

## ANÁLISE DA ESTABILIDADE LIPÍDICA DAS TRÊS FASES DE LACTAÇÃO DO LEITE HUMANO

Alisson de Lima Figueiredo (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Jesuí Vergílio Visentainer (Orientador), Jéssica dos Santos Pizzo (coorientador), e-mail: [alissonfigueiredo99@gmail.com](mailto:alissonfigueiredo99@gmail.com).

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Exatas e da Terra/Maringá, PR.

**Química/Analítica (10604006).**

**Palavras-chave:** alimento essencial, liofilização, ácidos graxos

### Resumo

O leite humano (LH) é uma fonte de alimento essencial para um bebê recém-nascido, devido à grande quantidade de nutrientes e substâncias bioativas. Durante a coleta e armazenamento do LH é aplicado o processo de pasteurização, para eliminar os microrganismos patogênicos presentes. Visando prolongar a sua vida útil, cessando o crescimento microbiano e retardando o processo de oxidação, o presente trabalho teve por objetivo analisar o perfil lipídico do LH pasteurizado e liofilizado nas três fases (colostro, transição e maduro) pela técnica de cromatografia em fase gasosa, para avaliar se a composição em ácidos graxos foi mantida após a liofilização, no período de 30 dias. Os resultados mostraram que a técnica de liofilização não alterou significativamente a composição em ácidos graxos presentes no LH, mostrando ser uma técnica promissora na conservação do alimento em relação aos ácidos graxos.

### Introdução

O leite humano (LH) é uma fonte de alimento essencial para um bebê recém-nascido até os seis primeiros meses de vida, devido à grande quantidade de nutrientes e substâncias bioativas, tais como capacidade antioxidante, fatores de crescimento imunológicos, enzimas e hormônios, que contribuem para o crescimento e desenvolvimento saudável da criança (HILL; NEWBURG, 2015).

O LH é classificado de acordo com o período de lactação da mãe. Do primeiro ao sétimo dia, é o leite colostro; do oitavo ao décimo quarto dia, leite de transição; e a partir do décimo quarto dia, leite maduro. O LH é rico em gordura e os ácidos graxos (AG) são seus principais constituintes, dentre eles o ácido palmítico (16:0) e o ácido oleico (18:1n-9) (MOHAMMAD; HAYMOND, 2013).

Visando prolongar a vida útil do leite materno, cessando o crescimento microbiano e retardando o processo de oxidação, o presente

trabalho teve por objetivo analisar o perfil lipídico do LH pasteurizado e liofilizado nas três fases de lactação (coloostro, transição e maduro) pela técnica de cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chamas (CG-DIC), para avaliar se a composição de ácidos graxos variava após a liofilização, no período de 30 dias.

## **Materiais e métodos**

### *Coleta, preparo de amostras e Liofilização do leite*

Foram coletadas amostras de LH pasteurizadas nas três fases de lactação (coloostro, transição e maduro), em frascos de vidro estéreis pré-marcados. Os leites foram transferidos para três *pools* de acordo com cada fase, misturados, homogeneizados e por fim armazenados a -18 °C.

As amostras de LH pasteurizadas e congeladas foram liofilizadas em liofilizador Alpha 1-2 LD Plus modelo 101522, a uma temperatura de aproximadamente -50 °C e pressão de 0,023 mbar. O leite em pó foi embalado a vácuo em sacos de alumínio e congelado à temperatura de -18 °C, para as análises posteriores.

### *Extração e esterificação/transesterificação dos lipídios totais*

A extração e a determinação dos lipídios totais foram realizadas de acordo com o método de Folch *et al.* (1957). A esterificação e transesterificação dos ácidos graxos foram realizadas segundo Hartman & Lago (1973).

### *Análise Cromatográfica dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos*

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) foram separados segundo Simionato *et al.* (2010). Utilizou-se um cromatógrafo a gás TRACE™ Ultra Thermo Scientific™ (Thermo Scientific™, USA), com um detector de ionização de chama e uma coluna de sílica fundida (100 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm cianopropil, CP-7420). A identificação dos EMAG foi feita através da comparação dos tempos de retenção com os padrões analíticos relativos (FAME Mix, C4-C24, Sigma-Aldrich), e os resultados foram expressos em porcentagem relativa do total de ácidos graxos, automaticamente processados pelo *software* Chromquest™ 5.0. As análises foram realizadas em triplicata.

### *Análise estatística*

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 95% e as médias comparadas pelo teste de *Tukey*, utilizando o *software* Statistica, versão 5.0.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados da quantidade de lipídios totais no LH nas três fases de lactação sem liofilizar e liofilizado no primeiro e no trigésimo dia.

**Tabela 1:** Lipídios totais (%) do leite humano nas três fases de lactação (colostró, transição e maduro) sem liofilizar e liofilizado nos dias 1 e 30.

Leite Humano	Lipídios totais (%)*		
	Sem liofilizar	Dia 1 Liofilizado	Dia 30 Liofilizado
Colostro	3,23 ± 1,01 <sup>A</sup>	3,22 ± 0,32 <sup>A</sup>	3,36 ± 0,08 <sup>A</sup>
Transição	3,66 ± 0,69 <sup>A</sup>	3,70 ± 0,74 <sup>A</sup>	3,75 ± 0,05 <sup>A</sup>
Maduro	3,42 ± 0,67 <sup>A</sup>	3,31 ± 0,43 <sup>A</sup>	3,69 ± 0,46 <sup>A</sup>

\*Embalados à vácuo, a -18°C. <sup>A</sup>Resultados expressos como média ± D.P (desvio padrão) de três replicatas. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha não possuem diferenças estatísticas (p<0.05) pelo teste de Tukey.

A partir da Tabela 1, pode-se observar que não houve diferença significativa entre a quantidade de lipídios totais das amostras de LH nas três fases de lactação sem liofilizar e liofilizado nos dias 1 e 30, indicando que o processo de liofilização foi eficiente para esse período de estocagem. As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam a composição dos principais ácidos graxos do LH nas três fases de lactação sem liofilizar e liofilizado no primeiro e no trigésimo dia.

**Tabela 2:** Composição em ácidos graxos (%) dos principais constituintes do leite humano colostro antes de liofilizar e depois de liofilizar nos dias 1 e 30.

Composição em ácidos graxos	Colostro sem Liofilizar	Colostro Liofilizado dia 1	Colostro Liofilizado dia 30
16:0	23,03 ± 0,16 <sup>A</sup>	23,23 ± 0,22 <sup>A</sup>	23,24 ± 0,16 <sup>A</sup>
18:1n-9	29,47 ± 0,75 <sup>A</sup>	29,30 ± 0,02 <sup>A</sup>	29,72 ± 0,03 <sup>A</sup>
18:2n-6	17,90 ± 0,42 <sup>A</sup>	17,81 ± 0,15 <sup>A</sup>	17,90 ± 0,43 <sup>A</sup>

\*Embalados à vácuo, a -18°C. <sup>A</sup>Resultados expressos como média ± D.P (desvio padrão) de três replicatas. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha não possuem diferenças estatísticas (p<0.05) pelo teste de Tukey.

**Tabela 3:** Composição em ácidos graxos (%) dos principais constituintes do leite humano de transição antes de liofilizar e depois de liofilizar nos dias 1 e 30.

Composição em ácidos graxos	Transição sem Liofilizar	Transição Liofilizado dia 1	Transição Liofilizado dia 30
16:0	21,29 ± 0,11 <sup>A</sup>	21,21 ± 0,08 <sup>A</sup>	21,20 ± 0,19 <sup>A</sup>
18:1n-9	29,30 ± 0,02 <sup>A</sup>	30,03 ± 0,08 <sup>A</sup>	30,00 ± 0,04 <sup>A</sup>
18:2n-6	18,00 ± 0,06 <sup>A</sup>	18,00 ± 0,06 <sup>A</sup>	18,00 ± 0,06 <sup>A</sup>

\*Embalados à vácuo, a -18°C. <sup>A</sup>Resultados expressos como média ± D.P (desvio padrão) de três replicatas. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha não possuem diferenças estatísticas (p<0.05) pelo teste de Tukey.

**Tabela 4:** Composição em ácidos graxos (%) dos principais constituintes do leite humano maduro antes de liofilizar e depois de liofilizar nos dias 1 e 30.

Composição em ácidos graxos	Maduro sem Liofilizar	Maduro Liofilizado dia 1	Maduro Liofilizado dia 30
16:0	22,17 ± 0,19 <sup>A</sup>	22,10 ± 0,09 <sup>A</sup>	22,09 ± 0,10 <sup>A</sup>
18:1n-9	29,98 ± 0,15 <sup>A</sup>	29,94 ± 0,28 <sup>A</sup>	30,03 ± 0,09 <sup>A</sup>
18:2n-6	19,25 ± 0,04 <sup>A</sup>	19,46 ± 0,15 <sup>A</sup>	19,37 ± 0,13 <sup>A</sup>

\*Embalados à vácuo, a -18°C. <sup>A</sup>Resultados expressos como média ± D.P (desvio padrão) de três replicatas. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha não possuem diferenças estatísticas (p<0.05) pelo teste de Tukey.

O ácido graxo majoritário nas três fases do leite foi o ácido oleico (18:1n-9) com um valor máximo de  $30,03 \pm 0,09\%$  no leite maduro liofilizado no trigésimo dia, seguido do ácido palmítico (16:0) com um valor máximo de  $23,24 \pm 0,16\%$  no colostro liofilizado no dia 30, seguido do ácido linoleico (18:2n-6) apresentando um valor máximo de  $19,46 \pm 0,15\%$  no leite maduro liofilizado no dia 1.

Analisando os resultados apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, pode-se observar que o processo de liofilização não alterou a composição dos AG nas amostras de LH, já que não houve diferença significativa dos resultados obtidos, tanto para o leite sem liofilizar, como para o leite liofilizado no dia 1 e no dia 30. Assim, o processo de liofilização mostrou ser uma técnica promissora, pois os nutrientes do alimento foram mantidos mesmo após a remoção da água com um aumento na sua vida útil.

## Conclusões

A partir dos resultados obtidos por CG-DIC das amostras de LH (colostro, transição e maduro) sem liofilizar e liofilizado no primeiro e trigésimo dia, observou-se que o processo de liofilização não alterou a composição em ácidos graxos do leite humano no período, aumentando a vida de prateleira e de diferentes expectativas para a sua utilização, além de facilidades no transporte e acondicionamento do alimento na forma de pó.

## Agradecimentos

Ao CNPq, a Fundação Araucária pelo apoio financeiro, ao DQI e APLE- A.

## Referências

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. **Laboratory Practice, London**, v. 22, n. 3, p. 475-473, 1973.

HILL, D. R.; NEWBURG, D. S. Clinical applications of bioactive milk components. **Nutrition Reviews**, v. 73, p. 463–476, 2015.

MOHAMMAD, M. A.; HAYMOND, M. W. Regulation of lipid synthesis genes and milk fat production in human mammary epithelial cells during secretory activation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 305, p.700–716, 2013.

SIMIONATO, J. I.; GARCIA, J. C.; SANTOS, G. T.; OLIVEIRA, C. C.; VISENTAINER, J. V. Validation of the Determination of Fatty Acids in Milk by

29º Encontro Anual de Iniciação Científica  
9º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



29 a 31 de outubro de 2020

Gas Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 520-524, 2010.