

Trabalho de investigação

**Desenvolvimento de uma fórmula de transição líquida,
à escala laboratorial**



**Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da
Universidade do Porto**

**Trabalho de investigação
Paulo Simão da Cunha Monteiro**

dezembro 2000

Trabalho de investigação

Desenvolvimento de uma fórmula de transição líquida,
à escala laboratorial

Abreviaturas

AA	Ácido araquidónico
AAP	American Academy of Pediatrics
ADA	American Dietetic Association
AG	Ácido gordo
AGE	Ácido gordo essencial
AGI	Ácido gordo insaturado
AGL	Ácido gordo livre
AGS	Ácido gordo saturado
BNF	British Nutrition Foundation
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
Cu	Cobre
DG	Diglicerídeos
DHA	Ácido docosahexaenóico
EPA	Ácido eicosapentaenóico
ESPGAN	European Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition
Fe	Ferro
HINS	The HEINZ Institute of Nutritional Sciences
I	Iodo
IBFAN	International Baby Food Action Network
ISSFAL	The International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids
K	Potássio
LA	Ácido linoleico
LCPUFA	Long-chain polyunsaturated fatty acid - ácido gordo polinsaturado de cadeia longa
LNA	Ácido α -linolénico
MG	Diglicerídeos
Mg	Magnésio
Mn	Manganésio
MUFA	Monounsaturated fatty acid - ácido gordo insaturado
NA	Sódio
NCIDH	The National Institute of Child Health and Human Development
P	Fósforo
PUFA	Polyunsaturated fatty acid - ácido gordo polinsaturado
Se	Selénio
TG	Triglicerídeo
Zn	Zinco

Índice

I_INTRODUÇÃO	1.
II_Material e métodos	6.
II.I_Material	6.
II.II_Métodos	7.
III_DESENVOLVIMENTO	11.
III.I_Formulação	11.
III.II_Ensaio	14.
III.II.I_Ensaio n.º 1	14.
III.II.I_Ensaio n.º 2	16.
III.II.I_Ensaio n.º 3	17.
III.II.I_Ensaio n.º 4	18.
III.II.I_Ensaio n.º 5	19.
IV_RESULTADOS	20.
V_DISCUSSÃO	23.
VI_CONCLUSÃO	35.



I_INTRODUÇÃO

O leite humano é o alimento natural, específico da espécie, engenhosamente elaborado para alimentar os lactentes¹ humanos (Goldman et al. 1997).

Para além da composição nutricional adaptada às necessidades do bebé, o leite humano possui nutrientes que lhe conferem um estatuto único. Entre esses nutrientes encontram-se os PUFAs, por muitos autores considerados "condicionalmente essenciais" (Newton 1998) e factores bioactivos, como enzimas, hormonas ou factores de crescimento (Rodriguez-Palmero et al. 1999). O leite humano contribui, assim, para a adaptação imunológica do bebé à vida extra-uterina.

São incontestáveis os inúmeros benefícios do aleitamento materno para os lactentes, mães, famílias e sociedade em geral. Entre essas vantagens encontram-se os benefícios de saúde, nutricionais, imunológicos (anexo I), psicológicos, sociais, económicos e ambientais (AAP 1992, 1997; Grupo Origem (Amamentação On-Line) 2000; Haschke 1995; Lawrence 1994; Uauy 1995).

Por esses motivos, é hoje mundialmente reconhecido que o aleitamento materno exclusivo é a forma ideal de nutrição do lactente nos primeiros 4-6 meses de idade (AAP 1997). No entanto, é recomendado que o aleitamento deva continuar pelo menos até aos 12 meses, desde que a partir dos 4-6 meses se inicie uma alimentação diversificada (Beikost²) correcta (AAP 1997; Sugarman e Tackett 1995).

Apesar dos demonstrados benefícios, existem algumas situações em que o aleitamento materno não é a melhor solução para o lactente. Essas situações incluem o caso de mães com tuberculose activa não tratada (AAP 1997) ou infectadas com o vírus de imunodeficiência humana (AAP 1995; Lawrence 1994). Para além do risco da potencial transmissão de enfermidades infecciosas para o lactente, há ainda a considerar a utilização de fármacos ilegais, como a cocaína e a heroína (AAP 1994; Lawrence 1994) e as enfermidades debilitantes ou que coloquem a mãe em perigo de vida e a medicação materna (Lawrence 1994; Vigi e Chierici 1995). Apesar da maior parte da medicação

¹ O termo lactente é usado para designar uma criança com idade inferior a 12 meses (Decreto-Lei n° 220/99).

² Beikost é um termo alemão, proposto por Fomon (ESPGAN 1981), para designar todos os alimentos, para além do leite humano ou fórmula, usados na alimentação infantil.

prescrita ser segura para o lactente, existem medicações que obrigam as mães a interromper o aleitamento temporariamente. Nessas situações encontram-se isótopos radioactivos, antimetabolitos, agentes quimioterapêuticos e outras substâncias. Estão disponíveis excelentes tabelas de drogas, fármacos e outros químicos, seguros e contra-indicados no aleitamento numa publicação da AAP (AAP 1994). Entre as substâncias que passam para o leite materno, há ainda a considerar, pela sua pertinência e actualidade, a cafeína, a nicotina, o álcool e as dioxinas.

Existem também situações físicas que impedem a amamentação, como a inversão dos mamilos, as fissuras e as mastites, entre outras (Levy 1994).

Nos primórdios da humanidade, quando o leite da própria mãe faltava, o seu filho raramente sobrevivia. Daí a importância que as amas de leite tiveram ao longo da história da civilização. A procura de substitutos do leite materno remonta a tempos imemoriais; desde que começou a domesticação animal que se substituiu o leite humano pelo de outros animais, nomeadamente de vaca, cabra, burra ou porca (Barness 1987).

A primeira tentativa de modificar o leite de vaca foi efectuada por Simon em 1838, que realizou a primeira análise de nutrientes do leite humano e o comparou com o de vaca. Como resultado do trabalho realizado por Simon, Biedert produziu em 1869 o primeiro alimento líquido cientificamente formulado para os lactentes. Biedert elaborou uma fórmula de leite de vaca diluída com água e aumentou a densidade calórica adicionando açúcar e cereais (Kleinman e Stoker 1995).

Até ao século XX, a amamentação era ainda uma questão de vida ou de morte para os lactentes. Nesse sentido, começaram a fazer-se várias modificações ao leite de vaca tendo como propósito a simulação do leite humano. O desenvolvimento de fórmulas infantis imitando o leite humano teve o seu passo decisivo em 1919, ano em que Berstenberger e seus colaboradores desenvolveram uma fórmula de leite de vaca com 4.6% de gordura, 0.9% de proteína e 6.5% de glícidos. Esta fórmula, pela primeira vez, foi desenvolvida baseada no princípio de que a composição do leite humano é o "padrão de ouro" ao qual as fórmulas infantis devem aspirar (Kleinman e Stoker 1995).

A partir do final dos anos 50, a grande disponibilidade, a facilidade de uso, a alta segurança, e o relativo baixo custo das fórmulas infantis nos países desenvolvidos levou a

que muitos bebês fossem alimentados artificialmente desde o nascimento. Essa tendência inverteu-se nos anos 80, e, nos anos 90, o número de mães a amamentar aumentou. Com todas as contra-indicações a que o leite materno e a amamentação estão sujeitos e com o aumento do número de mães que têm que voltar ao emprego no máximo 4 meses após o parto (Decreto-Lei nº 18/98), as fórmulas continuam a desempenhar um papel importante na alimentação infantil. Como o leite de vaca é mais barato que as fórmulas, ele é muitas vezes usado precocemente na alimentação dos lactentes. Na Europa, no início dos anos 90, o leite de vaca chegou a ser dado a 40% dos lactentes aos 6 meses e a 75% aos 9 meses (Aggett 1995; ESPGAN 1990).

Assim, torna-se necessário fornecer alternativas seguras às mães que, pelas razões apontadas, não podem amamentar o seu filho. De facto, embora o número de mães que amamentam tenha aumentado e o uso de leite de vaca antes do primeiro aniversário tenha diminuído, devido às recomendações para que seja evitado antes do primeiro ano de vida (AAP 1992), o uso de fórmulas infantis tem aumentado (Clifford 1996).

Inicialmente, a preocupação em aproximar a composição das fórmulas infantis à do leite materno reportava-se apenas aos constituintes maioritários com valor nutricional. Entretanto, foi-se verificando que, apesar dos aperfeiçoamentos tecnológicos e adaptações quantitativas destes macronutrientes, os lactentes amamentados pareciam ter um comportamento diferente no seu desenvolvimento e na resistência que ofereciam às agressões do meio ambiente. Surgiu então a preocupação com os constituintes minoritários, tendo os especialistas constatado profundas diferenças nestes constituintes, sendo essas diferenças características de cada espécie, fundamentais no seu comportamento futuro (Goedhart e Bindels 1994).

O termo fórmula de transição é definido pelo Codex Alimentarius Commission³ como “um alimento planeado para ser usado por lactentes como a parte líquida da dieta de desmame, dos 6 aos 12 meses de idade”. No mesmo documento, é referido que “os produtos abrangidos por esta definição não são substitutos do leite materno e não devem ser apresentados como tal”, no parágrafo 9.6.

³ CODEX STAN 1987.

Normalmente, os produtores descrevem as fórmulas de transição como substitutos do leite de vaca.

As fórmulas infantis estão incluídas, segundo a legislação portuguesa, nos géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial. A legislação nacional (Decreto-Lei n.º 220/99) define as fórmulas de transição como sendo "géneros alimentícios com indicações nutricionais específicas, destinados a lactentes com idade superior a quatro meses, que constituam o componente líquido principal de uma dieta progressivamente diversificada deste grupo etário".

A composição das fórmulas infantis tem como objectivo imitar a do leite materno o mais possível, uma vez que é internacionalmente reconhecido que o leite materno é o "padrão de ouro" (Goldman et al. 1997) ao qual as fórmulas devem aspirar. No entanto, essa "colagem" não é perfeita, porque a composição química exacta do leite humano ainda é desconhecida (Stehlin 1996). O leite humano varia de composição ao longo do dia, do curso da lactação e mesmo ao longo da mesma mamada. Este seu aspecto dinâmico causa alguns problemas quando se tenta determinar a sua composição exacta (Lawrence 1994; Salazar de Sousa 1995).

A AAP não estipula recomendações para fórmulas de transição. É sua opinião que a forma mais favorável de alimentação do lactente até 1 ano de idade é a amamentação, e que a primeira alternativa ao leite humano deve ser uma fórmula de início fortificada em Fe (AAP 1992).

Há pois argumentos científicos para o uso de fórmulas de transição, em detrimento quer das fórmulas de início quer do leite de vaca. Por um lado, as fórmulas de transição são mais baratas que as de início fortificadas em Fe; por outro lado, os lactentes alimentados com leite de vaca têm uma ingestão excessiva de proteína e Na e uma baixa ingestão de LA (Räihä 1995; George 1989).

Em muitos países em desenvolvimento, a precoce introdução de fórmulas infantis teve lamentáveis consequências quando não era usada água em boas condições ou, se o preço da fórmula levasse as mães a sobrediluí-la e, assim, fornecer uma nutrição inadequada ao seu filho (Clifford 1996; Fein 1999).

Actualmente, a função de conveniência ganha uma importância crescente, com a indústria a efectuar transformações que antes requeriam trabalho intensivo por parte do consumidor, como por exemplo a diluição das fórmulas em pó, a esterilização da água, etc. (Fein 1999).

Foi no sentido de fornecer uma alternativa segura e nutricionalmente correcta, aos lactentes que não podem ser amamentados, que nasceu este projecto. E o seu objectivo foi a elaboração de uma formulação para uma fórmula de transição líquida, para lactentes dos 4 aos 12 meses de idade e o seu desenvolvimento à escala laboratorial. Sem menosprezar a perspectiva comercial, nascem em Portugal cerca de 100 a 120 mil crianças por ano, logo, trata-se de um mercado a conquistar.

II_Material e métodos

II.I_Material

Para a realização deste projecto foi usado o seguinte material:

Ingredientes (matéria-prima):

- a) Leite de vaca magro;
- b) Água;
- c) Concentrado de proteínas de soro A;
- d) Concentrado de proteínas de soro B;
- e) Concentrado de lactose;
- f) Concentrado de maltodextrina;
- g) Mistura lipídica A;
- h) Mistura lipídica B;

- i) Mix vitamínico;
- j) Mix de minerais

Material de laboratório:

- a) Balão de Erlenmayer;
- b) Butirómetro;
- c) Cápsula;
- d) Frascos para esterilizar de 500ml;
- e) Pipeta de precisão de 10cm^3 ;
- f) Provetas de 100, 200 e 500ml;
- g) Rolha;
- h) Vareta;
- i) Vidro de relógio;
- j) Medidor automático de $1 \pm 0.1\text{cm}^3$ e de $10 \pm 0.2\text{cm}^3$.

Aparelhos de laboratório:

- a) Balança analítica;
- b) Centrífuga eléctrica para butirómetros;
- c) Esterilizador;
- d) Homogeneizador;
- e) MilkoScan FT 120.

Reagentes:

- a) Ácido sulfúrico a 62 e 90%;
- b) Álcool amílico.

Outro material:

- a) Recomendações da ESPGAN;
- b) Recomendações da AAP;
- c) Recomendações do Codex Alimentarius;
- d) Recomendações do ISSFAL;
- e) Legislação comunitária e nacional;
- f) Análise das fórmulas de transição existentes no mercado (concorrência) (anexo II);
- g) Tabela comparativa (anexo III).

II.II_Métodos

Para melhor se entender a metodologia deste trabalho, torna-se pertinente descrever o processo de transformação do leite de vaca numa fórmula de transição.

Como o leite de vaca apresenta um valor de proteína muito superior ao desejado para as fórmulas, o primeiro passo é obrigatoriamente a redução do valor da proteína, por diluição.

A quantidade a adicionar dos restantes ingredientes só é passível de ser determinada após a obtenção da percentagem de diluição do leite de vaca. Esta informação só é obtida depois da realização de um ensaio laboratorial. Sabendo a percentagem de diluição, pode

determinar-se o respectivo valor dos restantes ingredientes e, pela diferença entre este e a quantidade pretendida para o produto final, calcula-se a quantidade a adicionar.

Segue-se, então, o acerto da quantidade de glícidos, depois dos lípidos para atingir o valor de gordura desejado e, por fim, a adição do mix vitamínico e do mix de minerais.

Para a criação deste produto foram percorridas várias etapas. E, pelo acima descrito, compreende-se que algumas dessas etapas tenham ocorrido em simultâneo, tendo em conta a transformação que o leite de vaca sofre até se tornar no produto desejado.

Num primeiro passo procedeu-se a uma exaustiva pesquisa bibliográfica recolhendo informações sobre fórmulas infantis, nomeadamente considerações sobre ingredientes a incluir neste tipo de produtos. Foi recolhido todo o tipo de recomendações de organizações internacionais, nomeadamente a ESPGAN, a AAP, o Codex Alimentarius e o ISSFAL. Foi também reunida a legislação, comunitária e nacional, aplicável.

Após o estudo exaustivo das recomendações e da legislação, foi construída uma tabela comparativa que serviu de base para a elaboração da formulação.

Se para determinados ingredientes havia concordância entre as recomendações, para outros era necessária uma ponderação maior. Noutros casos ainda, embora essas organizações não emitam recomendações para determinados ingredientes (como para os LCPUFAs), todas admitem a possibilidade de os incluir nas fórmulas infantis, desde que numa quantidade semelhante à verificada no leite materno. Assim, quando não havia recomendações para determinados ingredientes ou as mesmas não estavam em harmonia, o leite materno foi o padrão de referência para esses ingredientes.

A etapa seguinte foi a solicitação, aos fornecedores, dos ingredientes pretendidos. Foram contactados os clientes habituais da empresa e também novos clientes (nomeadamente para a gordura), dado tratar-se de um produto novo para a empresa. Sempre que era possível, tentava obter-se mais do que um produto para o mesmo ingrediente. Isto permitia poder escolher o que melhor se ajustasse ao pretendido, com base em diversos parâmetros, como por exemplo a sua composição, o preço, a disponibilidade, o tempo de vida, etc.

Foram recebidas duas propostas para as seroproteínas, uma para a lactose, uma para a maltodextrina e duas para a gordura. Para os minerais e para as vitaminas não foram recebidas quaisquer propostas. Ambas as propostas recebidas para os lípidos foram desenvolvidas destinando-se à substituição total da gordura. Isto levou a que tivesse que se partir de um leite de vaca magro que, após a diluição sofrida para baixar o valor de proteína, apresentasse um valor de gordura desprezível.

Todos os fornecimentos foram sujeitos a inspecção:

- a) Visual, com vista a avaliar o estado de apresentação do produto, a sua validade e a conformidade da embalagem com o padrão aprovado;
- b) Laboratorial, com vista à garantia do fornecedor;
- c) Quantitativa, por contagem ou pesagem com vista à verificação da conformidade entre o solicitado e o recebido.

O último passo foi a verificação, à escala laboratorial, da adequação dos produtos propostos pelos fornecedores. Nesta etapa realizaram-se vários ensaios que visaram vários aspectos, nomeadamente: a) no caso das proteínas de soro e dos lípidos, escolher o que melhor se adaptasse ao pretendido, quer ao nível analítico, quer sensorial; b) em todos os casos, verificar a concordância entre os valores dos cálculos teóricos e os valores encontrados nos ensaios; c) no final de cada ensaio, fazer uma avaliação da evolução sensorial do produto resultante, comparando-a com as características padrão.

As características sensoriais padrão para a fórmula foram determinadas pela avaliação organoléptica das fórmulas de transição existentes no mercado (concorrência). Essas características são aroma e sabor *sui generis*, aspecto normal e homogéneo e cor branco-amarelada.

Descreve-se agora a metodologia usada nos ensaios laboratoriais.

As proteínas de soro, a lactose, a maltodextrina e a mistura lipídica foram pesados numa balança analítica, usando um vidro de relógio para os primeiros e uma cápsula para a última. A medição do leite de vaca e da água foi efectuada em provetas e a mistura dos ingredientes realizada no Erlenmeyer com o auxílio de uma vareta. Em cada ensaio eram preparadas duas amostras, ambas posteriormente submetidas a leitura no MilkoScan FT 120, para determinação da sua composição. A gordura foi determinada pelo MilkoScan FT

120 e pelo método de Gerber. Após a leitura dos parâmetros, uma das amostras era introduzida num frasco para esterilizar. A esterilização tinha como objectivo permitir que os produtos resultantes dos ensaios fossem submetidos a provação para análise sensorial, acompanhando assim a sua evolução ao longo dos ensaios. As amostras eram preparadas para 1000ml.

Foi efectuado um ensaio laboratorial (ensaio n.º 5) com um mix vitamínico idealizado para outro produto⁴. Este ensaio teve como objectivo apenas a verificação do comportamento do produto a nível sensorial. A quantidade adicionada foi a mesma que a utilizada para o produto para o qual o mix estava destinado.

Resumidamente, a metodologia seguida foi a seguinte:

- Pesquisa bibliográfica;
- Estudo das recomendações e legislação;
- Idealização da formulação;
- Solicitação dos ingredientes aos fornecedores;
- Realização de ensaios laboratoriais;
- Obtenção da receita.

⁴ Mimoso Crescimento 1-3 anos.

61060



400282

III_DESENVOLVIMENTO

III.1_Formulação

Em concordância com as definições, regulamentações e recomendações, a fórmula de transição que se pretende desenvolver é destinada a lactentes saudáveis dos 4 aos 12 meses e foi desenvolvida de modo a constituir a parte líquida de uma dieta progressivamente diversificada, correspondendo aos padrões exigidos a este tipo de alimento.

Tal como referido anteriormente, as bases para a formulação foram as recomendações, as regulamentações e o leite materno. Contudo, imitar o leite materno apenas na quantidade dos seus ingredientes nem sempre é o indicado. É necessário ter em atenção determinados aspectos como a distribuição dos AG nas moléculas de TG, a forma química de determinados elementos, as interferências entre os constituintes e sua implicação na absorção.

Se por um lado existe uma concordância universal no que diz respeito a alguns nutrientes a incluir nas fórmulas infantis, por outro, existem nutrientes que não reúnem tanto consenso e outros ainda que merecem uma reflexão profunda, como o caso da quantidade de Fe e AG.

Tendo em conta o pretendido e com base na metodologia descrita, abordaram-se alguns aspectos com especial atenção, por serem fundamentais e/ou polémicos.

No respeitante às proteínas, as escolhas tiveram em consideração a quantidade total, a relação caseína/seroproteínas e o índice químico da proteína resultante.

Assim, foi escolhido um valor de proteína de 2g/100ml e uma relação caseína/seroproteínas de 60/40. Consequentemente, o leite de vaca foi diluído e acrescentado de proteínas de soro.

Ao usar um concentrado de proteínas de soro desmineralizado para alcançar a relação caseína/seroproteínas desejada, obteve-se também uma redução de minerais. Este acerto conduz a um perfil de aminoácidos (anexo IV) semelhante ao verificado no leite humano (Alegria 1999; Jost et al. 1999; Mota 1991).

Após consulta do material referido, que serviu de base à formulação, a quantidade de glúcidos escolhida para a fórmula foi 11.2g/100Kcal, representando a lactose 80% e a maltodextrina 20%.

A quantidade de gordura no leite humano maduro anda à volta de 4.0g/100ml e representa a maior fonte de energia, fornecendo cerca de 50% das calorias (Forsyth 1998; Jensen 1989).

Os AG do leite humano têm uma distribuição altamente específica no glicerol. Foi demonstrado que essa especificidade influencia a absorção de gordura e também a de outros nutrientes (Lien 1994). Foi igualmente demonstrado que a estrutura do TG mais favorável para a hidrólise, pelo lactente, é um AG insaturado na posição sn-1, um saturado na sn-2 (normalmente C14:0 ou C16:0) e um de cadeia média na sn-3 (Winter et al. 1993).

A especificidade posicional dos AG no glicerol despertou rapidamente o desenvolvimento de "lípidos estruturais". A adaptação da estrutura dos TG das fórmulas infantis, para mais os aproximar das do leite materno, parece um passo lógico para o desenvolvimento das fórmulas.

O palmítico é o AG saturado predominante, constituindo cerca de 20-25% do total lipídico do leite humano, e 70-75% está esterificado na posição sn-2 (Forsyth 1998). Em contraste, o palmítico presente nos óleos vegetais (ainda os mais usados na manufactura de fórmulas infantis) está esterificado nas posições sn-1 e sn-3 (Lien 1994) enquanto a posição sn-2 está ocupada por um insaturado (Innis et al. 1994; Small 1991). A razão por esta esterificação preferencial do C16:0 na posição sn-2 do glicerol durante a síntese triglicéridica na glândula mamária é ainda desconhecida (Forsyth 1998). Contudo, sabe-se que a lipase pancreática colípase dependente hidrolisa selectivamente os AG nas posições sn-1 e sn-3, cedendo AGL e um 2-monoglicérideo. A 2-monoacilpalmitina é melhor absorvida que o ác. palmítico que tende a formar sabões insolúveis com catiões, como Ca e Mg (Quinlan et al. 1995).

Foi evidenciado que o ác. palmítico é absorvido como 2-monoglicérideo nos lactentes amamentados, e também que 70% dos AG absorvidos como tal são conservados nessa

posição durante a re-esterificação a TG nas células da mucosa intestinal (Small 1991; Innis et al. 1994a e b, 1995). Foi também demonstrado que a estrutura lipídica do tecido adiposo reflecte a configuração dietética de TG (Innis 1996). É então possível que a distribuição dos AG nos TG do leite humano ou fórmula tenham efeitos metabólicos importantes para além da absorção de gordura.

A síntese enzimática dos LCPUFAs, a partir dos AGE, inclui alongamento da cadeia (por elongases) e dessaturação (por Δ -dessaturases). A dessaturação introduz duplas ligações em pontos precisos ao longo da cadeia (Giovannini 1995).

Existe evidência que sustenta a influência do DHA no desenvolvimento e performance da retina e uma relação positiva entre a concentração eritrocitária de DHA e os índices de acuidade visual (Makrides et al. 1993).

Recomendações

A crescente evidência que associa o aleitamento ao desenvolvimento mental e visual veio suscitar o interesse pelos PUFAs.

Consequentemente, a ESPGAN (ESPGAN 1991) recomendou em 1991 que as fórmulas infantis fossem suplementadas com DHA e AA. Mais recentemente, o BNF (BNF 2000) em 1992, a FAO/WHO Expert Committee on Fats and Oils in Human Nutrition em 1993, e o ISSFAL (ISSFAL 2000a) em 1999, independentemente, recomendaram que as formulas infantis deveriam ser suplementadas não só com LNA mas também com DHA e AA em quantidades semelhantes às do leite humano.

O Working Group do ISSFAL aprovou a adição dos principais PUFAs, AA e DHA a todas as fórmulas infantis. Referiu também que o EPA ocorre naturalmente no leite humano, mas em quantidades superiores a 0.1% nas fórmulas infantis, pode antagonizar o AA e interferir no crescimento infantil (ISSFAL 2000b).

Em 1996, a Comissão das Comunidades Europeias sugeriu que os LCPUFAs (C20 e C22) poderiam ser adicionados às fórmulas infantis.

A fórmula deste projecto apresenta quantidades de LCPUFAs semelhantes às verificadas no leite materno: 0.5% de AA, 0.5% de DHA e menos de 0.1% de EPA.

A necessidade em Fe é maior entre os 4 e os 12 meses, do que em qualquer outra altura. A forma mais razoável de assegurar uma ingestão adequada de Fe em lactentes dos 4 aos 12 meses continua a ser a fortificação das fórmulas de transição (ESPGAN 1981). Assim, seguindo as recomendações (AAP 1992, 1999; ESPGAN 1981), e em concordância com a evidência científica, a quantidade de Fe escolhida para esta fórmula é de 1.2mg/100ml.

Assumindo que o beikost fornece cerca de metade das calorias da dieta, o Fe desta fonte chegará a 3-4mg/dia (ESPGAN 1990). Assim, uma concentração de Fe de 1.2mg/100ml na fórmula deve ser suficiente para assegurar a necessidade em Fe dos 4 aos 12 meses, assumindo um consumo de 500ml de leite por dia (ESPGAN 1981).

III.II_Ensaio

Em cada ensaio realizado, excepto no primeiro, era necessário repetir os anteriores e confirmar novamente os valores do produto obtido. Por uma questão de apresentação, e para não ser repetitivo, a partir do ensaio nº2 apenas se reportam os resultados correspondentes ao ingrediente a que se refere o respectivo ensaio.

Dado que os laboratórios da empresa não dispõem, ainda, de todos os métodos implementados, as determinações dos valores de caseína, seroproteínas, lactose e maltodextrina não foram realizadas. A composição da matéria-prima (leite de vaca) é muito bem conhecida e, dada a elevada experiência da empresa, os valores dos ingredientes acima referidos podem, teoricamente, ser calculados em função dos valores totais de proteína (para a caseína e seroproteínas) e glícidos (para a lactose e maltodextrina).

III.II.I_Ensaio n.º 1

Objectivos

1. Diluir o leite de vaca para baixar o valor da proteína;
2. Efectuar a avaliação sensorial do produto resultante.

Preparação

Como o leite de vaca apresenta um valor de proteína de 3.2g/100ml e uma relação caseína/seroproteínas de 80/20 (2.56g/0.64g por 100ml) e pretende-se uma fórmula com 2.0g/100ml de proteína e uma relação caseína/seroproteínas de 60/40 (1.2g/0.8g por 100ml), a percentagem de diluição do leite é determinada da seguinte forma: calcula-se a quantidade de água a acrescentar ao leite de modo a que o valor de caseína se situe nos 1.2g/100ml.

Assim, para obter um produto com os valores referidos, foi necessário diluir o leite de vaca 2.1(3) vezes, o que corresponde a adicionar 46.875% de leite de vaca e 53.125% de água.

Resultados

1. Foi inicialmente confirmado o valor da proteína do leite de vaca e foi determinada o seu valor no final do ensaio. A leitura do valor da proteína no MilkoScan FT 120 foi:

Leite de vaca	3.21 e 3.20 g/100ml
Amostra 1	1.51 e 1.50 g/100ml
Amostra 2	1.50 e 1.50 g/100ml

2. O produto apresenta-se com um aspecto normal e homogéneo, cor esbranquiçada, sabor e aroma *sui generis*, embora ligeiramente aguado.

Discussão

1. A percentagem de proteína avaliada pelo MilkoScan FT 120, no início e no fim do ensaio, está de acordo com os valores esperados. Tendo os valores inicial e final da proteína, e sabendo a relação caseína/seroproteínas, teoricamente a quantidade de caseína no final do ensaio é cerca de 1.2g/100ml, conforme pretendido.

2. Ao nível sensorial, o produto apresentou as características próprias de uma fórmula de transição, embora com um sabor e aroma ligeiramente aguado. Espera-se que este aguamento desapareça à medida que se adicionem os restantes ingredientes.

(anexo V)

III.II.II_Ensaio n.º 2

Objectivo

1. Escolher o concentrado de proteínas de soro que melhor se adequa aos objectivos pretendidos;
2. Efectuar a avaliação sensorial do produto resultante.

Preparação

O produto obtido no ensaio n.º 1 possui 1.5g/100ml de proteína, 1.2g/100ml de caseína e 0.3g/100ml de seroproteínas. Como se pretende um produto com 0.8g/100ml de seroproteínas, teve que se adicionar uma quantidade de concentrado de proteínas de soro que fizesse aumentar o seu valor em 0.5g/100ml. Assim, ao leite obtido no ensaio n.º 1, adicionou-se:

- a) 1.6g/100ml do concentrado de proteínas de soro A;
- b) 0.64g/100ml do concentrado de proteínas de soro B.

Resultados

1. Leitura do valor da proteína no MilkoScan FT 120:

Concentrado A	amostra 1	2.0 e 2.0 g/100ml
	amostra 2	2.1 e 2.0 g/100ml
Concentrado B	amostra 1	2.0 e 2.1 g/100ml
	amostra 2	2.0 e 2.0 g/100ml

2. Ambas as amostras apresentaram-se com um aspecto normal e homogéneo, cor esbranquiçada, aroma e sabor *sui generis*, embora ligeiramente aguado.

Em relação à cor, a amostra A apresentou uma cor mais escura, comparativamente à amostra B.

Discussão

1. Os resultados referentes ao valor da proteína são, em ambos os casos, concordantes com os cálculos teóricos.
2. A nível sensorial não revelou grandes diferenças em relação ao produto obtido no ensaio n.º 1, embora o leite parecesse ligeiramente menos aguado.

Como a amostra A apresentou uma cor mais escura e como ainda iriam ser adicionados mais ingredientes ao leite, foi decidido optar pela amostra B. Assim, minimiza-se o agravamento da cor do leite, ficando mais próxima dos padrões pretendidos. A nível analítico, esta escolha também apresenta a vantagem de a quantidade de concentrado de seroproteínas a adicionar ser bem menor (apenas 0.64g/100ml, contra 1.6g/100ml do concentrado A).

(anexo VI)

III.II.III_Ensaio n.º 3

Objectivo

1. Acertar o valor dos glícidos, adicionando lactose e maltodextrina de modo a obter a composição glicídica desejada;
2. Efectuar a avaliação sensorial do produto resultante.

Preparação

No leite de vaca existem 4.5g/100ml de lactose e 0.2g/100ml de maltodextrina. No produto obtido no final do ensaio n.º 2, existem, teoricamente, 2.48g/100ml de lactose, sendo desprezível a quantidade de maltodextrina. Para se obterem os valores pretendidos é necessário adicionar 3.9g/100ml de lactose e 2g/100ml de maltodextrina.

Resultados

1. Leitura do valor dos glícidos no MilkoScan FT 120:

Amostra 1	8.0 e 8.0 g/100ml
Amostra 2	8.0 e 7.9 g/100ml

2. O produto apresenta aspecto normal e homogéneo, cor esbranquiçada amarelada, aroma e sabor *sui generis*, menos aguado que nos ensaios anteriores.

Discussão

1. O valor de glícidos encontrado está de acordo com o esperado. Os valores referentes à lactose e à maltodextrina espera-se que coincidam com os desejados.

2. Ao nível sensorial, nota-se que o produto vai perdendo o aguamento característico dos primeiros ensaios, o que leva a crer que com a adição dos restantes ingredientes ele vá recuperar as características do padrão normal para este tipo de fórmula.

(anexo VII)

III.II.IV_Ensaio n.º 4

Objectivo

1. Escolher a mistura lipídica que melhor se adequa aos objectivos pretendidos;
2. Efectuar a avaliação sensorial do produto resultante.

Preparação

O leite de vaca usado como matéria-prima tem uma percentagem de gordura de 0.1%. Com a diluição efectuada no ensaio nº1, esse valor passa para os 0.05g/100ml. Este valor é irrelevante na sua contribuição final para o valor de gordura. Assim, a quantidade de gordura a adicionar será 3.5g/100ml.

Resultados

1. A leitura do valor de gordura pelo método de Gerber e pelo MilkoScan FT 120 forneceu os seguintes resultados:

Método de Gerber:

Amostra 1	3.49 e 3.50g/100ml
Amostra 2	3.50 e 3.52g/100ml

MilkoScan FT 120:

Amostra 1	3.50 e 3.51g/100ml
Amostra 2	3.49 e 3.50g/100ml

2. O produto resultante apresenta aspecto normal e homogéneo, cor branco-amarelado, aroma e sabor *sui generis*. Desapareceu o aguamento característico dos primeiros ensaios.

Discussão

1. A percentagem de gordura determinada pelo método de Gerber está de acordo com os valores esperados.

2. Ao nível sensorial, o produto está agora muito semelhante aos padrões correspondentes a este tipo de produto. Este resultado era esperado uma vez que a gordura é o principal responsável pelo corpo dos produtos lácteos. Espera-se ainda que fique ainda mais semelhante após a adição do mix de vitaminas e do mix de minerais.

Foi escolhida a mistura lipídica A porque a nível analítico corresponde exactamente ao que era pretendido. A mistura lipídica B, no caso do EPA, excedia em muito o valor recomendado.

(anexo VIII)

III.II.V_Ensaio n.º 5

Objectivo

1. Adicionar o mix vitamínico.
2. Efectuar a avaliação sensorial do produto resultante.

Preparação

Ao produto obtido no ensaio nº4 foram adicionadas 0.021g/100ml do mix vitamínico.

Resultados

1. O produto resultante apresenta aspecto normal e homogéneo, cor branco-amarelado, aroma e sabor *sui generis*.

Discussão

A nível sensorial, o produto resultante apresenta características dentro do esperado para este tipo de produtos e concordante com os padrões preestabelecidos.

(anexo IX)

IV_RESULTADOS

O resultado da formulação realizada foi o seguinte:

Tabela IV.I. Constituintes maioritários. Quantidade por 100ml.

Energia	Kcal	71.5
Proteína	g	2.0
Caseína	g	1.2
Seroproteínas	g	0.8
Lípidos	g	3.5
Glicídios	g	8.0
Lactose	g	6.0
Maltodextrina	g	2.0

Tabela IV.II. Perfil Lipídico. Percentagem do AG no total lipídico.

Láurico	mg	<15
Mirístico	mg	<15
Erúcico	mg	<1
Palmitico	mg	23
Oleico	mg	34
LA	mg	12.8
LNA	mg	1.6
AA	mg	0.5
DHA	mg	0.4
EPA	mg	<0.1
ω -6	mg	470
ω -3	mg	73
AGS	%	43-45
MUFAs	%	38-41
PUFAs	%	15-17

Tabela IV.III. Vitaminas. Quantidade por 100ml.

A	µg	80
D	µg	1.5
E	mg	1.2
K	µg	4.9
C	mg	10
TIAMINA (B ₁)	µg	75
RIBOFLAVINA (B ₂)	µg	120
AC. PANTOTÊNICO (B ₅)	mg	0.35
B ₆	µg	105
AC. FOLICO (B ₉)	µg	15
B ₁₂	µg	0.2
BIOTINA	µg	2
NIACINA (PP)	mg	1.4

Tabela IV.IV. Minerais. Quantidade por 100ml.

Na	mg	30
K	mg	100
Cl	mg	70
Ca	mg	80
P	mg	60
Mg	mg	7.5
Fe	mg	1.2
Zn	mg	0.7
Cu	µg	60
I	µg	11
Mn	µg	10
Se	µg	1.5

Tabela IV.V. Receita.

Leite	0.1% G 3.2% P	46.875%	468.75ml
Água		53.125%	531.25ml
Concentrado de proteínas de soro		0.64%	6.4g
Lactose		3.9%	39.0g
Maltodextrina		2.1%	21.0g
Mistura lipídica		3.5%	35.0g

⁵ Quantidade para 1 ensaio laboratorial.

V_DISCUSSÃO

Esta fórmula, dada a sua composição, possui as características específicas recomendadas para complementar a alimentação diversificada iniciada pelo lactente, assegurando um equilíbrio correcto que não é conferido pelo leite de vaca.

O leite humano maduro apresenta uma quantidade média de proteína de 1.2g/100ml enquanto o de vaca anda à volta de 3.2g/100ml (Jost 1999; Rähä 1995). Para além da substancial diferença do conteúdo proteico, a composição de ambos difere também em relação à qualidade da proteína. Enquanto a caseína representa cerca de 80% (relação caseína/seroproteínas 80/20) da fracção proteica do leite de vaca, no leite humano representa apenas cerca de 40% (40/60) (Ferreira 1996; Goedhart et al. 1994; Lawrence 1994).

A ESPGAN propôs 3.0-4.5g/100Kcal como limites a incluir nas fórmulas de transição (ESPGAN 1990). Os valores recomendados pelas organizações científicas, como a ESPGAN, são calculados de forma a garantir as necessidades de todos os lactentes, incluindo a minoria dos fisiologicamente exigentes. Os valores aconselhados são equivalentes ao percentil 97 (dois desvios padrão acima da média) (ESPGAN 1977).

A legislação nacional (Decreto-Lei nº 220/99) apresenta um limite mínimo inferior, 2.25g/100Kcal, e o mesmo limite máximo. A nossa legislação recomenda ainda que o índice químico das proteínas presentes nas fórmulas de transição deve ser, no mínimo, igual a 80% do da proteína de referência (caseína ou leite humano).

A preocupação com o relativo excesso de proteínas nas fórmulas infantis não é recente (Jarvenpää 1982), e a ingestão de um valor excessivo de proteínas traduz-se por uma acumulação sérica de ureia, apesar da excreção elevada de azoto. Verifica-se também um risco aumentado de desidratação devido a um soluto renal aumentado (Janas et al. 1987; Mota 1991; Picone 1989; Rähä 1995; Rodríguez-Soriano 1987)

Para a formulação foi escolhida uma quantidade de proteína de 2.8g/100Kcal e uma relação caseína/seroproteínas de 60/40.

O valor escolhido (2g/100ml) tem em conta vários factores. Por um lado, é ligeiramente superior ao verificado no leite humano, tendo em conta o facto da qualidade proteica do leite humano ser superior à das fórmulas, e as inevitáveis variações entre lotes que

ocorrem na manufactura (Jost 1999). Por outro, é ligeiramente mais baixa em relação à média da quantidade verificada nos produtos da concorrência. Este facto tem uma importância relevante para a sociedade actual, uma vez que a ingestão proteica proveniente do beikost é tradicionalmente alta.

Estudos recentes com lactentes que recebem do beikost um elevado teor proteico, como em alguns países europeus, concluem que o uso de fórmulas infantis com um baixo teor proteico pode ser uma óptima opção, e o valor escolhido para esta fórmula é igual ao de fórmulas cuja eficácia e segurança foram já comprovadas (ESPGAN 1990; Janas 1987; Picone et al. 1989; Rähä et al. 1986).

Entre os glícidos do leite humano, a lactose constitui cerca de 80% e as calorias fornecidas pelos glícidos representam cerca de 40-50% do total energético (Barness et al. 1997; ESPGAN 1981, 1982, 1990).

Para a composição das fórmulas, a ESPGAN estipula limites entre 8.0 e 12.0g/100Kcal. A legislação nacional estipula entre 7 a 14g/100Kcal, e a contribuição da lactose deve ser, no mínimo igual a 1.8g/100Kcal (Decreto-Lei nº 220/99).

Nos glícidos deve ser dada prioridade à lactose, que é menos "doce" que os outros hidratos de carbono. Para os restantes a prioridade é para os polissacarídeos, como maltodextrina (ESPGAN 1981).

Assim, esta fórmula contém 6g/100ml de lactose e 2g/100ml de maltodextrina, que contribuem para os 11.2g/100Kcal de glícidos totais.

Embora a legislação o permita, não é adicionada sacarose à fórmula porque é importante que os lactentes não se habituem a sabores doces. Pelo mesmo motivo também não é adicionada frutose.

A quantidade de gordura no leite humano maduro anda à volta de 4.0g/100ml e representa a maior fonte de energia, fornecendo cerca de 50% das calorias (Forsyth 1998; Wells 1996; Carnielli et al. 1995a; Jensen 1989). A quantidade total de gordura não é influenciada pela dieta materna, mas esta pode fazer variar a concentração individual de AG (Carnielli 1995b; Forsyth 1998; Wells 1996).

Os lípidos do leite humano são TG (98%), colesterol (0.4%) e fosfolípidos (1.3%). A composição lipídica varia com a duração da lactação, durante o dia e durante a mesma mamada (Forsyth 1998).

Foram já identificados cerca de 200 AG no leite humano, mas apenas 7 representam cerca de 90% do total lipídico (oleico, palmítico, láurico, LA, mirístico, esteárico e cáprico). Os TG do leite humano são principalmente compostos por AG de cadeia longa (apenas 7% dos AG são de cadeia média, C12-16), e os saturados constituem 50.1% e os insaturados 48.5% (Forsyth 1998; Jensen 1989).

A estrutura dos TG das fórmulas pode ser modificada pelo processo de interesterificação enzimática (Forsyth 1998).

Os AG do leite humano têm uma distribuição altamente específica no glicerol. Foi demonstrado que essa especificidade influencia a absorção de gordura e também de outros nutrientes (Lien 1994). Foi igualmente demonstrado que a estrutura do TG mais favorável para a hidrólise, pelo lactente, é um AG insaturado na posição sn-1, um saturado na sn-2 (normalmente C14:0 ou C16:0) e um de cadeia média na sn-3 (Winter 1993).

A especificidade posicional dos AG no glicerol despertou rapidamente o desenvolvimento de "lípidos estruturais". E a adaptação da estrutura dos TG das fórmulas infantis, para mais os aproximar dos do leite materno, parece um passo lógico para o desenvolvimento das fórmulas.

Os AG são libertados da sua posição natural por lípases selectivas e redistribuídos igualmente pelas três posições do glicerídeo. Os AGS de cadeia longa são significativamente melhor absorvidos em ratos alimentados com um óleo vegetal contendo uma grande proporção de palmítico na posição sn-2, comparados com outros ratos alimentados com óleos em que o palmítico está nas posições sn-1 e 3 (Carnielli et al. 1995a).

Carnielli conduziu um estudo sobre a absorção de gordura e minerais em bebés recebendo Betapol. Ficou demonstrado que a absorção de mirístico e palmítico foram

significativamente superiores no grupo Betapol (Carnielli et al. 1995a). Outro estudo (Lucas et al. 1997) demonstrou resultados semelhantes.

Recentemente, Birch conduziu um estudo em que foi testada a inteligência de 56 lactentes aos 18 meses de idade. Os bebés foram randomizadamente divididos em três grupos. Um grupo foi alimentado com uma fórmula suplementada com DHA e outro com uma fórmula com DHA e AA. O grupo controlo foi alimentado com uma fórmula padrão sem suplementação destes PUFAs. Nos testes de desenvolvimento mental, os lactentes do grupo controlo obteve uma pontuação de 98, ligeiramente abaixo da média que é 100). Os do grupo com DHA obtiveram 102.4 e os do grupo com DHA e AA 105. Os autores concluíram serem obvias as vantagens da suplementação destes PUFAs nas fórmulas infantis (Birch 2000).

Os AGE, LA e LNA, são substratos para reacções de dessaturação e alongamento que ocorrem principalmente no retículo endoplasmático do fígado, e que leva à síntese de LCPUFAs com 20-22 carbonos e 2-6 duplas ligações. Os AG ω -3 e ω -6 competem, como substratos, pelas mesmas enzimas de dessaturação. A enzima Δ -6 dessaturase tem preferência pelo LNA (Forsyth 1998).

Esta competição entre as cascatas metabólicas tem implicações importantes nas recomendações de LCPUFAs a incluir as fórmulas infantis. No leite humano a relação LA/LNA é entre 5 e 10 (Forsyth 1998).

Os AG considerados essenciais (LA e LNA) são aqueles que não podem ser sintetizados endogenamente e, por esse motivo, têm de ser fornecidos, pré-formados, pela dieta (Giovannini 1995).

O processo metabólico que converte LA em GLA e AA; LNA em EPA e DHA envolve alongamento da cadeia de carbono através da adição de átomos de carbono, e dessaturação da molécula através da adição de duplas ligações. Isto requer enzimas especiais chamadas elongases e dessaturases que convertem estes dois AG noutros de cadeia maior e mais insaturados que depois vão intervir de várias formas em processos biológicos no organismo. Eles regulam a delicada química corporal, mantêm compostos importantes como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos a níveis adequados, e desempenham um papel chave na prevenção de certas doenças. De acordo com o

conhecimento até agora adquirido, os AG GLA, AA, EPA e DHA e respectivos metabolitos são a nível fisiológico de importância crítica. Não é por coincidência que estes valiosos AG estão presentes no leite materno (Newton 1998).

As principais funções fisiológicas dos LCPUFAs são metabólicas ou estruturais, embora também possam ser mobilizados para fins energéticos no caso de deficiente ingestão energética (Giovannini 1995).

O alongamento da cadeia ocorre apenas na extremidade carboxílica (COOH) da molécula do AG. É o mesmo grupo de enzimas que está responsável por metabolizar quer os PUFA ω 3 quer os ω 6, resultando em competição pelas enzimas entre as duas famílias (Simopoulos 1991). O relativo sobreforneamento de PUFAs ω 6 na dieta pode comprometer a transformação de PUFAs ω 3 nos seus metabolitos de cadeia mais longa, EPA e DHA. Isto pode levar a um relativo desequilíbrio dos metabolitos e produtos (Newton 1996; Simopoulos 1991).

O LNA faz parte da família ω -3 e o LA da ω -6. Ambos servem de precursores a outros PUFAs cruciais. O LA é usado para a formação de outro AG ω -6, o AA, que é muito importante para o crescimento infantil. O LNA, que é o PUFA ω -3 predominante na dieta dos países ocidentais, é o precursor do DHA e do EPA, da mesma família.

O DHA é importante para o desenvolvimento adequado do cérebro e do olho. Embora o organismo consiga converter o LNA em DHA e EPA, alguns investigadores consideram-nos "condicionalmente essenciais", uma vez que essa conversão não ocorre se o fornecimento de LNA for baixo. A capacidade do organismo converter LNA em DHA e EPA pode também estar limitada. O DHA e o EPA encontram-se quer na gordura dos peixes, como o salmão, cavala e arenque, quer nas plantas marinhas das quais eles se alimentam (ADA 2000).

Vários estudos demonstraram que os níveis dos PUFAs essenciais, LA e LNA são influenciados pela dieta da mãe, mas os LCPUFAs sofrem menos influência. Para além disso, os LCPUFAs ω -3 e ω -6 no leite humano não estão relacionados com os respectivos precursores, LA e LNA (Forsyth 1998; Koletzko et al. 1992).

Em contraste, os LCPUFAs ω -3 e ω -6 estão relacionados entre si, o que pode reflectir um mecanismo metabólico protector que fornece aos lactentes amamentados uma relação balanceada dos LCPUFAs (Koletzko et al. 1992).

Os lípidos da dieta são de elevada importância para o crescimento e desenvolvimento do lactente.

Contrastando com o leite humano, as fórmulas infantis só a partir de finais dos anos 80 passaram a conter LCPUFAs (Forsyth 1998). Estudos em que se determinava a relação entre os AG do cérebro e a dieta na infância, demonstraram que os lactentes amamentados tinham concentrações superiores de DHA no córtex cerebral comparados com lactentes alimentados com fórmulas sem LCPUFAs (ESPGAN 1990; Farquharson et al. 1995; Makrides 1993).

Foram encontrados níveis mais elevados de DHA e AA em lactentes alimentados com fórmulas contendo LCPUFAs pré-formados, comparados com lactentes alimentados com fórmulas com quantidades elevadas dos AGE seus precursores. O factor mais importante no conteúdo plasmático e eritrocitário de AA e DHA parece ser a ingestão de LCPUFAs pré-formados. Isto apoia a ideia de que o alongamento e dessaturação podem estar diminuídos nos primeiros meses de vida (Forsyth 1998).

Como a acumulação de PUFAs é mais elevada nos fosfolípidos das membranas celulares das células do sistema nervoso central, tem havido intensa investigação sobre os efeitos dos LCPUFAs no desenvolvimento cerebral e nas funções visual e cortical dos lactentes. Muitos estudos debruçaram-se sobre a maturação da função visual, porque as membranas foto-receptoras da retina contêm elevadas concentrações de DHA. A presença de DHA nestas células é importante para a actividade fotoquímica normal da rodopsina. Estudos em animais demonstraram que os LCPUFAs podem ter efeitos bioquímicos e fisiológicos muito importantes no funcionamento da retina (Forsyth 1998).

Têm sido realizados muitos estudos randomizados comparando as dietas dos lactentes com e sem DHA, na tentativa de definir mais claramente se existe uma relação causativa entre o DHA dietético e o desenvolvimento neural. Num estudo realizado em 1995

(Makrides et al. 1995), foi demonstrado que a suplementação de fórmulas infantis com LCPUFAs é importante para o desenvolvimento da acuidade visual.

Foi considerado ser de extrema importância concentrar especiais atenções no perfil lipídico do produto, considerando o elevado número de mães que não amamentam os seus filhos durante o período recomendado, e, conseqüentemente, a necessidade deles terem uma alimentação adequada. O perfil lipídico idealizado para o produto foi baseado em estudos que demonstraram apoio para o desenvolvimento e crescimento neural e visual de forma semelhante aos lactentes amamentados.

A partir dos 4-6 meses, com o início da alimentação diversificada, os lactentes estão menos dependentes, quer do leite materno quer das fórmulas, para cobrirem as suas necessidades de AGE. No entanto, no sentido de oferecer ao lactente uma fonte segura para a obtenção de AGE e seus metabolitos polinsaturados, optou-se por inclui LA, LNA, DHA, EPA e AA nas quantidades recomendadas e que são idênticas às existentes no leite materno.

A excelente absorção de gordura que esta fórmula proporciona deve-se à distinta estrutura dos seus TG. Como tal, a mistura lipídica usada contribui decisivamente para a saúde dos lactentes que, por qualquer motivo, foram impedidos de ser alimentados com leite materno.

A mistura lipídica usada é composta por três óleos: 1.2% de Marinol D40, 1.3% de ARA oil e 97.5% de Betapol 45

O Betapol⁶ é uma mistura de TG derivada, por processos de esterificação, de óleos vegetais (girassol, canola e coco com óleo de palma enriquecido com tripalmitina), onde aproximadamente 58% do C16:0 está esterificado na posição sn-2 da molécula de glicerol. Tais níveis elevados não podem ser produzidos por simples mistura de óleos vegetais, mas são alcançados por interesterificação enzimática de posição específica. No Betapol a mistura de TG é tal que uma grande proporção do C16:0 está presente na posição β , tal como no leite humano. As posições sn-1 e sn-3 são ocupadas por AGI que, quando

⁶ Produto patenteado por Lodders Crokiaan, Wormerveer, Holanda.

libertados, são rapidamente absorvidos e não formam sabões insolúveis. Este produto leva a maior absorção lipídica e de minerais como o Ca e Mg e tem mostrado ser eficaz na redução da dureza das fezes e obstipação. Este óleo é idealizado para substituir a fase lipídica total das fórmulas infantis.

O Betapol é uma variedade de TG estruturais semelhante à gordura do leite humano, quer na composição de AG, quer na distribuição posicional, e foi desenvolvido pela Unilever, integralmente baseada em fontes lipídicas vegetais. As propriedades nutricionais do Betapol foram determinadas em vários modelos animais.

Bebés alimentados com fórmulas vulgares excretam grandes quantidades de sabões AG-cálcio, em contraste com bebés amamentados, onde a excreção destes sabões é extremamente reduzida. O cálcio e os AG são os factores mais relacionados com a dureza das fezes. Isto implica que as fórmulas infantis com uma composição lipídica fornecida pelo Betapol resulte em fezes mais moles e numa incidência reduzida de obstipação em bebés. Esta excreção de sabões de cálcio tem implicações importantes na sua absorção pelos bebés.

Foi demonstrado em leitões que o metabolismo lipídico é significativamente afectado quer pelo comprimento da cadeia do AG, quer pela distribuição posicional do TG. Os perfis plasmático e tecidual produzidos pelo Betapol eram mais próximos dos observados em leitões amamentados pelas suas mães. Este estudo foi efectuado com leitões porque a composição do leite de porca tem uma distribuição similar à do leite humano (Innis 1993). Estudos pré-clínicos com o Betapol levaram ao desenvolvimento de inúmeras hipóteses referentes aos potenciais benefícios clínicos na alimentação infantil. O melhoramento da absorção do cálcio irá beneficiar os bebés ajudando-os a maximizar a absorção de cálcio mais cedo na vida.

Assim, formularam-se hipóteses em que a aplicação deste produto em fórmulas infantis levaria a: 1) melhoria da absorção de gordura e cálcio; 2) redução da dureza das fezes e da obstipação e 3) melhoria do metabolismo lipídico após absorção.

Como anteriormente referido, uma larga proporção energética fornecida pelo leite materno ocorre sob a forma de gordura. Um elemento crucial em qualquer óleo vegetal usado em fórmulas infantis é que iguale a estrutura em AG do leite humano. O AGS mais

importante do leite humano é o palmítico que representa cerca de 20-25% do total lipídico (Aggett 1995). A gordura do leite humano difere dos óleos vegetais na distribuição dos AG na "espinha dorsal" do TG. No leite humano, cerca de 70% do ác. palmítico está esterificado na sn-2, enquanto que nos óleos vegetais ele está esterificado nas posições sn-1 e sn-3, em cerca de 80% (Innis et al. 1993, 1995; Quinlan et al. 1995). Durante muitos anos o significado desta diferença foi tema de debate, até que alguns estudos revelaram que esta "diferença estrutural" tinha efeitos na digestão, absorção e metabolismo dos lactentes (Carnielli 1995b; Quinlan et al. 1994).

O primeiro passo digestivo que ocorre no organismo é a emulsificação e hidrólise dos TG para libertar AGL das posições sn-1 e sn-3, com a resultante formação de glicerídeos parciais. A libertação de AGL no intestino tem duas consequências: 1) os AG podem ser absorvidos directamente como tal ou, 2) eles podem reagir com outros componentes no intestino (Carnielli et al. 1994; Quinlan et al. 1994).

É sabido que o comprimento da cadeia e o grau de insaturação dos AG têm impacto na sua absorção. Os AG de saturados de cadeia longa (C14:0 a C22:0) são, geralmente, menos bem absorvidos do que os de cadeia média (C8:0 a C12:0) e insaturados. Isto está correlacionado com o ponto de fusão dos vários AG que são libertados (Carnielli 1996 ; Lucas 1997).

É também sabido que os AGL não absorvidos podem formar sabões insolúveis no intestino. Estes sabões são depois excretados, podendo perder-se gordura, e também minerais, valiosos para o lactente. Este é o caso quando os AG nas posições sn-1 e sn-3 do TG são AGS de cadeia longa (como é o caso de muitas gorduras vegetais). Após a libertação dos AGL das posições sn-1 e sn-3, o β -glicerídeo resultante é absorvido e os AGS formam sabões insolúveis com o cálcio.

Foram realizados estudos usando misturas lipídicas com composição em AG similar ao leite humano. Todas continham fórmulas incluindo gorduras com 20-25% de C16:0; as fórmulas contendo Betapol incluíam gorduras com 66-76% de C16:0 na posição sn-2 enquanto as fórmulas controlo continham apenas 12.6% de C16:0 nessa posição.

Comparadas com as fórmulas controlo, as fórmulas contendo Betapol mostraram uma melhoria significativa na absorção de C16:0 de 18% em lactentes de termo.

O problema das fórmulas infantis tradicionais é que elas contêm AGS suficientes para formar sabões com virtualmente todo o cálcio disponível.

Estudos mostram que a absorção de cálcio por lactentes alimentados com fórmulas tradicionais é substancialmente inferior quando comparados com lactentes amamentados.

Um estudo das fezes de lactentes alimentados artificialmente mostrou que 90% da gordura excretada era sob a forma de sabões, que representavam cerca de 30% do peso seco das fezes. Em contraste, os bebés amamentados excretavam apenas cerca de 3% do peso seco das fezes sob a forma de sabões (Quinlan et al. 1995).

No que respeita às vitaminas e minerais, pouco há a acrescentar. Sobre este assunto não existem grandes discordâncias e esta fórmula é, neste aspecto, semelhante à concorrência. No entanto, merece a pena fazer referência ao Fe.

A deficiência de Fe é das deficiências nutricionais mais comuns nos países desenvolvidos (Wharton 1992). Os lactentes, nos segundos 6 meses de vida, estão particularmente vulneráveis. De facto, a partir desta idade as reservas de Fe já estão reduzidas e o lactente fica, agora, dependente de fontes exógenas deste mineral para manter o seu estado nutricional adequado (Walter et al. 1998).

Na Europa foram especificamente desenvolvidas fórmulas de transição com concentrações de Fe mais elevadas do que as fórmulas padrão, para aumentar a ingestão de Fe a partir dos 6 meses de idade. Os valores de referência para a ingestão de Fe para os lactentes dos 7 aos 12 meses são 7.8mg/dia, de modo a cobrirem as suas necessidades; estes valores são adequados se pelo menos 10% do Fe alimentar for absorvido (AAP 1999; Stevens 1996; Wharton 1992).

O leite de vaca não é indicado antes do primeiro aniversário do lactente porque o seu teor em Fe é muito reduzido (0.08-0.1mg/100ml) e a sua biodisponibilidade é baixa (Abrams 1996). A incidência de anemia por deficiência de Fe é substancialmente superior em lactentes alimentados com leite de vaca do que em alimentados com uma fórmula fortificada em Fe. Esta deficiência de Fe pode advir da perda gastrointestinal de sangue,

e outras causas, como a fraca ingestão de Fe, inibição da absorção de Fe pela relativamente elevada quantidade de Ca e P do leite de vaca (ESPGAN 1982).

O uso de fórmulas fortificadas em Fe (1.2mg/100ml) nos segundos 6 meses de vida é aprovado pela ESPGAN, e o seu consumo crescente provavelmente contribui para a reduzida incidência da deficiência de Fe nos EUA (ESPGAN 1981; Singhal et al. 2000). Neste país, as fórmulas fortificadas em Fe contêm cerca de 1.0-1.2mg/100ml (AAP 1999; Wells 1996).

A AAP recomenda que os lactentes que não sejam amamentados devam receber fórmulas fortificadas em Fe, em detrimento do leite de vaca (AAP 1992, 1999). O uso destas fórmulas reduz a frequência de anemia por deficiência de Fe nos lactentes e, conseqüentemente, pode beneficiar o desenvolvimento cognitivo a longo termo (Agostoni 1995; Singhal et al. 2000; Willats 1998).

Recentemente foi levantada a questão se os lactentes alimentados com este tipo de fórmula ficavam sujeitos a um maior risco de diarreia. De facto, não existe qualquer evidência que apoie essa hipótese (Singhal et al. 2000). Isto, aliado ao facto das fórmulas fortificadas em Fe desempenharem um papel preventivo na anemia infantil por carência de Fe, reforça a actual recomendação de que qualquer fórmula dada a lactentes deva ser fortificada em Fe (Scariata et al. 1997).

Os lactentes alimentados com fórmulas fortificadas em Fe (até 1.2mg/100ml) durante o primeiro ano de vida, têm maior segurança nas reservas de Fe e taxas muito reduzidas de deficiência deste mineral entre os 6 e os 18 meses. Não existem contra-indicações clínicas conhecidas para as fórmulas fortificadas em Fe (como cólicas, obstipação, refluxo gastrointestinal, etc.). A impressão de que as fórmulas infantis com pouca quantidade de Fe estão associadas a menores efeitos gastrointestinais adversos não é suportada por estudos controlados (AAP 1999; Goedhart 1994; Nelson et al. 1988).

O efeito da suplementação de fórmulas infantis com cálcio e fósforo, até 3 ou 4 vezes a quantidade dietética normal, não tem efeitos clínicos nos níveis de Fe nem na incidência da deficiência de Fe em lactentes alimentados com fórmulas fortificadas (Dalton 1997).

De salientar que, pelas escolhas efectuadas, obtiveram-se resultados paralelos de relevância para as características da fórmula.

No que diz respeito aos lípidos, obteve-se uma relação LA/LNA de 10/1; uma relação DHA/EPA é igual a 5 e uma relação ω -6/ ω -3 de 6.5/1. valores estes que se encontram claramente enquadrados nas recomendações

Pelos valores escolhidos para os minerais, a relação CA/P, sendo de 1.3, encontra-se também de acordo com as directrizes.

Também a relação entre a vitamina E e os PUFAs é consentânea, uma vez que se centra nos 2.23.

A nível legislativo, esta fórmula cumpre todos os requisitos exigidos. De salientar a não inclusão de óleos de sésamo e girassol, nem de ingredientes com glúten. Ainda o facto de respeitar os valores estipulados para os AG trans e para o erúcido.

Outros ingredientes como a carnitina, a taurina, e o inositol foram considerados, após o respectivo estudo, dispensáveis para esta facha etária. Não foram incluídos na formulação porque encareceriam desnecessariamente o produto.

VI_CONCLUSÃO

As fórmulas de transição são alimentos que se provou serem adequados para os lactentes entre os 4 e os 12 meses de idade, como parte de uma dieta diversificada.

A presente fórmula de transição líquida destina-se a ser usada por lactentes saudáveis dos 4 aos 12 meses de idade e, estando de acordo com as recomendações oficiais, é adequada às necessidades nutricionais deste grupo. A sua composição proporciona um produto nutricionalmente seguro e adequado para a promoção de um crescimento e desenvolvimento normais, porque contem todos os nutrientes necessários durante este período. Se o consumo de leite dos 4 aos 12 meses de idade se mantiver em quantidade não inferior a ½ litro por dia, conforme recomendado, esta fórmula de transição será um veículo importante de determinados nutrientes.

Trata-se de uma fórmula líquida, que pelas vantagens enumeradas, procura ir cada vez mais de encontro às necessidades dos consumidores.

Pelo estudo exaustivo efectuado, a formulação obtida, a qual está completamente enquadrada com as directrizes, foi um objectivo plenamente alcançado.

Quanto ao desenvolvimento à escala laboratorial, não foi possível, por razões de dinâmica comercial, concluir a receita, nomeadamente no que diz respeito às vitaminas e minerais. Ficou, contudo, traçado e preparado o caminho para a etapa subsequente, que será o desenvolvimento à escala industrial, com vista ao lançamento do produto no mercado nacional.

Numa perspectiva inovadora, a opção por este perfil lipídico, é um enorme contributo para o desenvolvimento deste tipo de fórmulas.

Em Portugal, esta será claramente a melhor opção para a mãe preocupada com o bem-estar do seu filho, uma vez que está mais próxima do desejado desiderato de imitar o leite humano, embora se reconheça que ainda falte muito para o alcançar!

Deixam-se aqui algumas sugestões em relação à legislação actual. A evidência científica já justifica que os LCPUFAs DHA e AA sejam contemplados de acordo com as indicações dos organismos oficiais reconhecidos.

Parece também demasiado alta a quantidade de AG trans permitida por lei. Seria benéfico a diminuição desse valor.

Bibliografia

Abrams AS, O'Brien KO, Wen J, Liang LK, Stuff J. Absorption by 1-year-old children of an iron supplement given with cow's milk or juice. *Ped Res* 1996; 39 (1): 171-5.

ADA: <http://www.eatright.org/nfs/nfs90.html> (Março, 2000).

Aggett PJ. Alimentación con fórmulas adaptadas: situación actual. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, editores. *Nutrición en pediatría extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Ediciones Ergon, S.A.. 1995. p. 25-9.

Agostoni G et al. Infant formula supplemented with PUFA improves development. *Ped Res* 1995; 38: 262-6.

Alegria A; Barbera R; Farre R; Lagarda MJ; Lopez JC. Amino acid contents of infant formulas. *Journal of Food Composition and Analysis* 1999; 12 (2): 137-146.

American Academy of Pediatrics. Committee on Drugs. The transfer of drugs and other chemicals into human milk. *Pediatrics* 1994; 93: 137-50. URL: <http://www.aap.org/policy/00026.html>

American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 1997; 100 (6): 1035-9.

American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Iron fortification of infant formulas. *Pediatrics* 1999; 104 (1): 119-123.

American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. The use of whole cow's milk in infancy. *Pediatrics* 1992; 89 (6): 1105-9.

American Academy of Pediatrics. Committee on Pediatric AIDS. Human Milk, Breastfeeding, and Transmission of Human Immunodeficiency Virus in the United States. *Pediatrics* 1995; 93 (5): 977-9. URL: <http://www.aap.org/policy/01094.html>

Barnes LA. History of infant feeding practices. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 168-70.

Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2000; 42: 174-181. URL: <http://www.cup.cam.ac.uk/journals/dmc/birch.pdf>

BNF: www.nutrition.org.uk (Junho, 2000)

Carnielli V P, Luijendijk I H T, van Beek R H T, Boerma G J M, Degenhart H J, Sauer P J. Effect of dietary triacylglycerol fatty acid positional distribution on plasma lipid classes and their fatty acid composition in preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1995a; 62: 776-81.

Carnielli VP, Luijendijk IHT, van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, et al. Feeding premature newborn infants palmitic acid in amounts and stereoisomeric position similar to that of human milk: effects on fat and mineral balance. *Am J Clin Nutr* 1995b; 61: 1037-42.

Carnielli V P, Luijendijk I H T, van Goudoever J B, Sulkers E J, Boerlage A, Degenhart H J et al. Synthesized triacylglyceride with the unique stereoisomeric structure of human milk fat: effect on fat and mineral balance. *Ped Res* 1994; 35: 1839.

Clifford WL, Kleinman RE. Infant formula, past and future: opportunities for improvement. *Am J Clin Nutr* 1996; 63 (4): S646- 50.

Codex Alimentarius Commission. Codex standards for Follow-Up Formula. Codex Alimentarius, vol IV. Rome: FAO/WHO, 1987.

Dalton MA, Sargent JD, O'Connor GT, Olmstead EM, Klein RZ. Calcium and phosphorus supplementation of iron-fortified infant formula: no effect on iron status of healthy full-term infants. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 921-6.

Decreto-Lei nº 18/98. "D. R. Série A" 98 (98-04-28) 1888.

Decreto-Lei nº 220/99. "D. R. Série A" 138 (99-06-16) 3453-62.

DISCOVER 1996. August: 17; 20.

ESPGAN. Committee on Nutrition. Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80: 887-96.

ESPGAN. Committee on Nutrition. Comment on the composition of cow's milk based follow-up formulas. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 250-4.

ESPGAN. Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. II Recommendations for the composition of follow-up formula and beikost. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70, Suppl. 287.

ESPGAN. Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. I. Recommendations for the composition of an adapted formula. *Acta Paediatr Scand* 1977; 66, Suppl 262.

ESPGAN. Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. III Recommendations for infant feeding. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1982; 302: 1-27.

Farquharson J, Jamieson EC, Abbasi KA, Patrick WJA, Logan RW, Cockburn F. Effect of diet on the fatty acid composition of the major phospholipids of infant cerebral cortex. *Arch Dis Child* 1995; 72: 198-203.

FDA: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/fdacinf.html> (Dezembro, 1999).

Fein SB, Falci CD. Infant formula preparation, handling, and related practices in the United States. *JADA* 1999; 99 (10): 1234-1240.

Ferreira IMPLVO, Ferreira MA. O leite materno e os preparados lácteos industrializados de alimentação infantil. *Revista de Alimentação Humana* 1996; II (3): 13-23.

Forsyth JS. Lipids and infant formulas. *Nut Res Reviews* 1998; 11: 255-78.

George DE, DeFrancesca BA. Human milk in comparison to cow milk. In: Leberthal E, editor. *Textbook of gastroenterology and nutrition in infancy*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1989. p. 239-61.

Giovannini M, Riva E, Agostoni C. Fatty acids in pediatric nutrition. *Pediatr Clin N Am* 1995; 42 (2): 861-77.

Goedhart AC, Bindels JG. The composition of human milk as a model for the design of infant formulas: recent findings and possible applications. *Nutr Res Rev* 1994; 7: 1-23.

Goldman ASG, Golblum RM, Schmalstieg FC. Protective properties of human milk. In: Walker WA, Watkins JB, editors. *Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications*. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 449-57.

Grupo Origem (Amamentação On-Line): <http://www.aleitamento.org.br/composi.htm> (Janeiro, 2000).

Haschke F, Golser A. Vantajas de la leche humana frente a las fórmulas infantiles. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, eds. *Nutrición en pediatría extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Ediciones Ergon, S.A.. 1995. p. 3-9.

Innis S M, Dyer R, Nelson C M. Evidence that palmitic acid is absorbed as sn-2 monoacylglycerol from human milk by breast fed infants. *Lipids* 1994a; 29: 541-5.

Innis SM, Dyer R, Quinlan PT, Diersen-Schade. Dietary triacylglycerol structure and saturated fat alter plasma and tissue fatty acids in piglets. *Lipids* 1996; 31: 497-505.

Innis SM, Nelson CM, Rioux MF, King DJ. Development of visual acuity in relation to plasma and erythrocyte ω -6 and ω -3 fatty acids in healthy term gestation infants. *Am J Clin Nutr* 1994b; 60: 347-52.

Innis SM, Quinlan P, Diersen Schade D. Saturated fatty acid chain length and positional distribution in infant formula: effects on growth and plasma lipids and ketones in piglets. *Am J Clin Nutr* 1993; 57 (3): 382-390.

ISSFAL: <http://www.issfal.org.uk/adequateintakes.htm> (Abril, 2000)

ISSFAL: <http://www.issfal.org.uk/infantnutr.htm> (Abril, 2000)

Janas LM, Picciano MF, Hatch TF. Indices of protein metabolism in term infants fed either human milk or formulas with reduced protein concentrations and various whey/casein ratios. *J Pediatr* 1987; 110: 838-48.

Jarvenpää AL, Rähä NC, Rassin DK, Gaull GE. Milk protein quantity and quality in the term infant. I. Metabolic responses and effects on growth. *Pediatrics* 1982; 70: 214-20.

Jensen RJ. Lipids in human milk - composition and fat-soluble vitamins. In: Leberthal E, editor. *Textbook of gastroenterology and nutrition in infancy*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1989. p. 157-208.

Jost R, Maire JC, Maynard F, Secretin MC. Aspects of whey protein usage in infant nutrition, a brief review [errata publicada em *Int J Food Sci Technol* 2000; 35: 255]. *Int J Food Sci Technol* 1999; 34: 533-42.

Kleinman RE, Stoker TW. Formulas adaptadas: la perspectiva americana. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, editores. *Nutrición en pediatría extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Edições Ergon, S.A.. 1995. p. 22-31.

Koletzko B, Thiel I, Abiodun PO. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr* 1992; 120: S87-92.

Lawrence PB. Breast milk. Best source of nutrition for term and preterm infants. *Pediatr Clin North Am* 1994; 41 (5): 925-41.

Levy L. A Alimentação no Primeiro Ano de Vida. *Revista Portuguesa de Pediatria* 1994; 25:191-204.

Lien EL. The role of fatty acid composition and positional distribution in fat absorption in infants. *J of Ped* 1994; 125: S62-8.

Lonnerdal B, Hernell O. Iron, zinc, copper and selenium status of breast-fed infants and infants fed trace element fortified milk-based infant formula. *Acta Paediatr* 1994; 83: 367-73.

Lucas A, Quinlan P, Abrams S, Ryan S, Meah S, Lucas PJ. Randomized controlled trial of a synthetic triglyceride milk formula for preterm infants. *Arch Dis Child* 1997; 77: F178-84.

Makrides M, Neumann M, Simmer K, Pater J, Gibson R. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995; 345 (8963): 1463-8.

Makrides M, Simmer K, Goggin M et al. Erythrocyte docosahexaenoic acid correlates with the visual response of healthy, term infants. *Pediatr Res* 1993; 34: 425-7.

Maurage C, Guesnet P, Pinault M, Rochette de Lempdes J, Durand G, Antoine J, et al. Effect of two types of fish oil supplementation on plasma and erythrocyte phospholipids in formula-fed term infants. *Biol Neonate* 1998; 74 (6): 416-29.

Morgan C, Davies L, Corcoran F et al. Fatty acid balance studies in term infants fed formula milk containing long-chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Ped* 1998; 136-42.

Mota HC. Excesso de proteínas nos biberons. *Saúde Infantil* 1991; XIII: 185-9.

Nelson SE, Ziegler EE, Copeland AM, Edwards BB, Fomon SJ. Lack of adverse reactions to iron-fortified formula. *Pediatrics* 1988; 81: 360-4.

Newton IS. Global food fortification perspectives of long-chain ω -3 fatty acids. *World Rev Nutr Diet* 1998; 83: 199-209.

Picone TA, Benson JD, Moro G et al. Growth, serum biochemistries and amino acids of term infants with amino acid and protein concentrations similar to human milk. *J Pediatr Gastroent Nutr* 1989; 9: 351-60.

Quinlan P. Effect of TAG structure and fatty acid positional distribution on fatty acid absorption in rats: validation of the betapol-2 concept as a fat for use in infant formula. Internal Unilever Research Report. March, 1994.

Quinlan PT, Lockton S, Irwin J, Lucas AL. The relationship between stool hardness and stool composition in breast and formula-fed infants. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 81-90.

Räihä NCR, Axelsson IE. Protein nutrition during infancy. *Pediatr Clin N Am* 1995; 42 (2): 745-64.

Räihä NCR, Minoli I, Moro G. Milk protein intake in term infants: I. Metabolic responses and effects on growth. *Acta Paediatr Scand* 1986; 75: 881-6.

Rodríguez-Soriano J. Adaptation of renal function from birth to one year. In: Ballabriga A, Rey J, eds. *Weaning: Why, What and When?*. 1st ed. New York: Nestlé Nutrition, Vevey/Raven Press; 1987. p. 63-75.

Rodriguez-Palmero M, Koletzko B, Kunz C, Jensen R. Nutritional and biochemical properties of human milk: II. Lipids, micronutrients, and bioactive factors. *Clin Perinatol* 1999; 26 (2): 335-59.

Salazar de Sousa J. Alimentacion complementaria. Destete. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, eds. *Nutricion en pediatria extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Ediciones Ergon, S.A.. 1995. p. 31-5.

Scariata PD, Grummer-Strawn LM, Fein SB, Yip R. Risk of Diarrhea Related to Iron Content of Infant Formula: Lack of Evidence to support the Use of Low-iron Formula as a supplement for Breastfed Infants. *Pediatrics* 1997; 99 (3): URL: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/99/3/e2>

Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nut*, 1991; 54 (3): 438-463.

Singhal A, Morley R, Chir MBB, Abbott R, Fairweather-Tait S, Stephenson T, et al. Clinical safety of iron-fortified formulas. *Pediatrics* 2000; 105 (3). URL: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/105/3/e38>

Small DM. The effects of glyceride structure on absorption and metabolism. *Annual Review of Nutrition* 1991; 11: 413-34.

Stehlin IB. Infant formula: second best but good enough. U.S. Food and Drug Administration. FDA Consumer 1996. URL: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/fdacinf.html>

Stevens D, Nelson A. Efeito da adição de ferro no leite depois dos 6 meses de idade. *Actualidade em Pediatria* 1996; IV: 61-67.

Sugarman M, Kendall-Tackett KA. Weaning ages in a sample of American women who practice extended breastfeeding. *Clin Pediatr* 1995; 34: 642-7.

Uauy R, Andraca I. Human milk and breast feeding for optimal mental development. *Journal of Nutrition* 1995; 125 (8): S2278-80.

Vigi V, Chierici R. Formulas especiales en nutrición infantil. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, editores. *Nutricion en pediatria extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Edições Ergon, S.A.. 1995. p. 85-99.

Walter T, Pino P, Pizarro F, Lozoff B. Prevention of iron-deficiency anemia. Comparison of high- and low-iron formulas in term healthy infants after six months of life. *The Journal of Pediatrics* 1998; 132 (4): 635-40.

Wells JCK. Nutritional considerations in infant formula design. *Semin Neonatol* 1996; 1: 19-26.

Wharton B. Which milk for normal infants? *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: S27-32.

Willats P, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. *The Lancet* 1998; 352 (9129): 688-91.

Winter CH, Hoving EB, Muskiet FAJ. Fatty acid composition of human milk triglyceride species. Possible consequences for optimal structure of infant formula triglyceride. *J Chromatography* 1993; 616: 9-24.

Bibliografia consultada

Ackman RG. Docosahexaenoic acid in the infant and its mother. *Lipids* 1999; 34 (2): 125-128.

Aggett P, Bresson JL, Hernell O, Koletzko B, Lafeber H, Michaelson KF et al.. Comment on the vitamin E content in infant formulas, follow-on formulas, and formulas for low birth weight infants. ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998 Mar; 26 (3): 351-2.

Agostoni C, Grandi F, Gianni ML, Silano M, Torcoletti M, Giovannini M et al. Growth patterns of breast fed and formula fed infants in the first 12 months of life: an Italian study. *Arch Dis Child* 1999; 81:395-9.

Agostoni C, Marangoni F, Bernardo L, Lammardo AM, Galli C, Riva E. Long-chain polyunsaturated fatty acids in human milk. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88 (430): 68-71.

Agostoni C, Marangoni F, Giovannini M et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids, infant formula and breastfeeding. *Lancet* 1998; 352: 1703-4.

Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Bruzzese MG, Giovannini M. Development quotient at 24 months and fatty acid composition of diet in early infancy: a follow up study. *Arch Disease Child* 1997; 76: 421-424.

Alessandri JM, Goustard B, Guesnet P, Durand G. Docosahexaenoic acid concentrations in retinal phospholipids of piglets fed an infant formula enriched with long-chain polyunsaturated fatty acids: effects of egg phospholipids and fish oils with different ratios of eicosapentaenoic acid to docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (3): 377-85.

Alexander JW. Immunonutrition: the role of omega-3 fatty acids. *Nutrition* 1998; 14 (7/8): 627-633.

Andersen S. Microencapsulated marine omega-3 fatty acids for use in the food industry. *Food Tech Europe* 1994; 1 (5): 104-106.

Anon. Betapol, a breakthrough in infant formula fats. *World of Ingredients* 1996; March/April, 41-42.

Arbuckle LD; Innis SM. Docosahexaenoic acid is transferred through maternal diet to milk and to tissues of natural milk-fed piglets. *J Nutr* 1993; 123: 1668.

Auestad N, Montalto MB, Hall RT, Fitzgerald KM, Wheeler RE et al.. Visual acuity, erythrocyte fatty acid composition, and growth in term infants fed formulas with long chain polyunsaturated fatty acids for one year. *Ross Pediatric Lipid Study. Pediatr Res* 1997; 41 (1): 1-10.

Bajpai P, Bajpai PK. Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review. *J Biotech* 1993; 30: 161-183.

Bakker EC, van Houwelingen AC, Hornstra G. Early nutrition, essential fatty acid status and visual acuity of term infants at 7 months of age. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53 (11): 872-9.

Barness LA. History of infant feeding practices. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 168-70.

Barness LA., Castle JL. The term infant. In: Walker WA, Watkins JB, editors. *Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications*. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 413-22.

Barnes LA., Castle JL. The term infant. In: Walker WA, Watkins JB, editors. Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 413-22.

Baur LA, O'Connor J, Pan DA, Wu BJ, O'Connor MJ, Storlien LH. Relationships between the fatty acid composition of muscle and erythrocyte membrane phospholipid in young children and the effect of type of infant feeding. *Lipids* 2000; 35 (1): 77-82.

Bellisle F, Blundell J E, Dye L, Fantino M, Fern E, Fletcher R J et al.. Functional food science and behaviour and psychological functions. *British J Nut* 1998; 80 (suppl. 1): S173-S193.

Bendich A, Brock PE. Rationale for the introduction of long chain polyunsaturated fatty acids and for concomitant increase in the level of vitamin E in infant formulas. *Int J Vitam Nut Res* 1997; 67 (4): 213-31.

Birch DG, Birch EE, Hoffman DR, Uauy R. Dietary essential fatty acid supply and visual acuity development. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33 (11): 3242-3253.

Birch DG, Birch EE, Hoffman DR, Uauy RD. Retinal development in very-low-birth-weight infants fed diets differing in omega-3 fatty acids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33 (8): 2365-76.

Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res* 1998; 44 (2): 201-9.

Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res* 1998; 44 (2): 201-9.

Bitman J, Wood DL, Hamosh M et al. Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1983; 38: 300.

BNF: www.nutrition.org.uk

Boehles H, Gebhardt B, Beeg T. Reflections about possible nutritional supplements in infant milk formula. *Zeitschrift fuer Ernaehrungswissenschaft* 1998; 37 (2): 132-146.

Boehm G, Borte M, Bohles HJ, Muller H, Kohn G, Moro G. Docosahexaenoic and arachidonic acid content of serum and red blood cell membrane phospholipids of preterm infants fed breast milk, standard formula or formula supplemented with n-3 and n-6 long chain polyunsaturated fatty acids. *Europ J Ped* 1996; 155: 410-6.

Bondia Martinez E, Lopez Sabater MC, Castellote Bargallo AI, Rodriguez Palmero M, Gonzalez Corbella MJ, Rivero Urgell M et al.. Fatty acid composition of plasma and erythrocytes in term infants fed human milk and formulae with and without docosahexaenoic and arachidonic acids from egg yolk lecithin. *Early Hum Dev* 1998; 53 Suppl: S109-19.

Booth IW, Aukett MA. Iron deficiency anaemia in infancy and early childhood. *Arch Dis Child* 1997; 76: 549-554.

Breckenridge WC, Marai L, Kuksis A.. Triglyceride structure of human milk fat. *Canadian Journal of Biochemistry* 1969; 47: 761-9.

Carlson SE, Ford AJ, Werkman SH, Peeples JM, Koo WWK. Visual acuity and fatty acid status of term infants fed human milk and formulas with and without docosahexaenoate and arachidonate from egg yolk lecithin. *Ped Res* 1996; 39: 882-8.

Carlson SE, Werkman SH, Rhodes PG, Tolley EA. Visual-acuity development in healthy preterm infants: effect of marine-oil supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993; 58 (1): 35-42.

Carlson SE. Arachidonic Acid Status of Human Infants: Influence of Gestational Age at Birth and Diets with Very Long Chain n-3 and n-6 Fatty Acids. *J Nutr* 1996; 126 (4): 1092S-1098S.

Carlson SE. Behavioral methods used in the study of long-chain polyunsaturated fatty acid nutrition in primate infants. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1 Suppl): 268S-74S.

Carlson SE. Long-chain polyunsaturated fatty acids and development of human infants. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88 (430): 72-7.

Carlson SE. The role of PUFA in infant nutrition. *INFORM* 1995; 6 (8): 940-946.

Carnielli V P, Luijendijk I H T, van Goudoever J B, Sulkers E J, Boerlage A, Degenhart H J et al.. Synthesized triacylglyceride with the unique stereoisomeric structure of human milk fat: effect on fat and mineral balance. *Ped Res* 1994; 35: 1839.

Carnielli VP, Luijendijk IHT, van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ et al.. Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: effect on fat, fatty acid and mineral balance. *J Ped Gastroent Nut* 1996; 23 (5): 553-60.

Ciências e técnicas da alimentação humana, Comissão das Comunidades Europeias, Luxemburgo: 28ª série, EUR 14452, 1993.

Clandinin MT et al. Assessment of the efficacious dose of arachidonic and docosahexaenoic acids in preterm infant formulas: fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids. *Ped Res* 1997; 42: 819-825.

Clandinin MT, Chapell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev* 1980; 4: 121-31.

Clandinin MT, Van Aerde JE, Parrott A, et al. Assessment of feeding different amounts of arachidonic and docosahexaenoic acids in preterm infant formulas on the fatty acid content of lipoprotein lipids. *Acta Paediatr* 1999; 88: 890-6.

Clark KJ, Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. Determination of the optimal ratio of linoleic acid to alpha-linolenic acid in infant formulas. *J Pediatr* 1992; 120: S151-8.

Clifford W Lo. Human milk: nutritional properties. In: Walker WA, Watkins JB, editors. *Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications*. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 436-48.

Codex Alimentarius Commission. Codex standards for foods for special dietary uses including foods for infants and children and related code of hygienic practice. *Codex Alimentarius*, vol. IX, Suppl 3. Rome: FAO/WHO, 1988.

Codex Alimentarius Commission. Report of the 22nd session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. FAO/WHO Food Standards Programme 2000. Cohen Z; Norman HA; Heimer YM. Microalgae as a source of omega3 fatty acids. *World Review of Nutrition and Dietetics* 1995; 77: 1-31.

- Connor CE. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1): 171S-175S.
- Connor SL, Zhu N, Anderson GJ, Hamill D, Jaffe E, Carlson J et al.. Cheek cell phospholipids in human infants: a marker of docosahexaenoic and arachidonic acids in the diet, plasma, and red blood cells. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1): 21-27.
- Connor WE, Neuringer M, Reisbick S. 1992. Essential fatty acids: the importance on n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nut Rev* 50: 21-29.
- Connor WE. Omega-3 essential fatty acids in infant neurological development. *Backgrounder* 1996; 1 (1): 1-6.
- Craig L Jensen, Maureen Maude, Robert E Anderson and William C Heird. Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1): 292S-299S.
- Cunnane S. Modelling human infant requirements for long-chain polyunsaturated fatty acids. *British Journal of Nutrition* 1999; 82 (3): 163-164.
- Cunnane SC, Brenna JT. Letter to the editor: docosahexaenoate requirement and infant development. *Nutrition* 1999; 15 (10): 801-802
- Cunnane SC, Francescutti V, Brenna JT, Crawford MA. Breast-fed infants achieve a higher rate of brain and whole body docosahexaenoate accumulation than formula-fed infants not consuming dietary docosahexaenoate. *Lipids* 2000; 35 (1): 105-11.
- Cuthbertson WFJ. Evolution of infant nutrition. *British Journal of Nutrition* 1999; 81 (5): 359-371.
- Davies PS. Energy requirements for growth and development in infancy. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (4): 939S-943S.
- de Bruin NC, Degenhart HJ, Gal S, Westerterp KR, Stijnen T, Visser HK. Energy utilization and growth in breast-fed and formula-fed infants measured prospectively during the first year of life. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (5): 885-96.
- Decsi T, Fekete M, Koletzko B. Plasma lipid and apolipoprotein concentrations in full term infants fed formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Eur J Pediatr* 1997; 156 (5): 397-400.
- Decsi T, Koletzko B. Growth, fatty acid composition of plasma lipid classes, and plasma retinol and alpha-tocopherol concentrations in full-term infants fed formula enriched with omega-6 and omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Paediatr* 1995; 84 (7): 725-32.
- Decsi T, Thiel I, Koletzko B. Essential fatty acids in full term infants fed breast milk or formula. *Arch Dis Child* 1995; 72 (1): F23-F28.
- Dewey KG, Heining J, Nommsen LA, Peerson JM, Lönnerdal B. Breast-fed infants are leaner than formula fed infants at 1 y of age: the darling study. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 140-5.
- Dorice M, Czajka-Narins. Minerals. In: Mahan LK, Escott-Stump S. *Krause's - Food, Nutrition and Diet Therapy*. London: WB Saunders company, 1996: 123-166.
- Elmadfa I; Majchrzak D. Fatty acid profile in baby food products. *Eur J Lipid Sci Technol* 2000; 270-275.

F. Edward Scarbrough. Some Food and Drug Administration perspectives of fat and fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (suppl.): 1578S- 1580S.

FAO/WHO. Fats and oils in human nutrition. 1997. FAO, Roma.

Farquharson J, Cockburn F, Patrick WA, Jamieson EC, Logan RW. Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet. *Lancet* 1992; 340: 810-3.

Farquharson J, Jamieson EC, Abbasi KA, Patrick WJA, Logan RW, Cockburn F. Effect of diet on the fatty acid composition of the major phospholipids of infant cerebral cortex. *Arch Dis Child* 1995; 72: 198-203.

Ferreira IMPLVO; Margarida A Ferreira. O leite materno e os preparados lácteos industrializados de alimentação infantil. *Revista de Alimentação Humana* 1996; II (3): 13-23.

Food and Nutrition Board. National Research Council. Recommended Dietary Allowances. 8th ed. Washington D.C.: National Academy of Sciences, 1974.

Foreword. *British J Nut* 1998; 80 (Suppl. 1): 53-54.

Gelardi RC, Mountford MK. Comments on LSRO (Life Sciences Research Office of the American Society for Nutritional Science's) report's recommendations on infant formula nutrient requirements. *J Nutr* 1999; 129 (7): 1390-2.

Genzel-Boroviczeny O, Wahle J, Koletzko B. Fatty acid composition of human milk during the 1st month after term and preterm delivery. *Eur J Pediatr* 1997; 156 (2): 142-7.

Gibson RA, Makrides M, Neumann MA, Simmer K, Mantzioris E, James MJ. Ratios of linoleic to alpha-linolenic acids in formulas for term infants. *J Ped* 1994; 125: S48-S55.

Gibson RA, Makrides M. n-3 polyunsaturated fatty acid requirements of term infants. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1 Suppl): 251S-55.

Gibson RA, Makrides M. The role of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) in neonatal nutrition. *Acta Paediatr* 1998; 87 (10): 1017-22.

Gibson RA, Neumann MA, Makrides M. Effect of dietary docosahexaenoic acid on brain composition and neural function in term infants. *Lipids* 1996; 31 Suppl: S177-81.

Gibson RA; Makrides M. Polyunsaturated fatty acids and infant visual development: a critical appraisal of randomized clinical trials. *Lipids* 1999; 34 (2): 179-184.

Gill DG, Vincent S, Segal DS. Follow-on formula in the prevention of iron deficiency: a multicenter study. *Acta Paediatr* 1997; 86: 683-9.

Giovannini M, Riva E, Agostoni C. The role of dietary polyunsaturated fatty acids during the first 2 years of life. *Early Hum Dev* 1998; 53 Suppl: S99-107.

González-Corbella MJ, López-Sabater MC, Castellote-Bargalló AI, et al. Plasma and erythrocyte a-tocopherol and plasma retinol concentrations in term infants fed formula enriched with long-chain polyunsaturated fatty acids. *Eur J Clin Nutr* 1998; 92: 813-818.

Grupo Origem (Amamentação On-Line): <http://www.aleitamento.org.br/composi.htm>

Guerra AJM. Lípidos e Nutrição. *Nascer e Crescer* 1998; 7 (3): 198.

Guesnet P; Pugo Gunsam P; Maurage C; Pinault M; Giraudeau B; Alessandri JM; Durand G; Antoine JM; Couet C. Blood lipid concentrations of docosahexaenoic and arachidonic acids at birth determine their relative postnatal changes in term infants fed breast milk or formula. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (2): 292-298.

Gurr M. Lipids in infant nutrition. *Lipid Technology* 1997; 9 (1): 14-7.

Hamosh M. Lipid metabolism in pediatric nutrition. *Pediatr Clin N Am* 1995; 42 (2): 839-59.

Haraldsson GG, Gudmundsson BÖ, Almarsson Ö. The synthesis of homogeneous triglycerides of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid by lipase. *Tetrahedron* 1995; 51 (3): 941-952.

Haraldsson GG, Thorarensen A. Preparation of phospholipids highly enriched with n-3 polyunsaturated fatty acids by lipase. *JAACS* 1999; 76 (10):1143-1149.

Haschke F, Golser A. Ventajas de la leche humana frente a las fórmulas infantiles. In: Marina C, del Pozo J, Morán J, eds. *Nutricion en pediatria extrahospitalaria*. 1st ed. Madrid (España): Ediciones Ergon, S.A.. 1995. p. 3-9.

Haschke F, Vanura H, Male C, Owen G, Pietschnig B, Schuster E, et al. Iron nutrition and growth of breast- and formula-fed infants during the first 9 months of life. *J Ped Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 151-6.

HINS: <http://www.hins.org> (Agosto 2000).

Hoban TJ. IV. Anticipating public reaction to the use of genetic engineering in infant nutrition. *Am J Clin Nut* 1996; 63 (4): 657S-662S.

Hornstra G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (suppl): 1262S-9S.

Huggins KW, Curtiss LK, Gebre AK, Parks JS. Effect of long chain polyunsaturated fatty acids in the sn-2 position of phosphatidylcholine on the interaction with recombinant high density lipoprotein apolipoprotein A-I. *J. Lipid Res.* 1998. 39: 2423-2431.

Innis S M, Dyer R, Quinlan P, Diersen-Schade D. Palmitic acid is absorbed as sn-2 monopalmitin from milk and formula with rearranged triacylglycerols and results in increased plasma triglyceride sn-2 cholesteryl ester palmitate in piglets. *J Nut* 1995; 125: 73-81.

Innis SM, Dyer RA, Lien EL. Formula containing randomized fats with palmitic acid (16:0) in the 2-position increases 16:0 in the 2-position of plasma and chylomicron triglycerides in formula-fed piglets to levels approaching those of piglets fed sow's milk. *J Nutr* 1997; 127 (7): 1362-1370.

Innis SM, Quinlan P, Diersen Schade D. Saturated fatty acid chain length and positional distribution in infant formula: effects on growth and plasma lipids and ketones in piglets. *Am J Clin Nutr* 1993; 57 (3): 382-390.

Innis SM. Plasma and red blood cell fatty acid values as indexes of essential fatty acids in the developing organs of infants fed with milk or formulas. *J Pediatr* 1992; 120 (4): S78-S85.

Innis, SM. Human milk and formula fatty acids. *J Ped* 1992; 120: S56-61.

Jarvis JK, Miller GD. Fat in infant diets. *Nutrition Today* 1996; 31 (5): 182-191.

Jensen CL et al. Effect of dietary linoleic/alpha-linolenic acid ratio on growth and visual function of term infants. *J Pediatr* 1997; 131: 200-9.

Jensen CL, Prager TC, Fraley JK, Chen H, Anderson RE, Heird WC. Effect of dietary linoleic/alpha-linolenic acid ratio on growth and visual function of term infants. *J Pediatr* 1997; 131 (2): 200-9.

Joint FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements. FAO, Bangkok, Thailand. September 21-30, 1998. PRELIMINARY REPORT ON RECOMMENDED NUTRIENT INTAKES. World Health Organization. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

JS Parks and AK Gebre. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the sn-2 position of phosphatidylcholine decrease the stability of recombinant high density lipoprotein apolipoprotein A-I and the activation energy of the lecithin:cholesterol acyltransferase reaction. *Journal of Lipid Research* 38: 266-275.

Kennedy K, Fewtrell MS, Morley R, Abbott R, Quinlan PT, Wells JC et al.. Double-blind, randomized trial of a synthetic triacylglycerol in formula-fed term infants: effects on stool biochemistry, stool characteristics, and bone mineralization. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (5): 920-7.

Kinney AJ. Designer oils for better nutrition. *Nature Biotechnology* 1996; 14 (8): 946.

Koletzko B, Thiel I, Springer S. Lipids in human milk: a model for infant formulae? *Europ J Clin Nutr* 1992; 46 (Suppl 4): S45-S55.

Koletzko B. Fats for brains. *Europ J Clin Nutr* 1992; 46 (Suppl 1): S51-S52.

Lapillonne A, Brossard N, Claris O, Reygrobellet B, Salle BL. Erythrocyte fatty acid composition in term infants fed human milk or a formula enriched with a low eicosapentanoic acid fish oil for 4 months. *Eur J Pediatr* 2000; 159 (1-2): 49-53.

Lawson M. Recent trends in infant nutrition. *Nutrition* 1998; 14 (10): 755-757.

Leaf AA. Essential fatty acids in neonatal nutrition. *Semin Perinatol* 1996; 1: 43-50.

Lien E L, Boyle F G, Yuhas R, Tomarelli R M, Quinlan P. The effect of triglyceride positional distribution on fatty acid absorption in rats. *J Ped Gastroent Nut* 1997; 25: 167-174.

Lonnerdal B, Hernell O. Iron, zinc, copper and selenium status of breast-fed infants and infants fed trace element fortified milk-based infant formula. *Acta Paediatr* 1994; 83: 367-373.

Lucas A, Stafford M, Morley R, Abbott R, Stephenson T, MacFadyen U, Elias-Jones A, Clements H. Efficacy and safety of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of infant-formula milk: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354 (9194): 1948-54.

Luukkainen P, Salo P, Nikkari T. Changes in the fatty acid component of term human milk from 1 week to 6 months of lactation. *J Ped Gastroent Nut* 1994; 18: 355-60.

Madrades M; Simmer K; Neumann M; Gibson R. Changes in the polyunsaturated fatty acids of breast milk from mothers of full-term infants over 30 wk of lactation. *Ame J Clin Nutr* 1995; 61 (6): 1231-1233.

Makrides M, Gibson RA. Long-chain polyunsaturated fatty acid requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1): 307-311.

- Makrides M, Neumann M, Simmer K, Pater J, Gibson R. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995; 345 (8963): 1463-8.
- Makrides M, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1994; 60 (2): 189-94.
- Makrides M, Neumann MA, Jeffrey B, Lien EL, Gibson RA. A randomized trial of different ratios of linoleic to alpha-linolenic acid in the diet of term infants: effects on visual function and growth. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1): 120-9.
- Makrides M, Neumann MA, Simmer K, Gibson RA. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acids do not influence growth of term infants: A randomized clinical trial. *Pediatrics* 1999; 104 (3 Pt 1): 468-75.
- Makrides M, Simmer K, Neumann M, Gibson R. Changes in the polyunsaturated fatty acids of breast milk from mothers of full-term infants over 30 wk of lactation. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1231-3.
- Martin J-C, Bougnoux P, Antoine J-M, Lanson M, Couet C. Triacylglycerol structure of human colostrum and mature milk. *Lipids* 1993; 28: 637-643.
- Martinez GA, Dodd DA. Milk feeding patterns in the U.S. during the first 12 months of life. *Pediatrics* 1983; 71: 166.
- Maurage C, Guesnet P, Pinault M, Rochette de Lempdes J, Durand G, Antoine J, Couet C. Effect of two types of fish oil supplementation on plasma and erythrocyte phospholipids in formula-fed term infants. *Biol Neonate* 1998; 74 (6): 416-29.
- Mead Johnson:
<http://www.meadjohnson.com/nutrition/news/december98.html#comparison> (Junho 2000).
- Michael L Burr. Lessons from the story of n-3 fatty acids. *Am J Clin Nut* 2000; 71 (1): 397S-398S.
- Morgan C, Davies L, Corcoran F et al. Fatty acid balance studies in term infants fed formula milk containing long-chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Ped* 1998; 136-42.
- Morgan C, Stammers J, Colley J, Spencer SA, Hull D. Fatty acid balance studies in preterm infants fed formula milk containing long-chain polyunsaturated fatty acids (LCP) II. *Acta Paediatr* 1998; 87: 318-24.
- Morley R. Nutrition and cognitive development. *Nutrition* 1998; 14 (10): 752-754.
- Nelson CM, Innis SM. Plasma lipoprotein fatty acids are altered by the positional distribution of fatty acids in infant formula triacylglycerols and human milk. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (1): 62-9.
- Nettleton JA. Omega-3 Fatty acids: comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *JADA* 1991; 91 (3): 331-337.
- Neuringer M. Cerebral cortex docosahexaenoic acid is lower in formula-fed than in breast-fed infants. *Nutrition Reviews* 1993; 51 (8): 238-241.
- Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1 Suppl): 256S-67S.

Newton IS. Long chain fatty acids in health and nutrition. *J Food Lipids* 1996; 3: 233-249.

Newton IS. Long-chain polyunsaturated fatty acids - the new frontier in nutrition. *Lipid Technology* 1998; 10 (4): 77-81.

NICHD: <http://www.nichd.nih.gov/cochrane/Simmer/Simmer.htm> (Fevereiro 2000).

PhD MM, Neumann MA, Simmer K, Gibson RA. A critical appraisal of the role of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids on neural indices of term infants: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2000; 105 (1 Pt 1): 32-8.

Quinlan P. Effect of TAG structure and fatty acid positional distribution on fatty acid absorption in rats: validation of the betapol-2 concept as a fat for use in infant formula. Internal Unilever Research Report. March, 1994.

Salem N. Omega-3 fatty acids: molecular and biochemical aspects. In: Spoiler GA, Scala J (ed). *New protective roles for selected nutrients*. New York: Alan R. Liss, Inc., 1989: 109-228.

Salmenperä L, Perheentupa J, Pakarinen P, Siimes MA. Zinc supplementation of infant formula, *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 958-9.

Saris WHM, Asp NGL, Björck I, Blaak F, Bornet F, Brouns F et al.. Functional food science and substrate metabolism. *British J Nut* 1998; 80 (Suppl. 1): S47-S75.

Scott DT, Janowsky JS, Carroll RE, Taylor JA, Auestad N, Montalto MB. Formula supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids: are there developmental benefits? *Pediatrics* 1998; 102 (5): E59.

Scowen P. The uses of follow-on milks. *Prof Care Mother Child* 1996; 6 (5): 130-1.

Sheila M Innis. Essential fatty acids in infant nutrition: lessons and limitations from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requirements. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; 71 (1): 238-244.

Shih Tsung Yu. Microbial production of docosahexaenoic acid (DHA). *Dissertation Abstracts International* 1997, B; 58 (6): 3184.

Silva AC. Diversificação alimentaria. Salazar de Sousa J, Alfonso de Carvalho C (Eds). *Nutrição em Pediatria: Informação básica*. Lisboa: Publicação da Direcção Geral de Saúde, 1983: 65-9.

Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nut*, 1991; 54 (3): 438-463.

Simpósium Terapêutico - Enciclopédia de Especialidades Farmacêuticas Portuguesas. Lisboa: Medi Média Edições Simposium, Lda, 2000: 1461-1482.

Statutory Instruments. The Infant Formula and Follow-on Formula (Amendment) Regulations. 1997. London: HMSO. <http://www.hmso.gov.uk/si/si1997/97045101.htm>

Statutory Instruments. The Infant Formula and Follow-on Formula Regulations. 1995. London: HMSO.

Stehlin IB. Infant formula: second best but good enough. U.S. Food and Drug Administration. FDA Consumer 1996. URL: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/fdacinf.html>

Stoker TW, Kleinman RE. Standard and Specialized enteric feeding practices in nutrition. In: Walker WA, Watkins JB, editors. Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 727-33.
Thomas AB Sanders. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. Am J Clin Nutr 2000; 71 (1): 176S-178S.

Uauy R, Hoffman DR. Essential fat requirements of preterm infants. Am J Clin Nutr 2000; 71 (1): 245-250.

Udall JN Jr. Fish oil: for use in infant formula? J Ped Gastroent Nutr 1999; 28: 244-5.

University of Colorado: <http://www.cs.colorado.edu/~kolina/advantages-of-formula.html>

Vanderhoof J, Gross S, Hegyi T, Clandinin T, Porcelli P, DeCristofaro J et al.. Evaluation of a long-chain polyunsaturated fatty acid supplemented formula on growth, tolerance, and plasma lipids in preterm infants up to 48 weeks postconceptional age. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1999; 29 (3): 318-26.

Wasserhess P, Becker M, Staab D. Effect of taurine on synthesis of neural and acidic sterols and fat absorption in preterm and full term infants. Am J Clin Nutr 1993; 58: 349-53.

Wells J. Infant and follow-on formulas: the next decade. BNF Nutrition Bulletin 1998; 23 (Suppl. 1): 23-34.

Wharton B. Weaning: pathophysiology, practice, and policy. In: Walker WA, Watkins JB, editors. Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications. 2nd ed. London: B.C. Decker Inc. Publisher; 1997. p. 423-35.

Woods J, Ward G, Salem N Jr. Is docosahexaenoic acid necessary in infant formula? Evaluation of high linolenate diets in the neonatal rat. Pediatr Res 1996;40 (5): 687-94.

Xiang M, Alfven G, Blennow M, Trygg M, Zetterstrom R. Long-chain polyunsaturated fatty acids in human milk and brain growth during early infancy. Acta Paediatr 2000; 89 (2): 142-7.

Anexos

Índice de anexos

I_Principais componentes imunológicos do leite materno

II_Concorrência

III_Tabela comparativa

IV_Índice químico da proteína da fórmula de transição

V_Ensaio n.º 1

VI_Ensaio n.º 2

VII_Ensaio n.º 3

VIII_Ensaio n.º 4

IX_Ensaio n.º 5

I_Principais componentes imunológicos do leite materno

Principais Componentes Imunológicos do Leite Materno*

IgA Secretora	Impermeabilização anti-séptica das mucosas (digestiva, respiratória, urinária)
Lactoferrina	Acção Bacteriostática (retirada de ferro)
Lisozima	Acção bactericida (Lise das bactérias)
Macrófagos	Fagocitose (engloba as bactérias)
Factor bífido	Lactobacilos - ácidos orgânicos: bactericida

* Adaptado de Grupo Origem (Amamentação On-Line) 2000.

II_Concorrência

		ENFALAC II	S-26 II	NUTRIBÉN Cont 83	SIMILAC 2	MILTINA 2	BEBELAC 2	APTAMIL 2 83	NAN 2 83	NIDINA 2 83	NUTRI LON PLUS
Energia	cal Kj	67.6 284	67 281	74 310	68 285	76 320	74 310	73	67 280	67 280	
PROTEÍNAS	g	2.2	2.2	1.8	1.5	1.7	2.1	1.9	2.2	2.24	
Caseína	g					0.82	1.7				
Proteína sérica	g					0.86	0.4				
Cas / P sér.			60/40			49/51		50/50			60/40
LÍPIDOS	g	3	3	3.3	3.65	3.6	3.3	3.4	3	2.94	
Ác. Oleico	G										
Ác. Linoleico	mg	500	400	410	730	550	400		380	440	
Ác. Linolénico	mg	50	-	41	83	55	40				
GLÍCIDOS	g	8	7.8	9.3	7.3	9.1	9	8.7	7.9	7.9	
Lactose	g			6.2 (66.6%)		5.8 (64%)	6.8 (75%)	6.8	7.9	3.3 (42%)	
Maltodextrina	g			3.0 (33.3%)		1.0 (11%)	0.6 (6.6%)	0.3		4.6 (58%)	
Amido	g					2.3(25%)	1.6 (17.7%)	0.9			
Glicose	g					0.02	0.01				
Maltose	g						0.01				
Sacarose	g							0.7			
Vitaminas											
A	µg	68.8	75	73	75	80					
D	µg	1	1.2	1.9	1.14	2					
E	mg	1.4	0.74	1.3	1.3	0.8					
C	mg	8	9	9.9	6.1	15					
B ₁ (Tiamina)	µg	54	100	70	80	0.1					
B ₂ (Riboflavina)	µg	100	150	112	150	0.16					
B ₅ (ác. Pantoténico)	mg	0.34	0.3	0.33	0.39	1					
B ₆	µg	60	60	44	41	0.14					
B ₉ (ác. Fólico)	µg	10	8	10.7	9.5	20					
B ₁₂ (Cianocobalamina)	µg	0.2	0.2	0.15	0.28	0.2					
PP (Niacina)	mg	0.68	0.9	0.383	0.71	1.8					
Biotina	µg	2	2	2.3	3	2.9					
K	µg	5.4	6.7	5.4	10	2.4					
Colina	mg	8	10	13.6	10.8	3.8					
Inositol	mg	3.4	-	-	3.2	3.7					
Minerais	g										
Ca	mg	78.4	90	80	57	119					
P	mg	62	62	55	32	86					
Ca / P		1.2	1.5	1.5	1.8	1.4					
I	µg	5.4	12	8	9	14					
Fe	mg	1.2	1.3	1	1.2	0.9				1.2	
Mg	mg	7.4	8	8.3	4.5	8.3					
Zn	mg	0.68	0.6	0.7	0.5	0.8					
Cu	µg	50	40	70	47	90					
Mn	µg	10	-	9.2	4	40					
Na	mg	33	33	27	19.2	37					
K	mg	100	107	85	85	102					
Cl	mg	68	71	51	44.8	68					
Selénio	µg		1.4		1.55						
Vit. E / ác. Linoleico		2.8		3.1	1.7	1.5					

		BLÉDILAIT 2 ²	VALIO FORWARD ²	NESTLÉ NATIVA 2 ²	NESTLÉ BABY 2 ²	EL CASTILLO NADÓ 2 ²		
Energia	cal	72	64	67	67	68		
	Kj	303	272	279	280	285		
PROTEÍNAS	g	1.95	2.1	2.2	2.2	2		
Caseína	g	1.55	1.7					
Proteína sérica	g	0.4	0.4					
Cas / P sér.		80:20	57:43					
LÍPIDOS	g	3.2	2.8	2.9	2.9	3.4		
Ác. Oleico	g					1.34		
Ác. Linoleico	mg	573	500	460	470	620		
Ác. Linolénico	mg	54	70		58			
GLICIDOS	g	9	7.9	7.9	7.9	7.4		
Lactose	g	6.9 (76%)	6 (76%)	7.9 (100%)	3.3 (42%)	6.88 (93%)		
Maltodextrina	g	2.1 (24%)	1.9 (24%)					
Amido	g							
Glicose	g							
Maltose	g							
Sacarose	g							
VITAMINAS								
A	µg	63	87	80	80	55		
D	µg	1.5	1.3	1.5	1.5	1.2		
E	mg	0.8	0.7	0.8	0.5	1.4		
C	mg	7.2	13	6.7	6.7	10		
B ₁ (Tiamina)	µg	80	56	100		50		
B ₂ (Riboflavina)	µg	150	100	155		90		
B ₅ (ác. Pantoténico)	mg	0.5	0.3	0.5		0.25		
B ₆	µg	120	56	135		50		
B ₉ (ác. Fólico)	µg	17	12.6	20		6		
B ₁₂ (Cianocobalamina)	µg	0.3	0.1	0.1		0.1		
PP (Niacina)	mg	1.6	0.5	1.8		0.1		
Biotina	µg	2.2	1.1	2.3		1.4		
K	µg	7.2	4		3			
Colina	mg		11	6.7	6.7	6		
Inositol	mg			3.4	3.4			
MINERAIS								
Ca	mg	72	72	81	81	80.4		
P	mg	58	55	66	69	65.3		
Ca / P		1.2	1.3	1.2	1.2	1.2		
I	µg	10.8	8	14	14	7		
Fe	mg	1.4	1	1.1	1.1	1.1		
Mg	mg	7.1	7	7.5	7.3	9		
Zn	mg	0.6	0.5	0.8	0.8	1.2		
Cu	µg	63	40	80	80	35		
Mn	µg	1.8	--					
Na	mg	32	30	32	32	31.6		
K	mg	95	100	105	105	103.1		
Cl	mg	54	70	76	76	74.3		
Selénio	µg							
Vit. E / ác. Linoleico		1.4	1.4	1.7	1.0	2.25		

1 Leite em pó
2 Leite pronto a usar

III_Tabela comparativa

Tabela comparativa das recomendações e dos valores escolhidos para a fórmula do presente projecto

		60- 75/100ml	60- 80/100ml	71.5/100ml
Energia	Kcal			
Proteína	g	1.8-3.0	3.0-4.5	2.79
Caseína	g			1.2/100ml
P. Soro	g			0.8/100ml
Caseína/p. Soro				60/40
Lípidos	g	4.4-6.5	4.0-6.0	4.89
LAURICO	mg		<15%	11.6%
Mirístico	mg		<15%	4.2%
Erúico	mg		<1%	0.1%
Palmitico	mg			21.8%
Oleico	mg			39.8%
LA	mg	300-1200	500-1200	455 13%
LNA	mg	>50		45.5 1.3%
LA/LNA		5-15	5-15	10
AA	mg			0.5%
DHA	mg			0.5%
EPA	mg			0.1%
DHA/EPA				5
ω-6	mg			470
ω-3	mg			73
ω-6/ω-3				6/1
AGS	%			43-45
MUFAs	%			38-41
PUFAs	%			15-17
Glicídios	g	7-14	8.0-12.0	11.18
Lactose	g			6/100ml
Maltodextrina	g			2/100ml
Sacarose+frutose+mel	%		<20	0

Vitaminas				
A	µg	60-180	75-225	111.88
D	µg	1-2.5	1-3	2.09
E	mg	>0.5	>0.7	1.67
K	µg	>4	>4	6.85
C	mg	>8	>8	13.98
Tiamina (B ₁)	µg	>40	>40	104.89
Riboflavina (B ₂)	µg	>60	>60	167.8
Ac. Pantoténico (B ₅)	µg	>300	>300	489
Vitamina B ₆	µg	>35	>45	146.85
Ac. Fólico (B ₉)	µg	>4	>4	20.979
Vitamina B ₁₂	µg	>0.10	>0.15	0.279
Biotina	µg	>1.5	>1.5	2.797
Niacina (PP)	mg	>0.8	>0.25	1.958
INOSITOL	mg			4.895
Minerais				
Na	mg	20-60	20-85	41.95
K	mg	60-145	>80	139.8
Cl	mg	50-125	>55	97.9
Ca	mg	>50	>90	111.88
P	mg	25-90	>60	83.91
Ca/P			1.0-2.0	1.3
Mg	mg	5-15	>6	10.489
Fe	mg	0.5-1.5	1.0-1.7	1.67
Zn	mg	>0.5	>0.5	0.979
Cu	µg	20-80	NE	69.9
I	µg	>5	>5	15.38
Mn	µg	>5		13.98
Se	µg	3-7		2.09
Vit E/PUFA				Mg/g PUFAs
				2.22

IV_Índice químico da proteína da fórmula de transição

Índice químico da proteína da fórmula de transição

Arginina	3.8	13.5	60.5	3.7	97.4%
Cistina	1.3	12.5	15.0	1.4	107.7%
Histidina	2.5	10.5	44.5	2.8	112.0%
Isoleucina	4.0	36.0	106.9	7.1	177.5%
Leucina	8.5	57.0	164.0	11.0	129.4%
Lisina	6.7	49.0	129.9	8.9	132.8%
Metionina	1.6	11.5	41.3	2.6	162.5%
Fenilalanina	3.4	19.0	80.6	4.1	120.6%
Treonina	4.4	39.5	76.9	5.8	131.8%
Triptofano	1.7	11.0	23.0	1.7	100%
Tirosina	3.2	16.0	83.9	5.0	156.3%
Valina	4.5	34.5	114.8	7.5	166.7%

¹ Em g por 100g de proteína (Decreto-Lei n.º 220/99).

² Quantidade fornecida por 0.6g de concentrado de proteína de soro.

³ Conforme o resultado do ensaio nº1.

⁴ Conforme o resultado do ensaio nº2.

⁵ Conforme exigido pelo ponto 2 do Anexo II do Decreto-Lei n.º 220/99.

V_Ensaio n.º 1

Desenvolvimento de Produtos

Preparação: 46.875% leite vaca

+

53.125% água

3 - Resultados do ensaio

boletim de análise nº _____ de / /
 análise sensorial nº _____ de / /

MILKOSCAN

leite vaca 3.21 a 3.20g/100ml

① 1.51 a 1.5g/100ml

② 1.50 a 1.5g/100ml

4 - Apreciação dos resultados

5 - Conclusões

Valores de P correctos

Sabor e aroma ligeiramente aquados

6 - Prosseguimento da acção ? Sim Não

Acção: _____

Assinatura: SIMAO Em 28/06/00

VI_Ensaio n.º 2

Desenvolvimento de Produtos

Preparação: ① 46.875% leite
 53.125% água
 1.6g / 100ml conc. A

② 46.875% leite
 53.125% água
 0.64g / 100ml conc B

3 - Resultados do ensaio

boletim de análise nº _____ de ____/____/____
 análise sensorial nº _____ de ____/____/____

MILIKOSCAN

① a) 2.0 e 2.0 / 100ml
 b) 2.1 e 2.0 / 100ml

② a) 2.0 e 2.1 / 100ml
 b) 2.0 e 2.0 / 100ml

4 - Apreciação dos resultados

Concentrado B é o escolhido porque apresenta menos a cor do leite

5 - Conclusões

Valores de p correctos
 Sabor e aroma ligeiros / agradáveis

6 - Prosseguimento da acção? Sim Não

Acção: _____

Assinatura: SILVIA Em 24/07/00

telefax

Nº destino : 256 66 02 54
Para : LACTOGAI,
Atn. : SNR. DR. SIMÃO MONTEIRO
Depto. : DESENVOLVIMENTO
Enviado por : RODRIGO DUARTE
Cópia para :
Data : 17-04-2000
Páginas : 1+2

Ref.: DMV - PROTEÍNAS DE SORO DE LEITE.

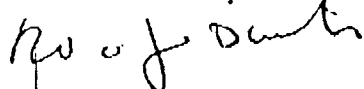
Conforme solicitado junto enviamos informação nutricional das duas proteínas de soro de leite:

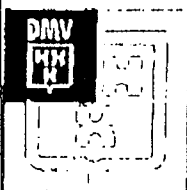
De seguida transcrevemos perfil de aminoácidos da proteína ESPRION 580 (g / 16 gN):

Isoleucine.....	7,2	Leucine.....	11,4
Lysine.....	9,8	Methionine.....	2,3
Cystine.....	2,5	Phenylalanine.....	3,8
Tyrosine.....	3,2	Threonine.....	7,9
Tryptophane.....	2,2	Valine.....	6,9
Arginine.....	2,7	Histidine.....	2,1

Aguardamos envio de informação referente à proteína ESPRION 300U.

Melhores Cumprimentos

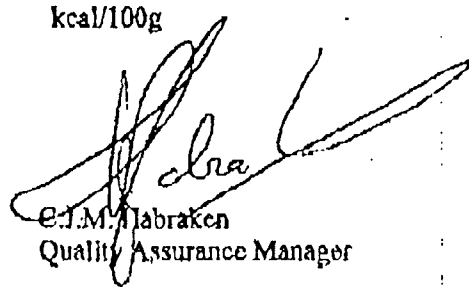




Nutritional information

Product : Esprion 580
 Issue date : November 1998
 Expiry date : October 2002

	Typical value	Unit
Protein	78.0	g/100g
Total fat	8	g/100g
of which - saturated	5	g/100g
- mono unsaturated	2.5	g/100g
Cholesterol	230	mg/100g
Lactose	4.0	g/100g
Potassium	0.5	g/100g
Calcium	0.4	g/100g
Phosphorus	0.3	g/100g
Sodium	0.2	g/100g
Magnesium	60.0	mg/100g
Chloride	50.0	mg/100g
Iron	1	mg/100g
Fibres	absent	
Energetic value (calculated):	1700	kJ/100g
	410	kcal/100g


 E.J.M. Jabraken
 Quality Assurance Manager

Verbruik van onze producten is niet toegestaan in overeenstemming met de voedselwetgeving in sommige landen. We do, nevertheless, advise customers to check the appropriate local legislation with regard to the application. The data shown here are intended merely for informational purposes and are in no way legally binding. Consequently we accept no responsibility, in the broadest sense of the word, for damage that may result from application of this information. Furthermore, this information does not constitute permission to infringe patent and license rights.

DMV International,
 Division of Conplex Melktoes
 KCE-Base 09, P.O. Box 10,
 5400 BA Veghel - The Netherlands.
 Telephone +31 (0)413 312222
 Telefax +31 (0)413 312695

VII_Ensaio n.º 3

Desenvolvimento de Produtos

1 - Produto a: desenvolver ensaiar

- Designação: TRANSIÇÃO
- Fornecedor: _____
- Objectivo: composição química / avaliação sensorial

2 - Ensaio: laboratorial industrial

- Número: _____ Data: 02/08/00
- Marcação: _____
- Formulação: _____

Nome ingredientes	Referência	Dosagem	Quantidade
leite vaca			
água			
conc. l. seco			
maltodextrina			
lactose			

Desenvolvimento de Produtos

Preparação: ① 46.875% leite
 53.125% água
 0.64% p. soro
 3.9% lactose
 2% maltodextrina

3 - Resultados do ensaio

boletim de análise nº _____ de ____/____/____
 análise sensorial nº _____ de ____/____/____

MILIOSCAN

a) 8 x 8.0 g / 100ml
 b) 8 x 7.9 g / 100ml

4 - Apreciação dos resultados

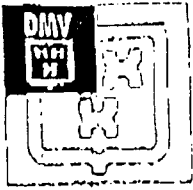
Valor de glóbulos correcto
 Menos aguada q̄ em ensaios anteriores

5 - Conclusões

6 - Prosseguimento da acção ? Sim Não

Acção: _____

Assinatura: SILVIO Em 02/08/00



CERTIFICATE OF STANDARDS OF WHITE EDIBLE LACTOSE, type B, prion 074

	<u>Specification</u>	<u>Typical</u>
Lactose monohydrate	min. 99.2 %	99.5 %
Water (KF)	max. 5.5 %	5.2 %
Protein (Nx6.38)	max. 0.3 %	0.1 %
Ash (600°C)	max. 0.3 %	0.1 %
Heavy metals	max. 5 mg/kg	passes test
Colour	White	
Taste	Sweet	
Odour	Neutral	
Particle size, < 45 µm		50- 70 %
Particle size, < 250 µm		99-100 %
Standard plate count	max. 5,000/g	<500/g
Yeasts	max. 25/g	<10/g
Moulds	max. 25/g	<10/g
Coliforms/Enterobacteria, sae	neg. in 0.1 g	neg. in 1 g
E.coli	neg. in 1 g	neg. in 10 g
Salmonella	neg. in 50 g	neg. in 50 g

The analytical data mentioned in this "Certificate of Standards" refer to DMV International method; based on international accepted methods (IDF, ISO, AOAC).

Quality Assurance Manager

J.M. Habraken
Ing. J.M. Habraken

Date of issue : December 1995
Supersedes issue date: August 1993

Versually all our products are permitted in accordance with the food legislation in many countries. We do, nevertheless, advise customers to check the appropriate food legislation with regard to the application. The details given here are intended merely for information purposes and are in no way legally binding. Consequently we accept no responsibility, in the broadest sense of the word, for damage that may result from application of this information. Furthermore, this information does not constitute permission to infringe patent and licence rights.

© Copyright: DMV INTERNATIONAL - Vaghat - The Netherlands

DMV International
Division of Cosypho / Vaghat
MCB-toren B1, P.O. box 19,
4460 BA Vaghat - b) Netherlonds
Telephone +31 (0) 11 372212
Telefax +31 (0) 11 372295

SPECIFICATIONS

PAGE 1/2

GLUCIDEX® IT 19

DEFINITION :

Malto-dextrine en poudre.
Mélange de saccharides nutritifs, obtenu par hydrolyse enzymatique
ménagée, purification et atomisation, d'amidon de maïs alimentaire.
CAS n° : 9050-36-6
EINECS : 232-940-4

1g - 3.84 Kcal

SPECIFICATIONS :

* PHYSICO-CHIMIQUES

ASPECT	MCL 0860	Poudre blanche
ODOUR	MCL 1780	Neutre
GOUT		Légèrement sucré
PORTE A LA DECOCCONATION	MCL 002B	5 % max.
MATIERES PROTEIQUES	MCL 030A	0,15 % max.
CENDRES SULFATRES	MCL 255A	0,1 % max.
SO2	MCL 060P	20 ppm max.
PH EN SOLUTION	MCL 020B	4,5 - 5,5
DEXTROSE EQUIVALENT	MCL 050B	18 - 20
DENSITE APPARENTE	MCL 095A	400 g/l env.
GRANULOMETRIE	MCL 110A	5 % max.
- PARTICULES SUR 500 MIC.		55 % MIN
- PARTICULES SUR 200 MIC.		95 % min.
- PARTICULES SUR 40 MIC.		

* MICROBIOLOGIQUES :

- GERMES AEROBIENS	MMC 2002A	1000/g max.
- LEVURES	MMC 2003A	50/g max.
- MOYASURES	MMC 2003A	50/g max.
- E. COLI	MMC 2009A	Absence en 10 g
- SALMONELLA	MMC 2010	Absence en 25 g
- SPORES DE C.S.F.	MMC 2015	50/10g max.

MCL, MMC: méthodes ROQUETTE

Levalan,
Le 19 Janvier 2000

ASSURANCE QUALITE / ALIMENTATION HUMAINE

SPECIFICATIONS

MCFI H69-225110

GLUCIDEX® IT 19

PAGE 2/2

VALEURS INDICATIVES :

COMPOSITION HYDROCARBONÉE MCL 190A

- GLUCOSE	2 % env.
- DISACCHARIDES	7 % env.
- POLYSACCHARIDES SUPERIEURS	91 % env.

COMPOSITION MINERALE

- SODIUM	50 ppm env.
- CHLORURES	50 ppm env.
- CALCIUM	10 ppm env.
- POTASSIUM	10 ppm env.

VALEUR ENERGETIQUE

calculée, sur 100g de produit commercial 1608 kJ (384 kcal)

CONFORMITE :

- US code of Federal Regulations 21 CFR, 1994 E 184.1444.
- FOOD CHEMICALS CODEX, 1e édition.

STOCKAGE :

Emballage standard : sac polyéthylène et papier de 25 kg,
conteneurs souple de 800 kg.

D.L.N.O du produit conditionné: date de fabrication + 24 mois.

MCL, MMC: Méthodes ROQUETTE

ASSURANCE QUALITE / ALIMENTATION HUMAINE

Lestrem,
Le 19 Janvier 2000ROQUETTE FRÈRES, 62080 LESTREM CEDEX FRANCE. TEL. 03.21.63.36.00, TEFIX 810458 F, TELECOM 03.21.63.38.50
SOCIETE ANONYME AU CAPITAL DE 55.815.084 F. RCS BETHUNE B 357.200.054 SIEGE SOCIAL 62136 LESTREM FRANCE TVA FR 46357200054

VIII_Ensaio n.º 4

Desenvolvimento de Produtos

1 - Produto a: desenvolver ensaiar

- Designação: TRANSICAO
- Fornecedor: _____
- Objectivo: Lípidos / análises sensorial

2 - Ensaio: laboratorial industrial

- Número: _____ Data: 03/00/00
- Marcação: _____
- Formulação: _____

Nome ingredientes	Referência	Dosagem	Quantidade
leite vaca			
água			
in. soro			
lactose			
maltodextrina			
mistura Açúcar A			
mistura lipídica B			

Desenvolvimento de Produtos

Preparação: _____

46.875% leite azedo	3.9% lactose
53.125% gms	2% maltodextrina
0.64% p. soro	3.5% mist. Lipidos A e B

3 - Resultados do ensaio

boletim de análise nº _____ de ____/____/____
 análise sensorial nº _____ de ____/____/____

MILKOS CAN

① a) 3.5 x 3.51 %
 b) 3.49 x 3.5 %

Gerben

② a) 3.49 x 3.5 %
 b) 3.5 x 3.51 %

4 - Apreciação dos resultados

Valores de acordo com os esperados

A nível sensorial, semelhante as características padrão.

5 - Conclusões

No entanto a mistura A é a escolhida.

6 - Prosseguimento da acção ? Sim Não

Acção: _____

Assinatura: SILVIA Em 03/10/00

Blend components	Marinol D40	ARA oil	Betapol 45	Blend
Content, %	1.2	1.3	97.5	100.0

Blend requirements	Required	Actual
Parameter		
Total saturated	45.2	44.0
of which myristic (C:14)	<15	4.2
of which lauric (C:12)	<12	11.6
Total monounsaturated	38.8	40.4
Total polyunsaturated	16	15.6
of which erucic (C 22:1)	<1.0	0.1
C 16:0 (palmitic)	23	21.8
C 18:1 (oleic)	34	39.8
C 18:2 (linoleic)	12.8	13.0
C 18:3 w3 (alpha-linolenic)	1.6	1.3
C 20:4 w6 (arachidonic)	0.5	0.51
C 22:6 w3 (DHA)	0.4	0.50
C 20:5 w3 (EPA)	0.06	0.06

Detailed fatty acid composition of the components and blend, %				
	Marinol D40	ARA oil	Betapol 45	Blend
C 6:0			0.1	0.1
C 8:0			0.9	0.9
C 10:0			0.9	0.9
C 12:0	0.0		11.9	11.6
C 14:0	2.3	1.5	4.3	4.2
C 14:1	0.1			0.0
C 15:0	0.7			0.0
C 16:0 (palmitic)	10.6	14.0	22.0	21.8
C 16:1	3.1	0.1	0.1	0.1
C 16:4 w3	0.1			0.0
C 17:0	1.2	0.4	0.1	0.1
C 18:0	3.4	11.0	3.6	3.7
C 18:1 (oleic)	10.2	11.1	40.5	39.8
C 18:2 w6 (linoleic)	1.2	6.7	13.2	13.0
C 18:3 w3 (alpha-linolenic)	0.4		1.3	1.3
C 18:3 w6		3.2		0.0
C 18:4 w3	1.1			0.0
C 20:0	0.4	0.8	0.3	0.3
C 20:1	1.0	0.3	0.4	0.4
C 20:2	0.2	0.4	0.1	0.1
C 20:3	0.2			0.0
C 20:3 w3	0.1			0.0
C 20:3 w6		3.9		0.1
C 20:4	2.5			0.0
C 20:4 w3	0.4			0.0
C 20:4 w6 (arachidonic)		39.3		0.5
C 20:5 w3 (EPA)	5.3			0.1
C 21:5 w3	0.3			0.0
C 22:0	0.4		0.3	0.3
C 22:1	0.2		0.1	0.1
C 22:4 w3	0.0			0.0
C 22:5 w3	1.6			0.0
C 22:6 w3 (DHA)	41.5			0.5
C 24:0	0.6	1.6	0.1	0.1
C 24:1	0.7			0.0
Others	10.2	1.8	0.0	0.1
Total	100.0	96.2	100.2	100.1

IX_Ensaio n.º 5

Desenvolvimento de Produtos

1 - Produto a: desenvolver ensaiar

- Designação: TRANSIÇÃO
- Fornecedor: _____
- Objectivo: Vitaminaes - análise sensorial

2 - Ensaio: laboratorial industrial

- Número: _____ Data: 10/10/00
- Marcação: _____
- Formulação: _____

Nome ingredientes	Referência	Dosagem	Quantidade
leite vaca			
água			
l. soro			
lactose			
malto dextrina			
frut. lipídica			
frut. vitamínica			

Desenvolvimento de Produtos

Preparação: 46.875% leite 3.5% gorduras
53.125% água 0.021% fit. nat.
0.64% l. seco
3.9% lactose
2% maltod.

3 - Resultados do ensaio

boletim de análise nº _____ de / /
 análise sensorial nº _____ de / /

Sensorial / igual ao padrão

4 - Apreciação dos resultados

5 - Conclusões

6 - Prosseguimento da acção ? Sim Não

Acção: _____

Assinatura: SIMÃO Em 10/10/00