterolemia a segunda fundamenta-se em estudos epidemiológicos, onde não se observaram redução dos efeitos coronários.

A sitosterolemia ou fitosterolemia é uma doença autossómica recessiva rara (<1:1000000) (Fassbender et al., 2008), que se caracteriza por uma absorção excessiva de EV e também de colesterol. Por esse motivo os indivíduos afetados por esta doença sofrem de hipercolesterolemia, e podem desenvolver xantomas e doença cardiovascular prematura (Berge et al., 2000).

Esta doença ocorre por mutação nos genes que codificam os membros da família da *ATP-Binding cassette*, mais precisamente nos genes que codificam para os transportadores ABCG5 e ABCG8. Estes são responsáveis pela regulação da absorção intestinal de colesterol e EV e promovem a excreção biliar de esteróis. Logo, estas mutações vão levar a uma acumulação de esteróis e conseqüentemente um agravamento da aterosclerose (Berge et al., 2000). Assim sendo, os indivíduos com sitosterolemia apresentam valores de esteróis cerca de 30 vezes superiores aos valores normais. Enquanto os indivíduos normais absorvem cerca de 5% dos 200-300mg diários de esteróis vegetais e excretam a maior parte através dos ácidos biliares, os indivíduos com sitosterolemia absorvem de 25-60% dessa quantidade e apenas excretam uma pequena percentagem através dos ácidos biliares (Berge et al., 2000).

Enquanto os indivíduos com hipercolesterolemia familiar desenvolvem xantomas na terceira década de vida, os indivíduos com sitosterolemia desenvolvem-nos na primeira e ao contrário dos primeiros respondem drasticamente a restrições alimentares e a resinas sequestradoras de ácidos biliares (Kwiterovich et al., 2003)

É importante estudar a relação entre a suplementação com fitoesteróis e o efeito destes na função endotelial, pois os indivíduos com sitosterolemia apresentam aterosclerose precoce e risco de DCV aumentado (Weingästner et al. 2008; Stalenhoef et al., 2001).

Para além disso já foram encontrados esteróis vegetais nas lesões arteroscleróticas de indivíduos com absorção de colesterol aparentemente normal e alguns estudos epidemiológicos tem mostrado uma relação positiva entre esteróis vegetais e risco aumentado de doenças vascular (Weingästner et al., 2008), devido ao potencial aterogénico destes compostos, quando se encontram em concentrações elevadas (Fransen et al. 2007). Têm sido desenvolvidos vários estudos com o fim de esclarecer esta questão, contudo os resultados são ainda inconclusivos

Relativamente à segunda observação referida fundamenta-se nos resultados do estudo 4S. Neste estudo, o tratamento com a simvastatina, a qual eleva a concentração sérica dos fitoesteróis, não reduziu os eventos coronários nos doentes que registaram uma maior elevação sérica dos fitoesteróis (Miettinen et al., 2000) Embora se observe uma associação entre o

aumento de fitoesteróis no soro e o seu teor na placa aterosclerótica, é desconhecido o modo e a contribuição dos fitoesteróis na patogenia desta.

## **CAPITULO 7-**

### **ASPETOS SOCIAIS E ECONÓMICOS. ACESSO E DIREITO À ESCOLHA DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS COM FITOESTERÓIS**

---

Para que os alimentos funcionais tenham um maior impacto sobre a saúde deveriam ser acessíveis às pessoas que deles necessitam no momento adequado e nas quantidades apropriadas (Rodgers, 2004). Os alimentos funcionais têm como alvo grupos populacionais específicos encarando necessidades nutricionais ou metabólicas concretas.

Para que o consumidor possa exercer este direito, deve ter informação suficiente para escolher com conhecimento de causa. Neste sentido, o cumprimento da norma europeia sobre novos alimentos (EC, Regulation No. 258/97) e rotulagem (Regulation (EC) n.º 1924/2006), aplicada aos alimentos que contêm esteróis vegetais (Regulation (EC) n.º 608/2004), regula a rotulagem de alimentos e dos ingredientes alimentares aos quais foram adicionados fitoesteróis, de forma a garantir a segurança do consumidor.

A situação não é a mesma em todos os países. Por exemplo, além da Europa, os esteróis vegetais estão presentes em diversos alimentos funcionais comercializados em países como Estados Unidos e Austrália, nos quais se permitem alegações acerca dos potenciais benefícios para a saúde (Department of Health and Human Services, 2002). No entanto, noutros países como o Canadá, os ésteres de esteróis foram introduzidos no mercado sem legislação sobre alegações de saúde e com advertências do seu uso. No entanto, são vários os fatores limitantes da disponibilidade de alimentos funcionais e talvez o mais determinante é o seu preço. O custo reflete a matéria-prima e os processos necessários para a sua elaboração, assim como a demanda existente do produto. De todas as formas, os recursos também são limitados e este aspeto tem implicações a nível de preço de venda; tem-se estimado que a extração de esteróis e estanois vegetais a partir de subprodutos de refinamento de óleos vegetais ou processamento da madeira, só permite fazer frente às necessidades de 10% da população ocidental (Law, 2000). Assim, se continuar esta tendência tanto o preço como as fontes de

extração podem condicionar o uso destes produtos por parte de um grupo minoritário.

Os consumidores devem estar informados sobre as características dos produtos, benefícios e custos adicionais nos momentos de compra e de consumo, em particular quando se trata de alimentos funcionais, que geralmente têm um custo adicional e repercussões sobre a saúde do consumidor. No caso dos alimentos funcionais, o consumidor toma as suas decisões baseando-se na marca, no preço, no rótulo do produto e nas alegações de saúde, o que se aplica também aos alimentos enriquecidos com esteróis vegetais, como já referido.

Para obter a confiança do consumidor é preciso que as fontes de informação sejam fidedignas, em particular que as alegações de saúde sejam válidas e garantam a eficácia e segurança do produto. Esta informação deverá ainda disseminar-se adequadamente através dos meios de fácil acesso ao público-alvo, cobrindo aspetos de publicidade e *marketing*, mas também mediante canais especializados (literatura científica, profissionais, etc.). Mas a nível da comunicação, ficam em aberto uma série de questões que dizem respeito à escolha dos meios e técnicas mais adequados, à estruturação das mensagens, assim como ao impacto da publicidade.

Para que o consumidor aceite os alimentos funcionais sem maiores reservas é preciso que:

- As indústrias alimentares devem evitar a comercialização de alimentos sem validar previamente e de forma rigorosa as alegações de saúde que se publicitam.
- As agências regulamentares proporcionem uma aplicação da legislação justa e eficiente na qual os produtos com alegações de saúde validadas se possam posicionar e ser competitivos. Também deverão pugnar pela celeridade dos procedimentos e realizar a avaliação para aprovação dos produtos no prazo de tempo ótimo que não cause atrasos excessivos à comercialização dos produtos.

- Os investigadores devem participar ativa e imparcialmente no processo de validação do conhecimento científico no qual se deve ter em conta cada alegação de saúde e a caracterização dos mecanismos de ação implicados.

Os fabricantes de alimentos funcionais estão motivados para comunicar os benefícios associados com os seus produtos, pelo que pode haver uma certa tendência para contornar a disseminação de possíveis efeitos prejudiciais ou riscos que se correm com o consumo (Rodgers, 2004). O SCF na união Europeia tem feito especial ênfase em recomendações de consumo específicas para ditas populações e para grupos que podem ser especialmente sensíveis (tais como gestantes ou crianças) (CE. Commission Regulation No. 608/2004).

### **7.1. Relação custos benefícios**

A avaliação dos benefícios no que respeita ao consumo dos alimentos funcionais deve considerar, conjuntamente, os custos de produção e a avaliação dos benefícios que se obtêm com o seu consumo. O custo adicional das margarinas que contêm esteróis vegetais estimou-se em cerca de 40 € anuais por pessoa. Se muitos indivíduos podem escolher e pagar um preço acrescido para reduzir o risco de doença cardiovascular, outras poderão não ter capacidade económica para adquirir este tipo de produto (Law, 2000). O maior benefício dos alimentos enriquecidos com esteróis vegetais é o impacto diminuição do risco de doença cardiovascular, o qual se pode traduzir numa diminuição dos custos associados ao seu tratamento.

### **7.2. Mercado dos alimentos enriquecidos com esteróis vegetais e regulamentação.**

Em 2003 utilizaram-se 1500 toneladas de esteróis vegetais no fabrico de alimentos, o que representa cerca metade do consumo europeu; o resto da produção é utilizado em produtos farmacêuticos, suplementos alimentares e cosméticos (Sullivan, 2004).

Os fabricantes europeus de alimentos com esteróis vegetais estão fortemente posicionados no mercado e obtêm grandes benefícios económicos.

No entanto, não pode ser esquecida a regulamentação que se aplica aos novos alimentos funcionais, que requer uma avaliação científica e a aprovação antes da sua introdução no mercado, gerando custos adicionais e atrasando a sua comercialização (Sullivan, 2004).

Na Europa, as margarinas enriquecidas com ésteres de fitoesteróis introduziram-se depois da aprovação da Comissão Europeia (SCF, 2000) como uma estratégia dietética para diminuir as concentrações sanguíneas de colesterol em indivíduos hipercolesterolemicos. Estão sujeitas tanto à aplicação tanto do Regulamento (UE) 1234/2007 como do Regulamento (UE) 259/97 sobre novos alimentos e novos ingredientes enriquecidos com esteróis vegetais.

Além destes produtos alimentares, para os quais foi necessária a provação da Comissão Europeia, existem outros no mercado que são constituídos por ésteres de estanois e que se comercializaram antes da aplicação do Regulamento 258/97/EC. Na realidade, os esteróis vegetais foram introduzidos inicialmente na Finlândia em 1995, com a *Benecol®*, uma margarina que contém estanois vegetais esterificados com ácidos gordos de sementes de colza. Posteriormente, em 1999 a Unilever lançou na América do Norte produtos enriquecidos com ésteres de esteróis vegetais obtidos da soja, incorporados na margarina e molhos para saladas. A mesma margarina, com diferentes denominações foi comercializada também em 1999 na Austrália, Brasil, Nova Zelândia e Suíça, e em 2000 foi então comercializada na União Europeia (SCF, 2000). Assim, a margarina constituiu o primeiro novo alimento aprovado na Europa baseado no enriquecimento avaliado quanto à sua segurança e indicações pela autoridade europeia competente.

Desde então, diversas campanhas têm sido realizadas para lançar novos alimentos enriquecidos com esteróis vegetais. Como por exemplo formulações que visam aumentar o efeito dos fitoesteróis, nomeadamente a sua biodisponibilidade, recorrendo a compostos como a lecitina (Hicks e Moreau, 2001).

Estes produtos adquirem-se nos locais habituais, hipermercados e supermercados e não se adquirem com o objetivo de substituir uma refeição mas sim como complemento, sendo as marcas habituais escolhidas pelo sabor

e garantias de qualidade conhecidos e as marcas brancas pouco escolhidas pela desconfiança que geram.

As consequências das medidas de avaliação das comissões científicas europeias têm sido as medidas de rotulagem e de autorização de concentrações máximas em diversos produtos, a distribuição de um máximo de esteróis vegetais nas suas proporções, a rotulagem, as formas de difusão, assim como a autorização a um número prudente e de modo apelativo de novos produtos para o consumidor assimilar a novidade e poder utilizá-los conscientemente para ajudar a reduzir as concentrações de colesterol.

Um dos problemas que se coloca é as diferenças inevitáveis entre marcas distintas e quanto à forma de apresentação e a confusão que gera o uso simultâneo de várias delas. Existem no mercado produtos enriquecidos com esteróis vegetais, os quais por terem sido comercializados antes de 1997 não são avaliados de acordo com a legislação de novos alimentos. No que diz respeito sobre o que é necessário para fazer avançar a "harmonização" dos aspetos-chave, como a rotulagem de todos os produtos deste tipo, independentemente de serem ou não novos alimentos neste sentido tem-se criado o recente Regulamento (CE) relativo à rotulagem de alimentos e ingredientes com fitoesteróis, ésteres de fitoesterol, fitoestanóis ou ésteres de fitoestanóis adicionados (EC. COMMISSION REGULATION (EC) No 608/2004).

Parece evidente que o reconhecimento dos efeitos benéficos sobre a saúde dos esteróis vegetais (livres e esterificados), em particular sobre as concentrações circulantes do colesterol LDL, pode estimular a produção e comercialização destes compostos como ingredientes em alimentos funcionais.

### **Algumas considerações:**

Antes de passar ao estudo experimental (Parte II do presente trabalho) sistematizamos as principais conclusões obtidas na revisão bibliográfica e que se prendem com a utilização de fitoesteróis pela população.

1. Os alimentos enriquecidos com fitoesteróis reduzem o c-LDL em indivíduos com normo- e hipercolesterolemia.
2. A suplementação da dieta com 2 g de fitosterol/ estanol por dia reduz o c-LDL em cerca de 10 %, mas não altera a trigliceridemia nem o c-HDL. O consumo de mais de 2-3 g de fitoesteróis por dia não proporciona benefícios adicionais na redução do c-LDL.
3. A frequência do consumo diário de fitoesteróis na forma de margarina não parece influenciar a eficácia da redução do c-HDL.
4. Devem preferir-se os produtos com baixo teor de gordura.
5. A toma deve ser feita 1 vez/dia deve fazer-se com uma das principais refeições do dia e não ao pequeno-almoço. No entanto, a administração às refeições dos produtos lácteos com baixo teor em gordura enriquecidos com estanois, nomeadamente o iogurte líquido, parece aumentar a eficácia hipolipemiantes.
6. A associação dos fitoesteróis às estatinas tem um efeito aditivo na redução do c-LDL.
7. Não há relatos de efeitos adversos do consumo dos alimentos enriquecidos com fitoesteróis, mas não existe informação da segurança a longo prazo.
8. O consumo de fitoesteróis reduz os carotenoides séricos, pelo que é recomendada a ingestão de frutas e legumes para correção daquelas substâncias.

9. Nos indivíduos com sitosterolemia homozigótica, uma doença rara hereditária metabólica que apresenta níveis elevados de fitoesteróis no sangue e aterosclerose prematura, é recomendada a restrição de fitoesteróis.

***PARTE II***

***ESTUDO EXPERIMENTAL***

## CAPITULO 1 – MATERIAL E MÉTODOS

---

Não são do nosso conhecimento estudo de alimentos funcionais fortificados com fitoesteróis realizados em Portugal. Neste trabalho procurámos fazer uma análise exploratória de algumas motivações, atitudes e hábitos inerentes ao consumo desse tipo de alimentos. Assim, após uma abordagem teórica acerca da temática deste trabalho, segue-se um estudo ainda que preliminar, que pretende avaliar os hábitos de consumo de alimentos ricos em fitoesteróis na população de Viseu.

### **1. Caracterização dos produtos avaliados pelo consumidor:**

Pretendeu-se avaliar algumas das características que condicionam o consumo de dois produtos enriquecidos com fitoesteróis. Um deles que designamos por iogurte é leite fermentado magro que combina os fermentos tradicionais do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) com os esteróis vegetais. O outro designado por margarina. Por definição as margarinas são produtos apresentados sob a forma de emulsão sólida e maleável, do tipo água em óleo, que conserva uma consistência sólida a uma temperatura de 20°C e pode ser untada e cujo conteúdo em matéria gorda de origem láctea não ultrapassa os 3%. Estes produtos estão enriquecidos com esteróis vegetais (7,5%) e apresentam um teor de matéria gorda inferior a 39% (REGULAMENTO (CE) 1234/2007).

### **2. Caraterização da Amostra**

Este estudo envolveu a realização de dois tipos de inquéritos de resposta fechada e aberta, aplicados de forma aleatória a uma amostra de indivíduos que efetuava as suas compras em hipermercados da cidade de Viseu.

Foram realizados 1154 inquéritos a indivíduos que faziam as suas compras, sendo 577 relativos aos iogurtes enriquecidos com fitoesteróis e 577 acerca das margarinas enriquecidas com os mesmos compostos, durante os meses de Agosto de 2012, Setembro de 2012 e Janeiro de 2013.

### **3. Inquéritos**

A informação presente no inquérito relativo aos iogurtes enriquecidos com fitoesteróis é composto por 11 questões (Anexo I), já o inquérito acerca das margarinas tem menos uma questão (Anexo II). As questões colocadas nos inquéritos referem-se no ponto 3.

### **3. Variáveis de estudo**

No decorrer do presente estudo, foram avaliadas as seguintes variáveis (Anexo I e Anexo II):

1. Hábitos de consumo (consumo e frequência);
2. Motivação (o que os levava ao consumo deste tipo de produtos);
3. Facilidade de acesso;
4. Preferências (no caso do iogurte se preferiam natural ou com sabores);
5. Hipercolesterolemia (existência, percepção do efeito e consumo de medicamentos).

### **4. Análise Estatística**

Os dados recolhidos foram analisados através do software SPSS, versão 20.0.

- Foram realizadas análises descritivas e de frequência com o objetivo de interpretar, analisar e agrupar os dados recolhidos e apresentar os resultados de uma forma mais resumida e fácil de interpretar.
- Foi utilizado o Teste de Chi-quadrado: relação entre variáveis para medir a probabilidade de as diferenças encontradas nas duas variáveis da amostra serem devidas ao acaso, isto partindo do pressuposto de que não há diferenças entre as duas variáveis em estudo. Se esta probabilidade for alta pode concluir-se que não existem diferenças estatisticamente significativas. Se a probabilidade for baixa (menor que 5%) pode existir diferenças estatisticamente significativas.

Nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## CAPITULO 2 – RESULTADOS

Os resultados obtidos no nosso estudo permitiram caracterizar os hábitos de consumo de uma amostra da população de Viseu no que diz respeito ao consumo de alimentos enriquecidos com fitoesteróis.

### 1. Caracterização da amostra inquirida por género e por escalão etário

A amostra de indivíduos que incluíram este estudo é composta por 577 inquiridos sobre a possibilidade de comprar/consumir leite fermentado magro enriquecido com fitoesteróis (iogurte), sendo que destes 392 (67,9%) são do sexo feminino e 185 (32,1%) do sexo masculino (figura 4). De igual modo também se inquiriram 577 indivíduos sobre o consumo e compra de margarina enriquecida com fitoesteróis. Os resultados obtidos sobrepõem os obtidos para o iogurte sendo, que nenhum dos indivíduos inquiridos consumia simultaneamente os 2 produtos.

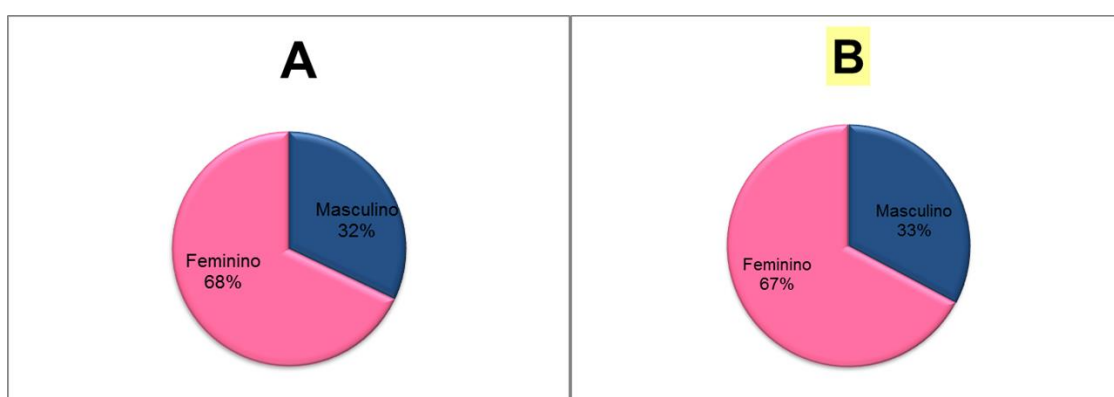


Figura 4: Caracterização global, por género da população inquirida, para o iogurte (A) e para a margarina (B)

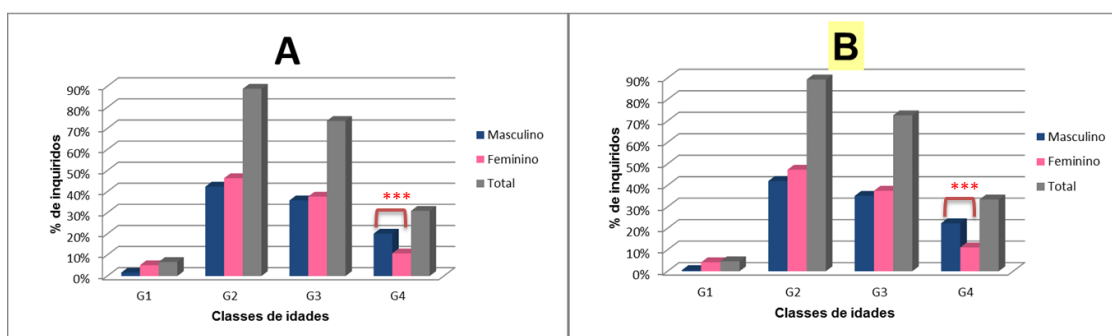
De modo a facilitar o tratamento dos dados, os inquiridos foram agrupados em quatro grupos etários: G1 – indivíduos com menos de 20 anos ( $G1 < 20$  anos); G2 – indivíduos dos 20 anos aos 40 anos ( $G2 \geq 20-40$  anos); G3 – indivíduos com idade superior a 40 anos até 65 anos ( $G3 \geq 40-65$  anos) e G4 – indivíduos com mais de 65 anos ( $G4 \geq 65$  anos).

A figura 5 mostra os hábitos de consumo para o iogurte (A) e para a margarina (B) de acordo com a idade e o género do inquirido.

Podemos constatar que a população inquirida sobre a possibilidade de consumir iogurte enriquecido com fitoesteróis (Figura 5A) apresenta-se distribuída maioritariamente pelos grupos G2 e G3 (45% e 37,1% respetivamente). A faixa etária superior a 65 anos G4 com 13,8% e os indivíduos com idade inferior a 20 anos (G1) tem uma representatividade muito baixa (4%). Quando dentro de cada faixa etária é feita a avaliação por sexo constata-se que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os dois sexos na distribuição pelos vários grupos de classes de idades. Sendo apenas esta diferença mais acentuada e significativa ( $p < 0,05$ ) no G4, em que existe um número maior de inquiridos do sexo masculino do que os do feminino, (20,0% e 10,8% respetivamente).

A observação da figura 5B evidência características da amostra inquirida sobre margarinas muito semelhantes às observadas no iogurte., Com efeito, também para a margarina a maior percentagem dos indivíduos inquiridos pertence ao G2 (262 inquiridos) e G3 (212 inquiridos) e a menor percentagem ao G1 (17 inquiridos) sem que exista diferença estatisticamente significativa entre o número de indivíduos por sexo. Apenas na faixa etária que compreende idades iguais ou superiores a 65 anos (G4) há diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) representando os inquiridos de sexo masculino 22,3% contra 11,1% do sexo feminino.

### DISTRIBUIÇÃO DOS INQUIRIDOS POR IDADE E POR GÉNERO



G1 < 20 anos; G2 ≥ 20 a 40 anos; G3 ≥ 40 a 65 anos; G4 ≥ 65 anos

Mulheres vs homens: Nível de significância considerado \*\*\* $p \leq 0,05$

Figura 5: Distribuição dos inquiridos por idade e por género relativamente ao iogurte (A) e à margarina (B)

## 2. Hábito de consumo de iogurte e de margarina de acordo com o género e o grupo etário

Os hábitos de consumo relativamente aos produtos em avaliação de acordo com o género estão refletidos na Tabela 3. Constata-se uma similitude de comportamento para os 2 produtos avaliados. Assim dos indivíduos inquiridos sobre o consumo de iogurte a maioria declarou não consumir (77,8%). Dos 22,2% de indivíduos que consomem o leite fermentado  $\pm 65\%$  são mulheres. De igual modo também para a margarina apenas 23,2% dos inquiridos declarou consumir os produtos destes a maioria era do sexo feminino (65,67%).

Tabela 3: Hábitos de consumo de iogurtes e margarinas por género

Género	Hábito de consumo			
	iogurte		Margarina	
	Não (n) (%)	Sim (n) (%)	Não (n) (%)	Sim (n) (%)
Feminino	309 68,8	83* 64,84*	300 67,72	88* 65,67*
Masculino	140 31,2	45 35,16	143 32,28	46 34,33

n=número de inquiridos, %=percentagem de inquiridos

Comparação de mulheres vs homens; nível de significância considerado  $p \leq 0,05$

Tanto para o iogurte como para a margarina as faixas etárias que declararam consumir tanto iogurte como margarina situam-se acima dos 20 anos, verificando-se um maior número de respostas positivas no G3 ( $\geq 40-65$  anos) e também para os indivíduos com mais de 65 anos (Tabela 3).

Tabela 4: Consumo dos produtos por grupos etários

Hábito de consumo	Iogurte				Margarina			
	Classes de idades				Classes de idades			
	G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
<b>Não</b>	20	228	155	44	17	231	154	40
<b>Sim</b>	3	31	59	35	0	31	58	45
	23	259	214	79	17	262	212	85

### 3. NÃO CONSUMIDORES

#### 3.1. Motivos de não consumo para o iogurte e a margarina por género e faixa etária

Considerando que a maioria dos inquiridos não consome os produtos inquiriu-se sobre alguns motivos que podem levar a esse não consumo. Apresentam-se aqui os resultados obtidos por género e faixa etária.

Na Figura 6 apresentam-se os diferentes motivos apontados pelos inquiridos para o não consumo de iogurte (A) e de margarina (B).

CAUSAS PARA O NÃO CONSUMO DE IOGURTE (A) E PARA NÃO CONSUMO DE MARGARINA (B)

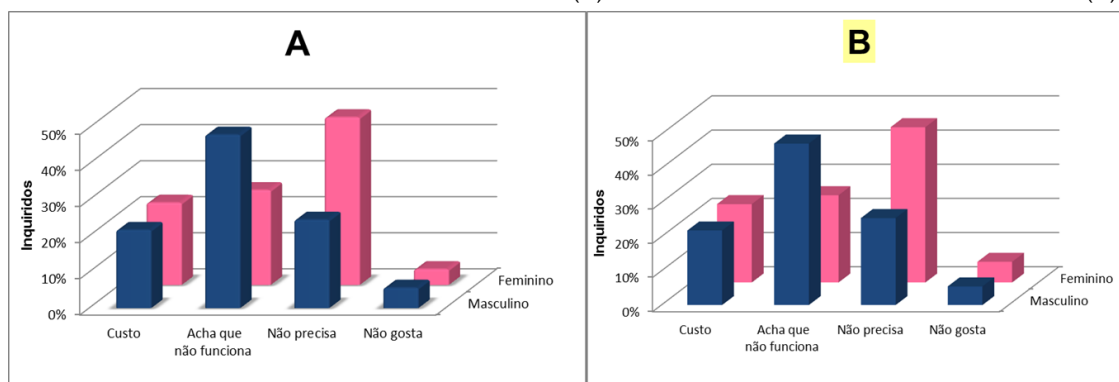


Figura 6: Motivos escolhidos para o não consumo de iogurte (A) e para o não consumo de margarina (B) de acordo com o género

Os inquiridos não consumidores embora com opiniões semelhantes relativamente aos produtos (iogurte e margarina) apresentaram algumas diferenças de opinião consoante o género. Enquanto que os homens apontaram como principal razão para o não consumo o facto de acharem que é um produto que não “funciona” (48,1% e 47,3% dos inquiridos respetivamente iogurte e margarina) as mulheres consideram que é por não necessitarem (46,5% e 45,5% das inquiridas respetivamente iogurte e margarina) (Figura 6). Só 26,3% das mulheres considera que não consome por achar que não tem efeitos. Relativamente ao fator custo e gostar ou não do produto não há diferenças relativamente ao género

A avaliação das causas de não consumo dos produtos (iogurte e margarina) de acordo com as faixas etárias mostrou resultados sobreponíveis. Assim no grupo dos mais jovens (G1 e G2) o principal motivo de não consumo é a alegação de que não precisam dos produtos. Já o G3 ( $\geq 40$  a 65anos), apontam dois principais motivos de não consumo: o custo e o facto de acharem que o produto não funciona. O G4 ( $\geq 65$  anos) apontou como principal motivo de não consumo o elevado custo que este produto apresenta.

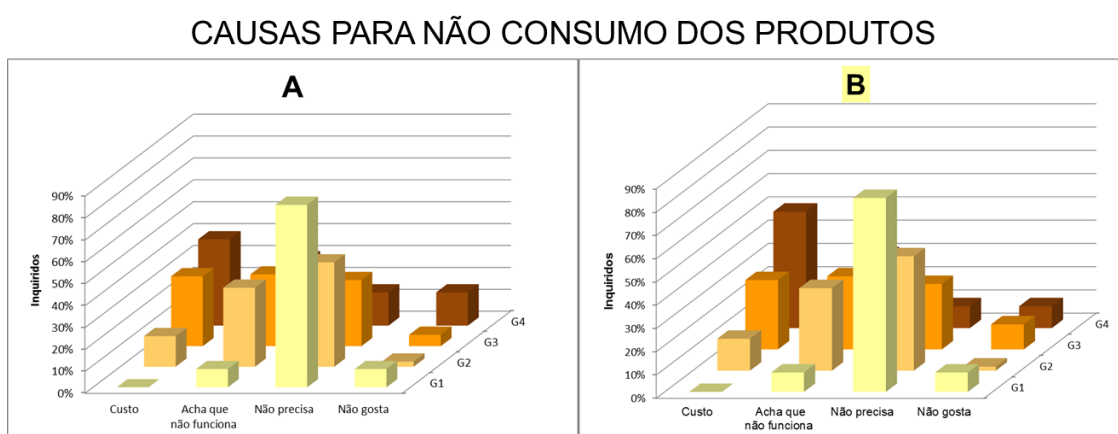


Figura 7: Causas para não consumo do iogurte (A) e da margarina (B) consoante os grupos etários

### 3.2. Colesterol total e não consumo

No inquérito realizado foram questionados os indivíduos sobre se apresentam ou não colesterol elevado, considerando-se como colesterol

elevado valores acima de 190 mg/dL. Os inquiridos que disseram não consumir os produtos (iogurte e margarina) referiram possuir valores normais de colesterol (aproximadamente 74%). Verificou-se também que a maior parte dos inquiridos estava atento ao seu valor de colesterol total visto que apenas 1,2% dos inquiridos não consumidores desconhecia o seu valor (Tabela 5).

Tabela 5: Informação sobre colesterol elevado nos não consumidores inquiridos

<b>Colesterol Total elevado</b>				
	Sim	Não	Não sei	Total
	(n)	(n)	(n)	(n)
	(%)	(%)	(%)	(%)
<b>logurte</b>	83	246	5	334
	24,9	73,7	1,4	100,0
<b>Margarina</b>	86	251	4	341
	25,2	73,6	1,2	100,0

## 4. CONSUMIDORES

### 4.1. Colesterol elevado e consumo, caracterização em função do género e escalão etário

À pergunta sobre se tem ou não colesterol elevado no grupo dos inquiridos consumidores as respostas mostraram que apenas 1 dos inquiridos desconhecia o seu valor de colesterol (Tabela 6). A maioria dos inquiridos referiu ter valores de colesterol elevados (72% e 74,4% dos inquiridos respetivamente iogurte e margarina) (Tabela 6) não se verificando diferenças estatisticamente significativas relativamente às respostas dadas por indivíduos de sexo masculino ou do sexo feminino (Figura 8). A avaliação da incidência de respostas positivas de presença de colesterol total elevado consoante o escalão etário vem de encontro ao esperado e surgindo a maior percentagem de inquiridos com colesterol elevado (93,5%) para os indivíduos com idades  $\geq 65$  anos (G4), seguindo-se o G3 (75,0%) e finalmente os mais jovens de idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos (G2) (27,8%) (Figura 9).

Tabela 6: Informação sobre colesterol elevado nos consumidores inquiridos

Colesterol Total elevado				
	Sim	Não	Não sei	Total
	(n)	(n)	(n)	(n)
	(%)	(%)	(%)	(%)
<b>iogurte</b>	67	26	0	93
	72,0	28,0	0	100,0
<b>Margarina</b>	64	21	1	86
	74,4	24,4	1,2	100,0

### NÍVEIS DE COLESTEROL DOS CONSUMIDORES POR GÉNERO

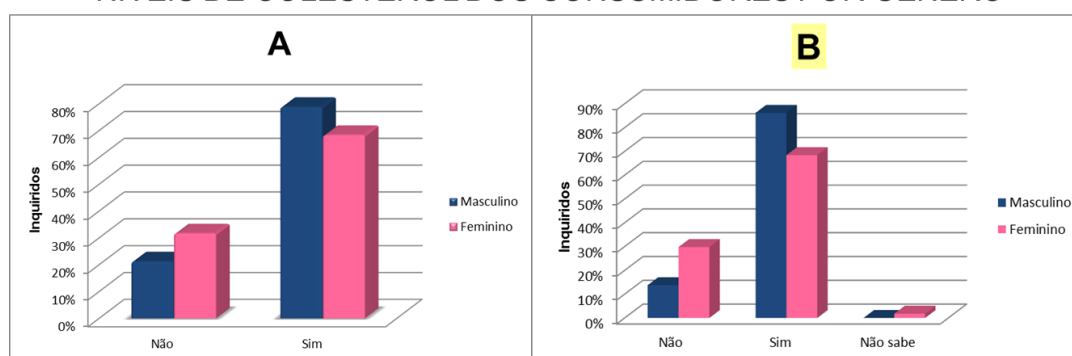


Figura 8: Influência dos níveis de colesterol por género no iogurte (A) e na margarina (B)

### NÍVEIS DE COLESTEROL NOS CONSUMIDORES POR CLASSES DE IDADES

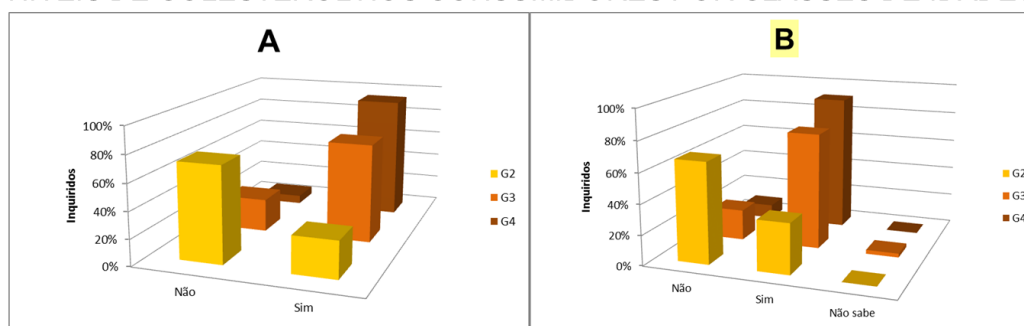


Figura 9: Influência dos níveis de colesterol por classes de idades no iogurte (A) e na margarina (B)

## 4.2. Facilidade em encontrar este tipo de produtos

Os inquiridos consideraram ser fácil obter os produtos (iogurte e margarina) como se observa na Figura 10.



Figura 10: Facilidades dos consumidores encontrarem o iogurte (A) e a margarina (B)

## 4.3. Preferência: caso particular do iogurte

Questionou-se a amostra de consumidores do iogurte sobre o facto de preferir este produto “natural” ou com “sabores”. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 11. Pode ver-se que a maioria dos consumidores (77,%) declarou preferir este produto aromatizado não havendo diferença estatisticamente significativa entre as respostas dadas pela população masculina e feminina.

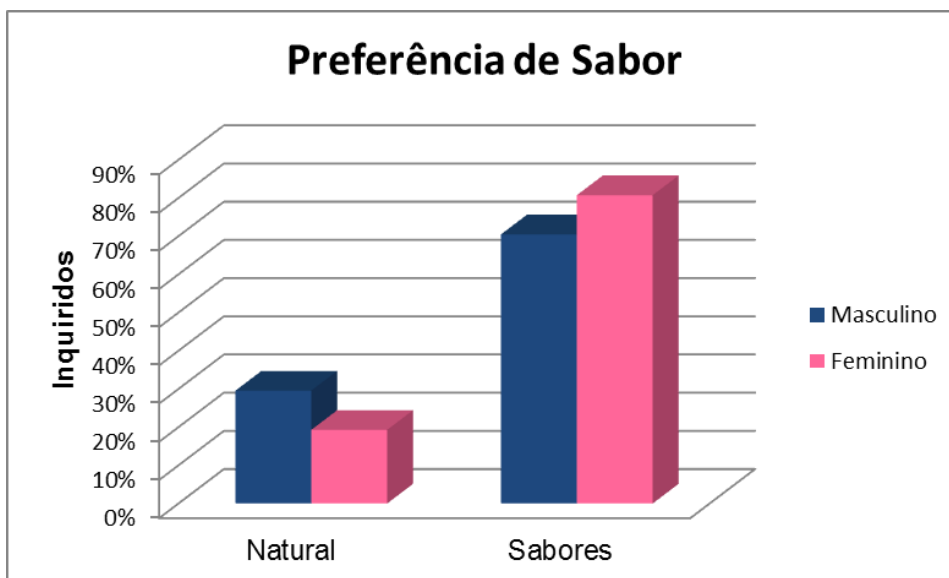


Figura 11: Preferência de sabor por gênero no iogurte

#### 4.4. Frequência de consumo de iogurte e margarina

Relativamente à frequência de consumo dos produtos (Figura 12) verifica-se que 68,% dos inquiridos afirmou consumir os produtos 1 vez por dia havendo apenas 2,3% de indivíduos que consomem iogurte ou margarina mais de 2 vezes por dia. Existe também uma percentagem de indivíduos (28,7%) que consome os produtos menos de uma vez por dia (Figura 12).

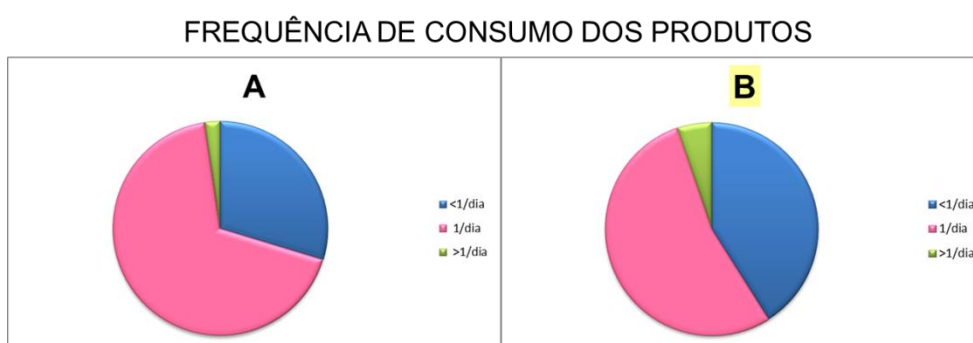


Figura 12: Frequência de consumo do iogurte (A) e da margarina (B)

#### 4.5. Consumo de medicamentos nos consumidores de iogurte e margarina enriquecidos com fitoesteróis

Não existe diferença estatisticamente significativa, nem no grupo dos inquiridos consumidores de iogurte nem nos consumidores de margarina (Figura13).

##### CONSUMO DE MEDICAMENTOS NOS CONSUMIDORES DOS PRODUTOS



Figura 13: Consumo de medicamentos no iogurte (A) e na margarina (B)

A análise do grupo de medicados mostra, como seria expectável um aumento do consumo de medicamentos com a idade tanto para o grupo iogurte como para o grupo margarina. Como podemos verificar na Figura 14 são os indivíduos com idades superiores a 40 anos que referem a toma de medicamentos (G3 e G4).

##### CONSUMO DE MEDICAMENTOS NOS CONSUMIDORES POR CLASSES DE IDADES

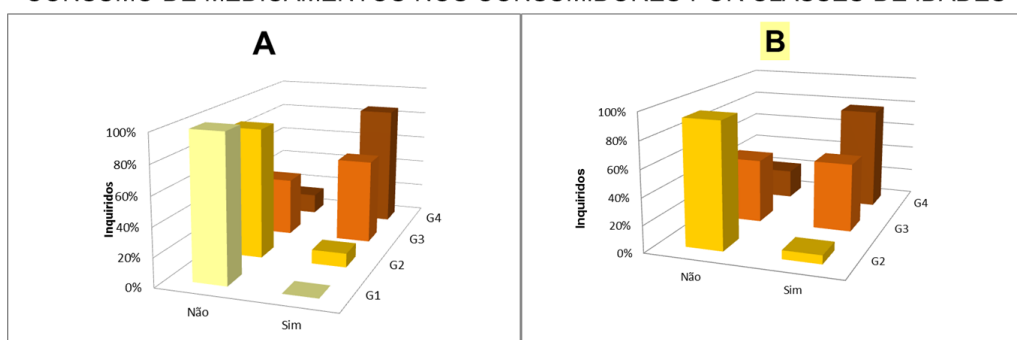


Figura 14: Consumo de medicamentos no iogurte (A) e na margarina (B) por classes de idades

## 4.6. Percepção dos benefícios face ao consumo

### 4.6.1. Efeito no colesterol dos consumidores de iogurtes enriquecidos com fitoesteróis por género e escalão etário

Quando os consumidores foram inquiridos sobre se observam efeitos benéficos a nível dos valores de colesterol a maioria (62,2% para o iogurte e 64,1 para a margarina) declarou observar um efeito positivo (Figura 15). Relativamente à alegação de benefícios para a diminuição do colesterol 72,7% e 73,9% dos indivíduos do sexo masculino referiram efeito positivo no consumo respetivamente de iogurte e de margarina face aos 56,6% e 58,8% relatados pelo sexo feminino ( $p \leq 0,05$ ). Constata-se ainda, que a referência ao benefício aumenta significativamente com a idade quer para o iogurte, quer para a margarina ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 16).

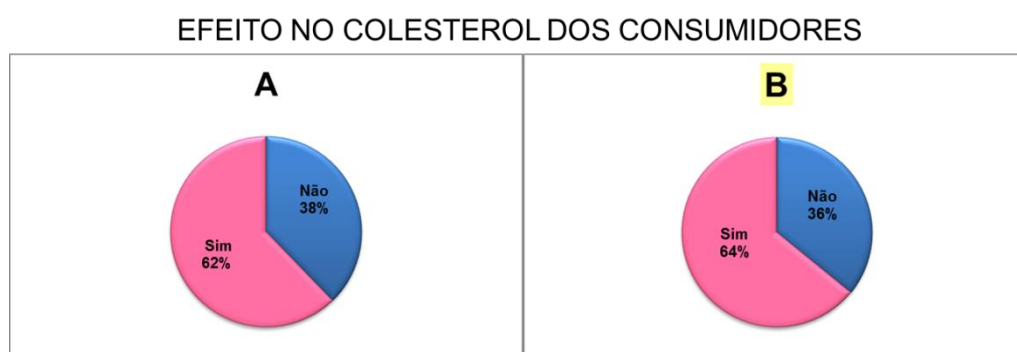


Figura 15: Efeito no colesterol nos consumidores de iogurte (A) e margarina (B)

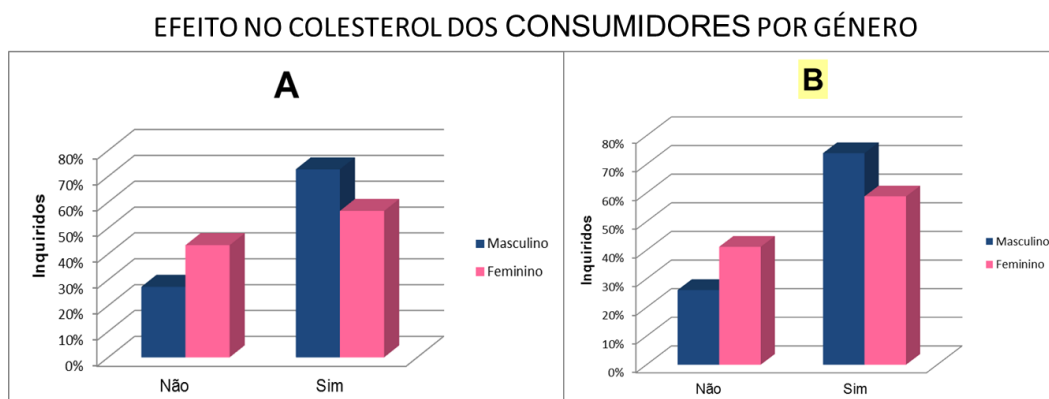


Figura 16: Efeito no colesterol dos consumidores de iogurte (A) e de margarina (B) por género

## **CAPITULO 3 – DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

---

No desenvolvimento do presente estudo tivemos em mente fazer uma avaliação preliminar de hábitos de consumo de leites magros fermentados e de margarinas enriquecidas com fitoesteróis. Desenvolvemos um inquérito e aplicámo-lo a uma população escolhida aleatoriamente num hipermercado de Viseu. Não encontramos estudos semelhantes realizados em Portugal pelo que para a discussão dos resultados tivemos que recorrer a estudos realizados noutros países.

Embora tratando-se de produtos diferentes e de inquiridos diferentes as respostas obtidas foram muito semelhantes para o iogurte e para a margarina pelo que optamos por discuti-los em conjunto.

A utilização de questionários permite uma vasta recolha de dados, obtida a partir de um número significativo de indivíduos. Tratando-se de um estudo preliminar optou-se por utilizar maioritariamente perguntas de resposta fechada por ser mais fácil a sistematização e o tratamento estatístico. Para além disso a escolha de questionários como instrumento de inquirição apresenta a possibilidade de uma maior sistematização dos resultados fornecidos, facilidade de análise, redução do tempo e menor custo. É evidente que reconhecemos algumas dificuldades, nomeadamente ao nível da conceção.

A amostra é constituída por uma população maioritariamente feminina com idades compreendidas entre os 20 e os 65 anos enquadrando-se 82% dos inquiridos nesta faixa etária. Existe uma percentagem reduzida de indivíduos com 65 anos ou mais sendo a faixa etária abaixo dos e 20 anos muito pouco expressiva.

Como os inquéritos foram realizados junto da população que fazia compras no supermercado e hipermercado, a população inquirida tem tendência para ser do sexo feminino, uma vez que são as mulheres que maior parte das vezes fazem as compras. Este fato vai de encontro ao constatado por Ferrão (2012) no seu estudo sobre perceção de consumidores portugueses sobre alimentos funcionais. Também é normal que a maior parte dos inquiridos estejam

integrados nas classes de idades dos 20 até aos 65 anos, pois é essa a população ativa, logo a que tem maior poder de compra.

A maior parte da população inquirida (77-78%) não consome iogurtes nem margarinas enriquecidas com esteróis vegetais. Os principais motivos apontados variaram de acordo com os grupos etários e com o género. Se os homens parecem desacreditar na possibilidade do produto as mulheres indicam em primeiro lugar o facto de não necessitarem.

O parâmetro gosto parece não apresentar significado, já o fator custo parece ser o principal motivo para não consumo na faixa etária acima dos 65 anos. Estes fatores parecem estar de acordo com o fato de as mulheres terem uma maior preocupação com a saúde e também de o fato de a faixa etária mais elevada por ter rendimentos mais baixos ter uma preocupação maior com o custo do produto. Com efeito, a variável preço no mercado dos produtos funcionais assume um papel importante na medida em que o seu preço é superior ao dos alimentos tradicionais (Roberfroid, 2002). Considerando que o poder aquisitivo é função de diferentes fatores como a poupança, o rendimento e os preços é natural que face aos acontecimentos económicos os consumidores se vejam obrigados a repensar as prioridades de consumo. Dos indivíduos não consumidores apenas 25% declarou ter níveis de colesterol superiores a 190mg/dL.

Um estudo realizado em Espanha (2008) e que interpretava os dados observados em 38 países europeus mostrou que são cada vez mais os consumidores a adquirir alimentos funcionais porém o consumo desses alimentos é menos frequente na Europa que nos países americanos. O consumo de margarinas enriquecidas com esteróis nos países da América Latina é de quase 55% da população inquirida.

Relativamente aos consumidores da nossa amostra, verifica-se um aumento do consumo dos produtos com a idade sendo o consumo feito maioritariamente a partir dos 40 anos quer por homens quer por mulheres. Na verdade, este perfil de consumo está de acordo com o aumento do aparecimento de patologias nomeadamente cardiovasculares e as preocupações com a saúde. Esta preocupação com a saúde é aliás comum no

grupo de consumidores quer pelos que relatam ter colesterol elevado quer pelos que dizem não ter. Estes últimos alegam ingerir o alimento como preventivo. Quando questionados sobre a eficácia dos produtos a maioria dos consumidores (62%) declarou notar efeitos positivos. Para além disso aproximadamente 50% dos consumidores declarou estar sob terapêutica dislipidemiante. É cada vez mais frequente a utilização de fármacos para controlar os níveis de colesterol e não podemos esquecer que 70% da população portuguesa tem colesterol elevado. Estudos efetuados têm mostrado que a associação de fármacos dislipidemiantes com alimentos enriquecidos em fitoesteróis parece apresentar um efeito aditivo na redução dos níveis de colesterol total e de colesterol LDL, diminuindo desta forma os riscos inerentes à *hipercolesterolemia*. Para além disso, apresenta vantagens relativamente à monoterapia permitindo uma redução da dose de fármaco utilizada (Eussen et al., 2011)

A frequência de consumo dos produtos é, em maior percentagem, de uma vez por dia (68%) embora 28,7% dos consumidores tenham declarado consumir os produtos menos de uma vez/dia. Os resultados obtidos mostram que a maioria dos consumidores ingere, para o iogurte, a dose considerada eficaz (1 a 3 g de fitoesteróis/dia) já para a margarina não foi quantificado no nosso inquérito a quantidade consumida mas apenas o número de vezes que se consome. Neste caso o número de consumidores de margarina mais de uma vez por dia é muito semelhante ao que consome o produto apenas uma vez correspondendo provavelmente ao número de vezes que os indivíduos ingerem pão.

Os consumidores dos produtos foram unânimes em reconhecer a facilidade de acesso ao produto. Com efeito a rede de distribuição e comercialização dos hipermercados onde foi feito o inquérito proporciona uma boa acessibilidade aos alimentos funcionais em análise. De referir ainda que estes se encontram devidamente assinalados no respetivo setor.

## **CAPITULO 4 – CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

O presente trabalho contribuiu para o conhecimento sobre a forma como os consumidores de Viseu percebem os alimentos enriquecidos com fitoesteróis.

Embora tratando-se de dados preliminares, podemos concluir que o consumo de alimentos enriquecidos com fitoesteróis resulta da preocupação crescente da população com a saúde, que o seu consumo está relacionado com a percepção efeito potencialmente positivo sobre o colesterol, contudo sobre o ponto de vista tecnológico parece ser importante melhorar o sabor e diminuir o custo destes alimentos.

Ao longo dos últimos anos foi possível verificar que existe cada vez mais uma maior preocupação com a saúde, assumindo deste modo os alimentos funcionais um papel para a promoção da saúde e melhoria da doença.

Há um novo tipo de consumidor no mercado: mais informado e mais consciente, preocupado com a saúde e capaz de alterar os hábitos de compra no sentido de procurar alimentos saudáveis. O aumento da prescrição farmacológica, aliada ao receio dos possíveis efeitos secundários leva os consumidores a procurar soluções mais naturais.

O maior benefício que os alimentos enriquecidos com esteróis vegetais pode trazer é o impacto positivo na evolução das doenças cardiovasculares mais concretamente na doença cardiovascular aterosclerótica, o qual pode traduzir-se numa diminuição dos custos associados ao seu tratamento. Por outro lado, tendo em conta o aumento da longevidade da população, tal pode incluir o aumento da carga económica associada a este tipo de problemas, daí ser importante uma avaliação correta dos benefícios que estes alimentos podem trazer.

Há ainda muito a fazer. A maioria dos inquiridos não consome estes produtos sendo o seu custo elevado o motivo apontado pela faixa etária com maiores problemas de saúde. De salientar a nossa experiência mostrou que nem sempre os rótulos são muito claros nomeadamente no limite de dose diária. Há

pois que tentar corrigir/atenuar este factos insistindo sempre na necessidade de dieta equilibrada e de exercício físico

O presente trabalho pretendeu explorar um terreno novo e, contribuir de alguma forma, para um esclarecimento da atitude da população face a um nicho de mercado emergente e específico. Naturalmente que no fim deste percurso cumpre-nos assinalar algumas limitações. Para futuras investigações sugere-se a introdução de outras questões no questionário como o conhecimento das fontes de informação sobre os produtos, a identificação do grau de instrução dos inquiridos. Embora tendo sido do ponto de vista pessoal e académico um processo enriquecedor, a análise agora efetuada constitui apenas uma primeira abordagem pelo que não pode ser considerada um fim mas apenas a primeira etapa de uma investigação a ser aprofundada em trabalhos futuros.

***PARTE III***

***BIBLIOGRAFIA E ANEXOS***

## IX. BIBLIOGRAFIA

- AbuMweis SS, Barake R, Jones PJH. *Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials*. Food Nutr Res. 2008;52, 1-47
- AbuMweis SS, Vanstone CA, Ebine N, Kassis A, Ausman LM, Jones PJH, et al. *Intake of a Single Morning Dose of Standard and Novel Plant Sterol Preparations for 4 Weeks Does Not Dramatically Affect Plasma Lipid Concentrations in Humans*. The Journal of Nutrition. 2006; 136:1012-16
- Andersson, SW, Skinner, J, Ellegard, L. y cols. *Intake of dietary plant sterol is inversely related to serum cholesterol concentration in men and women in the EPIC Norfolk population: A cross-sectional study*. Eur J Clin Nutr 2004.
- Awad, AB, Smith, AJ, Fink, CS. *Plant sterols regulate rat vascular smooth muscle cell growth and prostacyclin release in culture*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2001; 64: 323-330.
- Ayesh, R, Weststrate, JA, Drewitt, PN, Hepburn, PA. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 5. *Faecal short-chain fatty acid and microflora content, faecal bacterial enzyme activity and serum female sex hormones in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine*. Food Chem Toxicol 1999; 37: 1127-1138.
- Baker, VA, Hepburn, PA, Kennedy, SJ. Y cols. *Safety evaluation of phytosterol esters. Part 1. Assessment of estrogenicity using a combination of in vivo and in vitro assays*. Food Chem Toxicol 1999; 37: 13-22.
- Bean GA. Phytosterols. Ads Lipid Res 1973;11:193-218
- Berge, KE, Tian, H, Graf, GA. Y cols. *Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters*. Science 2000; 290: 1771-1775.

- Blair, SN, Capuzzi, DM, Gottlieb, SO, Nguyen, T, Morgan, JM, Carter, NB. *Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy.* Am J Cardiol 2000; 86: 46-52.
- Blair, SN, Capuzzi, DM, Gottlieb, SO, Nguyen, T, Morgan, JM, Cater, NB. *Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy.* Am J Cardiol 2000; 86: 46-52.
- Bouic, PJ, Clark, A, Lamprecht, J. y cols. *The effects of of B-sitosterol (BSS) and sitosterol glucoside (BSSG) mixture on selected immune parameters of marathon runners: Inhibition of post marathon immune suppression and inflammation.* Int J Sports Med 1999; 20: 258-262.
- CE. Commission Regulation (EC) No 608/2004 of 31 March 2004 concerning the labeling of foods and food ingredients with added phytosterols, phytosterol esters, phytostanols and/or phytostanol esters. Off J Eur Communities 2004. L97: 44-45.
- Chadwick, R y cols. *Funcional foods.* Springer-Verlag. Berlin, 2003; 218.
- Clifton, P. M., M.Noakes, D.Sullivan, N. Erichsen, D.Ross, G.Annison, A.Fassoulakis, M.Cehun and P.Nestel. *Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters differ in milk, yoghurt, bread and cereal,* 2004.
- *Codex Alimentarius* 1991. *Second Edition. Codex Guide-lines on Claims.* (CAC/GL 1-1979, rev 1-1991). Geneva. WHO.
- Confederacion Espanola de Amas de Casa, Consumidores y Usuarios (CEACCU) (2008), Informe sobre declaraciones de salud en las etiquetas de los alimentos. Em <http://www.ceaccu.org/Notas-de-prensa/Resumen-de-prensa.html>. Consultado em: de acceso: 14-02-2013
- Dawson, PA, Rudel, LL. *Intestinal cholesterol absorption.* Curr Opin Lipidol 1999; 10:315-320.
- De Jong, A, Plat, J, Mensink, RP, *Metabolic effects of plant sterols and stanols (review).* J Nutr Biochem 2003; 14:362-369.
- De Jong, A, Plat, J, Mensink, RP. *Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review).* J Nutr Biochem 2003; 14: 362-369.

- Department of Health and Human Services, F.D.A., *Food labeling*. 101.83. *Health claims: Plant sterol/stanol esters and risk of coronary heart disease (CHD) Code of Federal Regulations*, 2002; 21 (Ch 1): 146-149.
- Devaraj S., A.B., Jialal I.2006. *Reduced-calorie orange juice beverage with plant sterols lowers C-reactive protein concentrations and improves the lipid profile in human volunteers*. *Am J Clin Nutr*. 84:756-761.
- Devaraj S., J.I.2006. *The Role of Dietary Supplementation with Plant Sterols and Stanols in the Prevention of Cardiovascular Disease*. *Nutr Rev*.2006, 64(7): 348-354.
- Duan, LP, Wang, HH, Wang, DQ. *Cholesterol absorption is mainly regulated by the jejunal and ileal ATP-binding cassette sterol efflux transporters Abcg5 and Abcg8 in mice*. *J Lipid Res* 2004; 45: 1312-1323.
- E. M. Lars Bastiaanse, K. M. Höld, A. V. der Laarse, *Cardiovascular Res*. 33 (1997) 272.
- E.A. Trautwein, G.S.M.J.E. Duchateau, Y.Lin, S.M. Mel'nikov, H.O.F. Molhuizen, F.Y. Ntanios, *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 105 (2003) 171.
- EC, *Regulation (EC) No. 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel ingredients*. *Off J Eur Communities* 1997. L43: 1-7.
- EC. COMMISSION REGULATION (EC) No 608/2004 of 31 March 2004 *concerning the labeling of foods and food ingredients with added phytosterol, phytosterol esters, phytostanols and/or phytostanol esters*. *Off J Eur Communities* 2004; L 97: 44-45.
- EC. *Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the approximation of laws of the Member States relating to food supplements*. *Off J Eur Communities* 2002; L183: 51-57.
- EC. *Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council on nutrition and health claims made on foods*. Brussels, 16.7.2003 COM (2003) 424 final 2003.
- EC. *Regulation (EC) No. 248/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients*. *Off J Eur Communities* 1997; L43: 1-7.

- EEC. *Council Directive 90/496/EED of 24 September 1990 on nutrition labeling for foodstuffs. Off J Eur Communities 1990. L276; 40-44.*
- EEC. *Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labeling, presentation and advertising of foodstuffs. Off J Eur Communities 2000. L109: 29-42.*
- European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) *European Heart Journal (2012) 33, 1635–1701*
- Fransen H, Jong Nd, Wolfs M, Verhagen H, Verschuren WMM, Lütjohann D, et al. *Customary Use of Plant Sterol and Plant Stanol Enriched Margarine Is Associated with Changes in Serum Plant Sterol and Stanol Concentrations in Humans. The Journal of nutrition. 2007; 137:1301-06.*
- Ginter, E. *The epidemic of cardiovascular disease in Eastern Europe. N Engl J Med 1997; 336: 1915-1916.*
- Goldberg AC, Ostlund, Jr RE, Bateman JH, Schimmoeller L, McPherson TB, Spilburg CA. *Effect of plant stanol tablets on low density lipoprotein cholesterol lowering in patients on statin drugs. Am J Cardiol 2006;97: 376-9.*
- Gould, AL, Rossouw, JE, Santanello, NC, Heyse, JF, Furberg, CD. *Cholesterol reduction yields clinical benefit: Impact of statin trials. Circulation 1998; 97: 946-952.*
- Gylling, H, Miettinen, TA, *Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolaemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. Diabetologia 1994; 37:773-780.*
- Gylling, H, Puska, P, Vartiainen, E, Miettinen, TA. *Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. J Lipid Res 1999; 40: 593-600.*
- H. E. Bays, P.B. Moore, M.A. Dreihobl, S. Rosenblatt, P.D. Toth, *Clin. Ther. 23 (2001) 1209.*
- H. Ohvo-Rekilä, B. Ramstedt, P. Leppimäki, J.P. Slotte, *Progress Lipid Res. 41 (2002) 66.*

- Hallikainen, MA, Sarkkinen, ES, Gylling, H, Erkkila, AT, Uusitupa, MI. *Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet.* Eur J Clin Nutr 2000; 54: 715-725.
- Hallikainen, MA, Sarkkinen, ES, Uusitupa, MI. *Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men women in a dosedependent manner.* J Nutr 2000; 130: 767-776.
- Hallikainen, MA, Uusitupa, MI. *Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part a low- fat diet in hypercholesterolemic subjects.* Am J Clin Nutr 1999; 69: 403-410.
- Health Canada advises that Becel Pro-activ not approved for sale (advisory). Ottawa: Health Canada. 2001.
- Hendriks, HF, Brink, EJ, Meijeer, GW, Princen, HM, Ntanios, FY. *Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread.* Eur J Clin Nutr 2003; 57: 681-692.
- Hendriks, HF, Westrate, JA, van Vliet, T, Meijer, GW. *Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects.* Eur J Clin Nutr 1999; 53: 319-327.
- Hepburn, PA, Horner, SA, Smith, M. *Safety evaluation of phytosterol esters. Part 2. Subchronic 90-day oral toxicity study on phytosterol esters – a novel functional food.* Food Chem Toxicol 1999; 37: 521-532.
- Hicks, KB, Moreau, RA. *Phytosterols and phytostanols: Functional food cholesterol busters.* Food Technology 2001; 55: 63-67.
- Howell, TJ, MacDougall, DE, Jones, PJ. *Phytosterols partially explain differences in cholesterol metabolism caused by corn or olive oil feeding.* J Lipid Res 1998; 39: 892-900.
- J. D. Connolly, R. A. Hill, B. V. Banthorpe (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry*, 7, Academic Press, London, 1991, p. 331.
- J. L. Goad, B. V. Charle wood, D. V. Banthorpe (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 7, Academic Press. London, 1991, p. 369.

- Jones, PJ, Raeini-Sarjaz, M, Ntanios, FY, Vanstone, CA, Feng, JY, Parsons, WE. *Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters*. J Lipid Res 2000; 41: 697-705.
- Jong, A., J. Plat and R.P. Mensink. *Metabolic effects of plant sterols and stanols*. J. Nutr. Biochem 2003; 14:362-369.
- K. Bloch, in: D.E. Vance, J.E. Vance (eds.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, series New Comprehensive Biochemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1991 (chapter 20).
- Katan M, Grundy S, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R and Stresa Workshop Participants: *Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels*. Mayo Clin Proc 2003;78: 965-78.
- Kwiterovich PO Jr, Chen SC, Virgil DG, Schweitzer A, Arnold DR, Kratz LE. *Response of obligate heterozygotes for phytosterolemia to a low-fat diet and to a plant sterolester dietary challenge*. Journal of Lipid Research. 2003; 44:1143-55
- Kwiterovich, PO, Jr. *The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review*. Am J Cardiol 2000; 86(12A):5L-10L.
- Lau VW, Journoud M, Jones PJ. *Plant sterols are efficacious in lowering plasma LDL and non-HDL cholesterol in hypercholesterolemic type 2 diabetic and nondiabetic persons*. Am J Clin Nutr. 2005;81(6):1351-8.
- Law, M. 2000. *Plant sterol and stanol margarines and health*. Br. Med. J. 320:861-864. R.E. Ostlund Jr., Annu. Rev. Nutrition 22 (2002) 533.
- Law, MR, Wald, NJ, Thompson SG. *By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart diseases?* BMJ 1994; 308: 367-372.
- Leikin, AI, Brenner, RR. *Fatty acid desaturase activities are modulated by phytosterol incorporation in microsomes*. Biochim Biophys Acta 1989; 1005: 187-191.
- Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, et al. *Summary of American Heart Association Diet and Lifestyle Recommendations Revision*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26:2186-2191.

- Lichtenstein AH, Deckelbaum RJ *for the American Heart Association Nutrition Comitee. Stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels. A statement for health professsionals from the nutrition Comitee, American Heart Association. Circulation* 2001; 103:1177-1179.
- Ling, WH, Jones, PJ. *Enhanced efficacy of sitosterol-containing versus sitostanol-free phytosteril mixtures in altering lipoprotein cholesterol levels and synthesis in rats. Atherosclerosis* 1995; 118: 319-331.
- *Lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. Food Nutrit Research.* 2008;52, 1-47
- Madureira E. *Fitoesteróis e cholesterol, Revista Factores de Risco.* 2008, 8. 52-57.
- Maki, KC, Davidson, MH, Umporowicz, DM, y cols. *Lipid responses to plant-sterol-enriched reduced-fat spreads incorporated into a National Cholesterol Education Program Step I diet. Am J Clin Nutr* 2001; 74: 33-43.
- Miettinen T, Railo M, Lepantalo M and Gylling H: *Plant sterols in serum and in atherosclerotic plaques of patients undergoing carotid endarterectomy. J Am Coll Cardiol* 2005;45: 1794-801
- Miettinen T, Railo M, Lepantalo M and Gylling H: *Plant sterols in serum and in atherosclerotic plaques of patients undergoing carotid endarterectomy. J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1794-801.
- Miettinen TA, Strandberg TE, Gylling H. *Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: relation to basal serum cholestanol. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1340-6.
- Miettinen TA, Strandberg TE, Gylling H. *Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: relation to basal serum cholestanol. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1340-6.
- Miettinen, TA, Gylling, H. *Plant stanol and sterol esters in prevention of cardiovascular dieses. Ann Med* 2004; 36: 126-134.

- Moghadasian, MH. *Pharmacological properties of plant sterols in vivo and in vitro observations*. Life Sci 2000; 67:605-615.
- Moruisi KG, Oosthuizen W, Opperman AM. *Phytosterols/ stanols lower cholesterol concentrations in familial hypercholesterolemic subjects: a systematic review with meta-analysis*. J Am Coll Nutr 2006;25:41-8.
- Moureau RA, Whitaker BD, Hicks KB. *Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis and health-promoting uses*. Prog Lipid Res 2002;41:457-500
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. Circulation 2002;106:3143–3421
- Nigon, F, Serfaty-Lacrosniere, C, Beucler, I. *y cols. Plant sterol-enriched margarine lowers plasma LDL in hyperlipidemic subjects with low cholesterol intake: Effect of fibrate treatment*. Clin Chem Lab Med 2001; 39: 634-640.
- Noakes, M, Clifton, P, Ntanos, F, Shrapnel, W, Record, I, McInerney, J. *An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations*. Am J Clin Nutr 2002; 75: 79-86.
- Normen, AL, Beants, HA, Voorrips, LE, Andersson, HA, van den Brandt, PA, Goldbohm, RA. *Plant sterol intakes and collateral cancer risk in the Netherlands. Cohort Study on Diet and Cancer*. Am J Clin Nutr 2001; 74: 141-148.
- Normen, L., S.Bryngelsson, M.Johnsson, P.Evheden, L. Ellegard, H.Brants, H. Andersson and P.Dutts. *The phytosterol content of some cereal foods commonly consumed in Sweden and in the Netherlands*. J. Food Comp. Anal. 15:693-704.
- Ntanos, FY, Duchateau, GS. *A healthy diet rich in carotenoids is effective in maintaining normal blood carotenoid levels during the daily use of plant sterol-enriched spreads*. Int J Vitam Nutr Res 2002; 72: 32-39.

- O'Neill FH, Sanders TAB, Thompson GR. *Comparison of efficacy of plant stanol ester and sterol ester: short-term and longer-term studies*. Am J Cardiol 2005;96 (suppl):29D–36D.
- OMS: WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO/OMS). Preventing chronic disease: a vital investment: WHO global report Geneva: World Health Organization, 2011.
- O'Neill FH, Brynes A, Mandeno R, Rendell N, Taylor G, Seed M, Thompson GR. *Comparison of the effects of dietary plant sterol and stanol esters on lipid metabolism*. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2004; 14:133-42.
- Ortega R., P.A., Lopez-Sobaler A. *Improvement of cholesterol levels and reduction of cardiovascular risk via the consumption of phytosterols*. Br J Nutr. 2006; 96 Suppl 1:S89-93.
- Ostlund, R. *Phytosterols, cholesterol absorption and healthy diets*. Lipids. 2007 42(1):41-5.
- Ostlund, RE, Jr., McGill, JB, Zeng, CM. y cols. *Gastrointestinal absorption and plasma kinetics of soy Delta(5)-phytosterols and phytostanols in humans*. Am J Physiol Endocrinol Metab 2002; 282: E911-916.
- Ostlund, RE, Jr., Racette, SB, Okeke, A, Stenson, WF. *Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans*. Am J Clin Nutr 2002; 75: 1000-1004.
- Ottestad I, Ose L, Wenersberg MH, Granlund L, Kirkhus B, Retterstøl K. *Phytosterol capsules and serum cholesterol in hypercholesterolemia: a randomized controlled trial*. Atherosclerosis. 2013;228(2):421-5
- Palou A. El libro blanco de los esteroides vegetales en alimentación. Barcelona: Unilever Foods S.A.; 2005.
- Palou, A, Pico, C, Bonet ML. *Food Safety and Funcional Foods In The European Union. Obesity As A Paradigmatic Example For Novel Food Development*. Nutr Rev 2004; 62: S169-181.
- Palou, A, Serra, F, Pico, C. *General aspects on the assessment of funcional foods in the European Union*. Eur J Clin Nutr 2003; 57 (Suppl. 1): S12-17.

- Patel MD, Thompson PD. *Phytosterols and vascular disease*. *Atherosclerosis* 2006; 186:12-9.
- Piironen, V., J.Toivo and A.M.Lampi, 2000. *Natural sources of dietary plant sterols*. *J. Food Comp. Anal.* 2002; 13:619-624.
- Plat J., M.R. *Plant Stanol and Sterol Esters in the Control of Blood Cholesterol Levels: Mechanism and Safety Aspects*. *Am jCardiol.* 2005, 96 (suppl):15D-22D.
- Plat, J, Mensink, RP. *Effects of plant stanol esters on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase mRNA expression in mononuclear blood cells of healthy men and women*. *Faseb J* 2002; 16:258-260.
- Plat, J, Mensink, RP. *Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption*. *Fased J* 2002; 16: 1248-1253.
- Poli A, Marangoni F, Paoletti R, Mannarino E, Lupattelli G, Notarbartolo A, Aureli P, Bernini F, Cicero A, Gaddi A, Catapano A et al. *Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels*. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2008; 18:S1-S16
- AbuMweis SS, Barake R, Jones PJH. *Plant sterols/stanols as cholesterol*
- Pollak, OJ. *Reduction of blood cholesterol in man*. *Circulation* 1953; 7: 702-706.
- R. A. Moreau, B. D. Whitaker, K. B. Hicks, *Progress Lipid Res.* 41 (2002) 457.
- R. E. Ostlund Jr., *Annu. Rev. Nutrition* 22 (2002) 533.
- *Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)*. *Lancet* 1994; 344: 1383-1389.
- Rayner, M, Petersen, S. *European cardiovascular disease statistic 2000 edition*. *British Heart Foundation*. London, 2000.
- Repa, JJ, Berge, KE, Pomajzl, C, Richardson, JA, Hobbs, H, Mangelsdorf, DJ. *Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta*. *J Biol Chem* 2002; 277: 18793-18800.

- Roberfroid MB. *Global view on functional foods: European perspectives*. Br J Nutr. 2002; 88 Suppl 2:S133-8.
- Rodgers S. *Value adding with functional meals*, Food Service Technology. 2004, 4 (4), 149-158.
- Rozner S, Garti N. *The activity and absorption relationship of cholesterol and phytosterols*. Colloids and Surfaces A: Physiochem Eng. 2006; 282-283:435-56
- S.K. Kim, J.S. Rhee, *Sterols from soy oil deodorization*. Korean J. Food Sci. Technol. 14 (1982) 174.
- Sanders, DJ, Minter, HJ, Howes, D, Hepburn, PA. *The safety evaluation of phytosterol esters. Part 6. The comparative absorption and tissue distribution of phytosterols in the rat*. Food Chem Toxicol 2000; 38: 485-491.
- Santos J.; Plewka J, Brofman P- *Qualidade de Vida e Indicadores Clínicos na Insuficiência Cardíaca: Análise multivariada*. Arquivo Brasileiro Cardiologia. 2009, 93 (2): 159- 166.
- SCF. *General view of the Scientific Committee on Food on the long-term effects of the intake of elevated levels of phytosterols from multiple dietary sources, with particular attention to the effects on beta-carotene*. SCF/CS/NF/DOS/20 ADD 1 Final. 2002.
- SCF. *Opinion of the SCF on a request for the safety assessment of the use of phytosterol esters in yellow fat spreads*. SCF/CN/NF/DOS/1 Final, 2000.
- SCF. *Post launch monitoring of “yellow fat spreads with added phytosterol esters”*. SCF opinion 2002.
- Scientific-Committee-on-Food. *General view of the Scientific Committee on Food on the long-term effects of the intake of elevated levels of phytosterols from multiple dietary sources, with particular attention to the effects on beta-carotene*. SCF/CS/NF/DOS/20 ADD 1 Final 2002.
- Seppo L, Jauhiainen T, Nevala R, Poussa T, Korpela R. *Plant stanol esters in low-fat milk products lower serum total and LDL cholesterol*. Eur J Nutr 2007; 46:111-7.

- Sioen I, Matthys C, Huybrechts I, Van Camp J, De Henauw S. *Consumption of plant sterols in Belgium: estimated intakes and sources of naturally occurring plant sterols and  $\beta$ -carotene*. Br J Nutr. 2011; 105(6):960-6.
- Slesinski, RS, Turnbull, D, Frankos, VH, Wolterbeek, AP, Waalkens-Berendsen, DH. *Developmental toxicity study of vegetable oil-derived stanol fatty acid esters*. Regul Toxicol Pharmacol 1999; 29 (2 Pt 1): 227-233.
- Spence, J.T. *Challenges related to the composition of functional foods*. Journal of Food Composition and Analysis. 2006, 19 (Suppl. 1), S4-S6.
- Stalenhoef AFH, Hectors M, Demacker PNM. *Effect of plant sterol-enriched margarine on plasma lipids and sterols in subjects heterozygous for phytosterolaemia*. Journal of Internal Medicine 2001; 249:163-66
- Sullivan, F. *Complex approval process restrains phytosterol as functional food ingredient*. 2004. Em: <http://www.pharma.frost.com>. Consultado em: 25-02-2013.
- Thompson G., G.S. 2005. *History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes*. Am j Cardiol. 96 (suppl):3D-9D
- Turnbull, D, Whittaker, MH, Frankos, VH, Jonker, D. *13-week oral toxicity study with stanol esters in rats*. Regul Toxicol Pharmacol 1999; 29 (2 Pt 1): 216-226.
- Waalkens-Berendsen, DH, Wolterbeek, AP, Wijnands, MV, Richold, M, Hepburn, PA. *Safety evaluation of phytosterol esters. Part 3. Two-generation reproduction study in rats with phytosterol esters – a novel functional food*. Food Chem Toxicol 1999; 37: 638-696.
- Weingästner O, Lühmann D, Ji S, Weisshoff N, List F, Sudhop T, et al. *Vascular Effects of Diet Supplementation With Plant Sterols*. Journal of the American College of Cardiology. 2008; 51:1553-61
- Westrade, J.A.; G. Van Popel e P.M. Verschuren. *Functional foods, trends and future*. British Journal of Nutrition. 2002, 88 (Suppl 2), S233-S235.

- Weststrate, JA, Ayesh, R, Bauer-Plank, C, Drewitt, PN. Safety evaluation of phytosterol esters. Part 4. *Faecal concentrations of bile acids and neutral sterols in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine*. Food Chem Toxicol 1999; 37: 1063-1071.
- Whittaker, MH, Frankos, VH, Wolterbeek, AP, Waalkens-Barendsen, DH. Two-generation reproductive toxicity study of plant stanol esters in rats. Regul Toxicol Pharmacol 1999; 29 (2 Pt 1):1 96-204.

## **X. ANEXOS**

## ANEXO I

### Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

#### Inquérito

#### Avaliação Preliminar de consumo de iogurtes contendo esteróis vegetais

---

1. Sexo? M  F
2. Idade: \_\_\_\_\_
3. Consome este tipo de alimentos?  Não  Sim
- 3.1. Se não, qual o motivo?  Custo  Acha que não funciona  
 Não precisa  Não gosta.
4. Tem colesterol elevado?  Não  Sim  Não sei
5. Consome diariamente?  Não  Sim
- 5.1. Se sim:  1 por dia
6. Tem facilidade em encontrar?  Não  Sim
7. Como prefere:  Natural  Sabores
8. Nota que tem efeitos na redução do colesterol?  Não  Sim
9. Toma medicamentos para baixar o colesterol?  Não  Sim

## ANEXO II

### Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

#### Inquérito

#### Avaliação Preliminar de consumo de margarinas contendo esteróis vegetais

---

1. Sexo? M  F
2. Idade: \_\_\_\_\_
3. Consome este tipo de alimentos?  Não  Sim
- 3.1. Se não, qual o motivo?  Custo  Acha que não funciona  
 Não precisa  Não gosta
4. Tem colesterol elevado?  Não  Sim  Não sei
5. Consome diariamente?  Não  Sim
- 5.1. Se sim:  1 por dia
6. Tem facilidade em encontrar?  Não  Sim
7. Nota que tem efeitos na redução do colesterol?  Não  Sim
8. Toma medicamentos para baixar o colesterol?  Não  Sim