



## AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE LEITE HUMANO LIOFILIZADO ARMazenado POR 30 DIAS

*João Pedro Mayer Bergamine<sup>1</sup>, Patricia Daniele Silva dos Santos<sup>2</sup>, Amanda Cabriotti Assakawa<sup>5</sup>, Matheus Campos de Castro<sup>3</sup>, Oscar Oliveira Santos<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Farmácia, Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pesquisador do Grupo APLE-A. Bolsista PIBIC/CNPq-FA-UEM. ra119988@uem.br

<sup>2</sup>Doutora em Química, Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pesquisadora do Grupo APLE-A. Bolsista de Pós-Doutorado/CNPq-UEM. patriciadanieless@hotmail.com

<sup>3</sup>Pós-graduação em Química, Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pesquisador do Grupo APLE-A. Bolsista De doutorado Capes Uem. 1996mcastro@gmail.com

<sup>4</sup>Pós-graduanda em Ciência de Alimentos, Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. amandaassakawa@gmail.com

<sup>5</sup>Orientador, Doutor, Docente do Departamento de Química, Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pesquisador do Grupo APLE-A. oosjunior@uem.br

### RESUMO

O leite humano (LH) é um fluido fisiológico completo e de extrema importância para o desenvolvimento dos recém-nascidos (RN), visto que é considerado a melhor fonte de alimento e nutrição para eles. Além disso, o aleitamento materno exclusivo até certa idade promove diversos benefícios, diminuindo até o risco de morte por doenças infecciosas. Ainda nesse sentido, os bancos de leite humano (BLH) tornam-se uma opção estratégica e segura a favor do aleitamento bem como aplicação de tecnologias como a liofilização, utilizada como uma forma de preservação das características do leite humano. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a composição centesimal de leite humano liofilizado armazenado por 30 dias, a fim de avaliar as amostras de leite humano por meio dos resultados do experimento. Para isso, as amostras foram coletadas de lactantes no Banco de Leite Humano do Hospital Universitário de Maringá (Maringá, Paraná, Brasil), homogeneizados, armazenados e liofilizados. Em seguida, foi feito um estudo da composição centesimal das amostras em um período de 30 dias, avaliado nos dias 0, 15 e 30. Os resultados obtidos para as análises de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos mostraram que não houve diferença significativa entre os dias analisados, ou seja, o tempo de armazenamento não influenciou significativamente nas características centesimais do leite humano.

**PALAVRAS-CHAVE:** Composição química; Leite materno; Liofilização.

### 1 INTRODUÇÃO

O leite humano (LH) é um fluido fisiológico complexo, específico e universalmente reconhecido como a melhor fonte de alimento e nutrição para recém-nascidos (RN) pré-termos e termos (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2012). O LH consiste não apenas de nutrientes essenciais (vitaminas, minerais, proteínas), células, hormônios, fatores imunológicos e imunomoduladores (citocinas, imunoglobulinas, microRNAs), mas também de biomoléculas não nutritivas (glicoconjugados, oligossacarídeos), uma vasta gama de microrganismos (as bactérias, archaea, vírus, protozoários e fungos anaeróbios) conhecidos como a microbiota do LH, além de compostos antioxidantes. Desta forma, é considerado um sistema biológico dinâmico espécie-específico (AAKKO et al., 2017; ALVES, et al., 2023)

Os componentes do leite materno são adequados para o bebê tanto em sua composição nutricional quanto com relação aos fatores bioativos não nutritivos e apresentam efeitos favoráveis ao desenvolvimento do organismo infantil como um todo. Os neonatos apresentam o sistema imunológico imaturo e maior permeabilidade do sistema gastrointestinal, sobretudo nos primeiros seis meses de vida, por isso são mais vulneráveis às infecções. Sendo assim, dada à baixa competência imunológica, as qualidades do leite humano podem suprir diversas necessidades imunobiológicas do RN e os proteger contra infecções (CASTRO, et al., 2022).



Uma análise conjunta de estudos realizada em países de renda média-baixa mostrou que o aleitamento materno diminui substancialmente o risco de morte por doenças infecciosas nos dois primeiros anos de vida (WHO, 2000). Esta observação é decorrente da presença dos mecanismos de resposta imune na composição do leite materno que protegem o RN contra microrganismos patogênicos. (CASTRO, et al., 2021)

Por ser o alimento adequado para neonatos, deve-se priorizar sua exclusividade, principalmente em casos de prematuros de alto risco. Bebês pré-termos que necessitam de cuidados hospitalares devem receber leite materno. Apenas 27% das mães foram capazes de sustentar a lactação para atender às necessidades de seus bebês prematuros durante todo o tempo da hospitalização. Quando o leite da própria mãe é insuficiente ou indisponível, o LH doado de outra mãe e a fórmula pré-termo são fontes alternativas de alimentação enteral para prematuros, sendo o LH doado o indicado como a alternativa mais apropriada para promover a tolerância à alimentação. Com o intuito de atender especialmente esta demanda, os Bancos de Leite Humano (BLH) foram criados e aprimorados para que haja segurança biológica deste alimento àqueles que necessitam. (GARTNER, et al., 2005; CASTRO, et al., 2022)

Os BLH têm se mostrado como um dos mais importantes elementos estratégicos da política pública em favor do aleitamento materno e representam uma abordagem segura e eficaz para se obter, pasteurizar e distribuir leite humano. Outra abordagem de preservação para o leite humano é a liofilização. Com isso, o objetivo do presente estudo foi de avaliar a composição centesimal do leite humano de 15 em 15 dias por um período de 30 dias.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o processo número 2.797.476 da Universidade Estadual de Maringá. Amostras de leite humano maduro foram coletadas de 15 diferentes lactantes no Banco de Leite Humano do Hospital Universitário de Maringá (Maringá, Paraná, Brasil). Após a coleta, as amostras de HM foram homogeneizadas, formando um pool com volume final de 3L, armazenadas em recipientes de polietileno à temperatura de  $-36^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, em seguida a isso as amostras foram liofilizadas no liofilizador SLH-50 (Terroni, São Carlos, São Paulo, Brasil), e o processo foi realizado seguindo as recomendações do fabricante, sob vácuo de até  $50\ \mu\text{Hg}$ , a  $-55^{\circ}\text{C}$  de temperatura do condensador (condensador separado do secador câmara), e a uma temperatura da placa de aquecimento de  $22^{\circ}\text{C}$ , a um tempo máximo de 12h, definido com base em experimentos anteriores.

Após a liofilização, as amostras foram armazenadas em incubadora B.O.D a temperatura controlada de  $25^{\circ}\text{C}$  e analisadas de 15 em 15 dias. As análises de umidade (método 934.01), proteína total (método 990.03) e cinzas (método 942.05) foram realizadas de acordo com AOAC (2005) e carboidratos calculados por diferença. O conteúdo lipídico total foi realizado de acordo com FOLCH, et al., (1957). O valor energético das formulações foi expresso pela soma dos macronutrientes que a compõem, utilizando fatores de conversão de nutrientes potencialmente energéticos para o corpo humano, como lipídios, carboidratos e proteínas. Cada grama de carboidrato corresponde a  $4\ \text{Kcal g}^{-1}$  (ou  $17\ \text{kJ g}^{-1}$ ), proteína até  $4\ \text{Kcal g}^{-1}$  (ou  $17\ \text{kJ g}^{-1}$ ) e gordura até  $9\ \text{Kcal g}^{-1}$  (ou  $37\ \text{kJ g}^{-1}$ ).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A composição centesimal é essencial para o conhecimento do valor nutricional de um alimento, a análise centesimal nos fornece o valor do teor de umidade, lipídios totais, proteínas, cinzas e carboidratos totais. Esses dados, nos permite obter a riqueza do produto



e chegar - por meio de cálculos - ao valor energético dele, que é representado pelas quilocalorias (kcal). A tabela 1, mostra os resultados obtidos para a composição centesimal (g por 100g) e do valor energético (kcal por 100g de amostra) do LH liofilizado em três dias diferentes, no caso dia zero (D0), décimo quinto dia (D15) e trigésimo dia (D30), após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e longe de exposição solar.

**Tabela 1:** Composição centesimal e Kcal do leite humano liofilizado analisado de 15 em 15 dias por 30 dias

Amostra	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteína	Carboidrato	Kcal
0 Dias	8,09±0,18 <sup>a</sup>	1,55±0,21 <sup>a</sup>	25,17±8,73 <sup>a</sup>	8,26±0,12 <sup>a</sup>	56,92±2,57 <sup>a</sup>	487,29±12,29 <sup>a</sup>
15 Dias	7,54±0,35 <sup>a</sup>	1,79±0,30 <sup>a</sup>	23,59±4,65 <sup>a</sup>	9,71±1,27 <sup>a</sup>	57,35±2,89 <sup>a</sup>	480,62±15,78 <sup>a</sup>
30 Dias	8,00±0,51 <sup>a</sup>	2,44±0,62 <sup>a</sup>	25,62±2,91 <sup>a</sup>	8,15±1,08 <sup>a</sup>	54,99±2,12 <sup>a</sup>	483,14±14,29 <sup>a</sup>

Resultados expressos em média ± desvio padrão (DP) da triplicata. Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

Ao analisar a tabela, os resultados mostram que não houve diferença significativa para umidade, cinzas, lipídios, proteína e carboidratos entre os três dias em que essas análises foram feitas. De acordo com BALKE, et al (2014), o baixo teor de umidade presente em produtos em pó, dificulta o crescimento de microrganismos e torna o produto menos suscetível à deterioração por reações químicas além de outras vantagens. Ou seja, o teor de umidade está diretamente relacionado com a estabilidade de um alimento.

Conforme os resultados obtidos para umidade, percebe-se que a amostra D(0) foi aquela que apresentou maior teor de umidade, logo, é o que está mais propício a sofrer degradação. CASTRO, et al. (2023) relata 4,2% de umidade, valor que se aproxima da metade do obtido no procedimento, ou seja, a amostra utilizada neste trabalho é muito mais propícia a sofrer degradação.

Já em relação às cinzas, houve um aumento crescente no decorrer dos dias, evidenciando o aumento da quantidade de minerais presentes. A cinza pode ser definida como a quantidade de minerais presentes em um alimento, ou resíduo inorgânico da matéria uma vez que obtido após a matéria orgânica ser exposta a altas temperaturas e queimar.

A maior parte das calorias presentes no leite humano são os lipídios, maior fonte de energia para os neonatos. Para os valores de lipídios encontrados, não foram registradas diferenças significativas, sendo 25,17% (D0), 23,59% (D15) e 25,62% (D30), CASTRO, et al. (2023) obteve 18,33% de lipídios totais, número inferior a todos os dados adquiridos nos três dias.

Os resultados das análises de proteínas, essenciais para os processos vitais e desenvolvimento do organismo do recém-nascido, foram de 8,26% (D0), 9,71% (D15) e 8,15% (D30), houve uma redução, porém, estatisticamente, não houve diferença.

Já os carboidratos também fornecem energia ao organismo e teve seus resultados com maior variação em todos os dias, no (D0) 56,92±2,57, no (D15) 57,35±2,89 e no (D30) 54,99±2,12, sendo todos valores próximos de 55,090±1,10 que são registrados por CASTRO, et al. (2023). O valor energético encontrado como valor máximo foi 487,29±12,29 pertencente ao D0, porém, seu valor não está tão distante de 480,62±15,78 (D15) e 483,14±14,29 (D30).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos nas análises durante o período em questão, mostraram, no geral, que não houve diferença significativa entre as amostras analisadas no dia 0, 15 e 30. Ou



seja, houve pouca variação entre as concentrações de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos.

Fato esse que pode ser decorrente do correto armazenamento e também ao processo de liofilização no qual o leite materno foi submetido, que junto de outros fatores pode ter contribuído para que houvesse maior estabilidade nas amostras, evitando reações químicas indesejadas e mantendo sua composição nutricional. Além disso, os resultados confirmaram características específicas do leite maduro, com altos teores de carboidratos e lipídios e menor concentração de proteínas, característico do colostro.

## REFERÊNCIAS

AAKKO, J. et al. Human milk oligosaccharide categories define the microbiota composition in human colostrum. **Beneficial microbes**, v. 8, n. 4, p. 563-567, 2017.

ALVES, Eloize Silva et al. Freeze-dried human milk microcapsules using gum arabic and maltodextrin: An approach to improving solubility. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 238, p. 124100, 2023.

American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**, v. 129, n. 3, p. e827-e841, 2012.

Aoac - Associação de químicos analíticos oficiais, Métodos oficiais de análise da Associação de químicos analíticos oficiais. 18ª ed. (Aoac, Gaithersburg, 2005). [https://www.researchgate.net/publication/292783651\\_AOAC\\_2005](https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005). Acesso em 29 de julho de 2023.

BALKE, M. et al. Avaliação do Processo de Obtenção de leite em pó pelo processo de secagem em spray dryer. In: **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ)**. 201

CASTRO, Matheus Campos et al. Estudo da influência do estágio de lactação na concentração dos principais ácidos graxos de lactante com bebê nascido a termo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e308101422174-e308101422174, 2021.

CASTRO, Matheus Campos et al. Prebiotic ice cream containing human milk discarded by human milk banks: an approach of its technological properties and composition. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 16, n. 5, p. 3630-3639, 2022.

DE ALMEIDA, Chrislayne Cristhynne Ferreira; LISBOA, Lídia. A importância do leite materno para o desenvolvimento dos recém-nascidos The importance of breast milk for the development of newborn.

FOLCH, Jordi et al. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

GARTNER, Lawrence M. et al. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**, v. 115, n. 2, p. 496-506, 2005.