AVALIAÇÃO E ESTABILIDADE DA COMPOSIÇÃO BIOATIVA DE CITOCINAS E ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE HUMANO COLOSTRO LIOFILIZADO ARMAZENADO A LONGO PRAZO EM TEMPERATURA AMBIENTE

Lorena Maia da Silva[1] (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Deborah Heloise Fernandes Machado[2], Aline Francieli da Silva Duarte[2], Joana Maíra Valentin Zacarias[3], Jeane Eliete Laguila Visentainer[3], Eloize da Silva Alves[2] (Coorientadora), Jesuí Vergilio Visentainer[2,4] (Orientador). E-mail: loremaaia520@gmail.com.

[1]Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Medicina, Maringá, PR.
[2]Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Maringá, PR.
[3]Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia, Maringá, PR.
[4]Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Exatas e da Terra / Química.

Palavras-chave: Banco de Leite Humano; Imunoensaio multiplex; Liofilização.

RESUMO

O colostro humano é uma fonte de compostos bioativos essenciais à proteção e ao desenvolvimento neonatal, mas sua elevada perecibilidade limita o armazenamento prolongado e a disponibilidade pelos bancos de leite humano (BLH). Este estudo teve como objetivo avaliar o colostro humano liofilizado durante 90 dias de armazenamento a 25 °C sobre a estabilidade de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IFN-γ e TNF-α) quantificadas por imunoensaio multiplex e o perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa. Um *pool* de colostro de sete doadoras foi submetido à processamento de BLH incluindo pasteurização Holder seguida de liofilização, sendo acondicionado em embalagem metalizada sob vácuo. IL-4, IL-5, IL-12 e IFN-γ permaneceram estáveis durante todo o período, enquanto IL-6 e TNF-α apresentaram redução progressiva. O perfil de ácidos graxos também apresentou alterações relativas, com redução de poli-insaturados e aumento de saturados ao longo do armazenamento, possivelmente relacionada à maior suscetibilidade dos poli-insaturados à oxidação favorecida pela temperatura. Apesar dessas alterações, a manutenção da maioria dos componentes imunológicos e do perfil global de ácidos graxos evidencia a preservação da matriz bioativa. Os resultados demonstram o potencial da liofilização para ampliar a estabilidade e a disponibilidade do colostro nos BLH.

INTRODUÇÃO

O leite humano é reconhecido como padrão-ouro para a nutrição infantil. O colostro, produzido nos primeiros dias pós-parto, destaca-se pelo elevado teor de proteínas e

fatores imunológicos que favorecem o desenvolvimento e a proteção neonatal, além de incluir ácidos graxos essenciais importantes associados ao desenvolvimento e modulação das respostas inflamatórias e imunológicas. Entretanto, sua elevada perecibilidade limita o armazenamento e a distribuição pelos bancos de leite humano. Neste contexto, a liofilização emerge uma alternativa estratégica para obtenção de um produto estável, por remover água por sublimação em baixa temperatura e pressão, favorecendo a preservação de componentes nutricionais e bioativos (IENTZ *et al*., 2023; IENTZ *et al*., 2026). Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IFN-γ e TNF-α) e o perfil de ácidos graxos em colostro humano liofilizado durante 90 dias de armazenamento a 25 °C.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá (parecer nº 6.233.963/2025). Foram utilizadas amostras de colostro coletadas entre 1 e 6 dias pós-parto de sete doadoras cadastradas no Banco de Leite Humano de Maringá, incluindo amostras impróprias para consumo por lactentes devido à presença de sujidades, que foram reunidas em um *pool* de aproximadamente 1.700 mL. O *pool* foi submetido à pasteurização Holder (62,5 °C por 30 min), seguida de liofilização (-52 °C e 11,2 µHg) até atingir 4–5% de umidade, conforme Silva *et al.* (2026). O produto seco foi homogeneizado, acondicionado em embalagens metalizadas seladas a vácuo de acordo o delineamento experimental incluindo os dias (D)0, D15, D30, D45, D60, D75 e D90 sob armazenamento a 25 ºC. Para as análises, as amostras foram reconstituídas em água destilada na proporção correspondente à massa da matriz *in natura*. As citocinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, IFN-γ e TNF-α foram quantificadas em duplicata por imunoensaio multiplex (xMAP) no sistema MAGPIX®, utilizando o kit ProcartaPlex™ Th1/Th2 6-plex conforme instruções do fabricante, e os resultados foram expressos em pg/mL. Os lipídios foram extraídos e esterificados, e o perfil de ácidos graxos foi determinado em triplicata por cromatografia gasosa com detector de ionização por chama, conforme Ientz *et al*. (2026). Os resultados de citocinas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação das médias, e o perfil de ácidos graxos foi representado por mapa de calor gerado no RStudio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o período de estocagem exerceu influência distinta sobre a estabilidade das citocinas analisadas (Tabela 1). Verificou-se uma redução progressiva e significativa nos teores de IL-6 e TNF-α ao longo do armazenamento, o que pode indicar uma maior vulnerabilidade desses componentes à degradação térmica e oxidativa inerente ao processamento e à conservação prolongada (AZIZ et al., 2016). Por outro lado, as concentrações de IL-4, IL-5, IL-12 e IFN-γ permaneceram sem alterações estatisticamente relevantes entre o D0 e o D90,

sugerindo uma estabilidade satisfatória da matriz bioativa sob as condições de armazenamento avaliadas.

Tabela 1. Concentrações (pg/mL) das citocinas avaliadas durante o armazenamento a temperatura ambiente de colostro humano liofilizado.

Citocinas	D0	D15	D30	D45	D60	D75	D90
IL-4	7,669±1,119^{ab}	6,878±0,001^{ab}	6,472±0,575^{ab}	5,650±0,587^{b}	8,068±0,555^{ab}	7,676±0,001^{ab}	9,229±1,086^{a}
IL-5	4,382±2,090^{a}	5,860±0,001^{a}	2,904±0,001^{a}	3,674±1,089^{a}	6,348±0,690^{a}	2,904±0,001^{a}	2,904±0,001^{a}
IL-6	110,036±5,308^{a}	106,139±1,794^{a}	85,456±3,464^{b}	67,904±2,364^{c}	41,721±1,709^{d}	44,889±2,770^{d}	28,302±3,969^{e}
IL-12	3,630±0,323^{a}	4,088±0,326^{a}	3,858±0,001^{a}	3,630±0,323^{a}	3,860±0,648^{a}	4,319±0,001^{a}	4,319±0,001^{a}
IFN-γ	3,341±0,882^{a}	3,341±0,882^{a}	2,404±0,443^{a}	2,404±0,443^{a}	1,777±0,444^{a}	2,404±0,443^{a}	3,653±0,440^{a}
TNF-α	12,313±7,798^{a}	7,121±0,9577^{ab}	3,600±0,001^{c}	0,300±0,001^{d}	0,300±0,001^{d}	0,300±0,001^{d}	0,300±0,001^{d}

Resultados expressos como média ± desvio padrão de duplicata. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A composição de ácidos graxos também apresentou alterações ao longo do armazenamento (Figura 1), evidenciadas pelo mapa de calor, no qual as colunas representam os tempos de armazenamento e as linhas, os ácidos graxos identificados. De modo geral, observou-se aumento relativo dos ácidos graxos saturados concomitantemente à redução dos poli-insaturados, comportamento possivelmente associado à maior susceptibilidade dos ácidos graxos com maior número de ligações duplas à oxidação (SILVA *et al.*, 2026). Essas alterações no perfil lipídico, associadas à redução das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF-α, sugerem que o armazenamento prolongado pode modificar componentes relacionados à resposta inflamatória do colostro, embora a relação entre essas alterações deva ser interpretada com cautela, uma vez que não permite estabelecer uma associação causal direta entre o perfil de ácidos graxos e as concentrações de citocinas (TOGALSKA *et al.*, 2025).

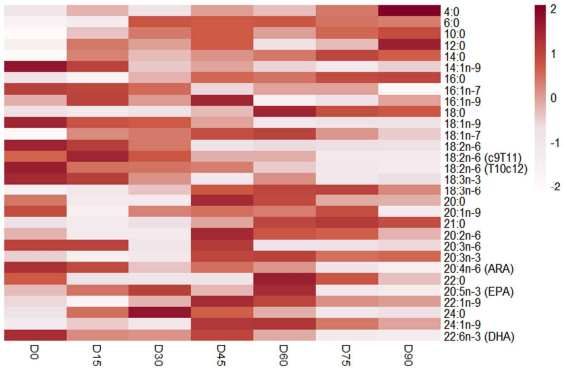


Figura 1. Mapa de calor da composição em ácidos graxos do colostro humano liofilizado armazenado a 25 °C por 90 dias.

CONCLUSÕES

A liofilização associada à embalagem metalizada sob vácuo mostrou potencial para preservar a matriz bioativa do colostro humano por 90 dias a 25 °C. Observaram-se alterações em citocinas específicas e no balanço entre ácidos graxos saturados e poli-insaturados, possivelmente ligadas à maior susceptibilidade à oxidação em temperatura ambiente, mas a manutenção da maior parte dos componentes imunológicos e do perfil lipídico indica estabilidade satisfatória da matriz. Esses achados reforçam a liofilização como alternativa promissora para os bancos de leite humano, sendo recomendável que estudos futuros avaliem marcadores de oxidação em períodos de armazenamento mais prolongados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro, ao Banco de Leite Humano do Hospital Universitário Regional de Maringá pela disponibilidade de amostras, ao grupo IMUNOGEM/UEM e APLE-A/UEM pela parceria e suporte à pesquisa.

REFERÊNCIAS

AZIZ, Najib et al. Stability of cytokines, chemokines and soluble activation markers in unprocessed blood stored under different conditions. **Cytokine**, v. 84, p. 17-24, 2016.

IENTZ, G. et al. Effects of pasteurization and freeze drying on proximal composition, fatty acids composition and lipid quality in colostrum human milk. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 12, p. 1887-1897, 2023.

IENTZ, G. A. S et al. Efeitos de tratamentos e condições de armazenamento na estabilidade de ácidos graxos e citocinas IL-5 e IL-6 em leite humano maduro ao

longo de 180 dias. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 12, n. 6, p. 1-21, 2026.

TOGALSKA, Magdalena et al. Acylcarnitine and free fatty acid profiles in primary biliary cholangitis: associations with fibrosis and inflammation. **Nutrients**, v. 17, n. 7, p. 1097, 2025.

SILVA, C. R. et al. Comparison of the stability of fatty acid composition in freeze-dried, pasteurized, and raw human milk during long-term storage. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 37, p. 1, 2026.