



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

*Escola de Nutrição – ENUT*

*Colegiado de Nutrição*



THAÍS SILVA FALCO

# **EFEITO DA INCIDÊNCIA DE LUZ DURANTE O PROCESSAMENTO DO LEITE HUMANO SOBRE A ESTABILIDADE DE ÁCIDOS GRAXOS**

Ouro Preto

2021

THAÍS SILVA FALCO

# **EFEITO DA INCIDÊNCIA DE LUZ DURANTE O PROCESSAMENTO DO LEITE HUMANO SOBRE A ESTABILIDADE DE ÁCIDOS GRAXOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Colegiado do Curso de  
Nutrição, da Escola de Nutrição da  
Universidade Federal de Ouro Preto,  
como requisito parcial para obtenção  
do grau de Nutricionista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Camila Carvalho  
Menezes - Departamento de Alimentos  
Coorientadora: Jaísa Oliveira Chaves

Ouro Preto

2021



**Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:**

**“Efeito da incidência de luz durante o processamento do leite humano sobre a estabilidade de ácidos graxos”.**

Aos três dias do mês de maio de 2021, remotamente (on-line) pelo aplicativo Google Meet no link: [meet.google.com/chs-seclh-eac](https://meet.google.com/chs-seclh-eac), reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da estudante **Thaís Silva Falco** orientada pela Prof. **Camila Carvalho Menezes Salierno** e coorientada pela doutoranda **Jaisa Oliveira Chaves**. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pela estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por **APROVAR** a estudante.

Membros da Banca Examinadora:

**Prof. Camila Carvalho Menezes Salierno**  
Presidente (DEALI/ENUT/UFOP)

**Prof. Kelly Moreira Bezerra Gandra**  
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)

**Nutricionista Paola Machado Parreira**  
Examinadora (PPGSN/ENUT/UFOP)

## AGRADECIMENTOS

É impossível não ser clichê em um momento que meu coração transborda gratidão. Com certeza finalizar mais essa etapa é o início de um grande sonho. Agradeço a todos que, de alguma forma, me incentivaram a concluir essa importante etapa da minha graduação.

De forma especial agradeço,

À Deus, que me fez corajosa para aguentar ficar 321 km longe da minha família, mas para minha sorte colocou pessoas maravilhosas no meu convívio durante esses anos vivendo em Ouro Preto.

Aos meus pais, Osvander e Maria Auxiliadora, por terem feito dos meus sonhos, seus sonhos também. Pai e mãe, dedico esse trabalho a vocês! Hoje vemos que todas as despedidas, com lágrimas nos olhos valeram a pena, afinal nós conseguimos concluir essa etapa e me sinto orgulhosa por isso.

A Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, que foi praticamente minha segunda casa e me presenteou com conhecimentos que levarei para minha vida.

Aos professores e técnicos da Escola de Nutrição, agradeço pela imensa oportunidade de aprender com cada um de vocês de forma teórica, técnica ou prática.

A minha co-orientadora Jaísa, agradeço pela paciência desde a época de iniciação científica e também por toda contribuição sugerida para esse trabalho.

A minha orientadora de iniciação científica, projeto de extensão e, por fim, trabalho de conclusão de curso, professora Camila. Obrigado por todo conhecimento e oportunidades que você me proporcionou. Ensinações esses que levarei para minha vida. Saiba que você tem minha profunda admiração e carinho! Obrigada pelas inúmeras correções desse TCC e pelas palavras de incentivo e carinho ao longo desses anos de convivência!

Ao Banco de Leite Humano da Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto, em especial as doadoras, agradeço enormemente pela doação do objeto de estudo desse trabalho e pela grande contribuição à ciência.

E, por fim, agradeço a cada um que constituiu a banca examinadora, por contribuírem para um fechamento de um ciclo tão importante para mim!

## EPÍGRAFE

"O desejo profundo da humanidade pelo conhecimento é justificativa suficiente para nossa busca contínua"

Stephen Hawking

### Lista de abreviaturas

ABTS	2,2'-azino-bis3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AG	Ácido graxo
ANOVA	Análise de variância
BLH	Banco de leite humano
CG	Cromatografia gasosa
C 8:0	Ácido caprílico
C 10:0	Ácido cáprico
C 12:0	Ácido láurico
C 14:0	Ácido mirístico
C 15:0	Ácido pentadecílico
C 16:0	Ácido palmítico
C 16:1	Ácido palmitoleico
C 18:0	Ácido esteárico
C 18.1 $\omega$ 9	Ácido oleico
C 18:2 $\omega$ 6	Ácido linoleico
C 18:3 $\omega$ 3	Ácido linolênico
DIC	Detector de ionização de chama
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
LCPUFA	Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa
LH	Leite humano
MUFA	Ácido graxo monoinsaturado
PET	Polietileno tereftalato
PVC	Polímero de adição policloreto de vinila
PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
RN	Recém-nascido
SFA	Ácido Graxo saturado
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titânio
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>
UTIN	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>8</b>
<b>1. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>9</b>
1.1. LEITE HUMANO	9
1.2. FRAÇÃO LIPÍDICA DO LEITE HUMANO	10
1.3. OXIDAÇÃO LIPÍDICA	12
1.4. EMBALAGENS	14
1.5. BANCOS DE LEITE HUMANO	15
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>21</b>
<b>RESUMO</b>	<b>22</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>23</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>24</b>
<b>2. METODOLOGIA</b>	<b>25</b>
2.1. COLETA DE LEITE HUMANO PELAS DOADORAS	25
2.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	25
2.3. DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS	26
2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>28</b>
<b>4. CONCLUSÃO</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>34</b>
<b>APÊNDICE A</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS A</b>	<b>40</b>

# **CAPÍTULO 1**

## ***Referencial teórico***

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1. LEITE HUMANO

O leite humano (LH) é o alimento mais importante e necessário para o recém-nascido (RN), oferecendo inúmeras vantagens fisiológicas, por meio de quantidades adequadas de nutrientes, além de fatores imunogênicos, representando, portanto, a primeira imunização passiva da criança, como também, benefícios psicológicos e afetivos, onde se destaca o ato de amamentar, representado por um momento de entrega entre mãe e filho (LUNA; OLIVEIRA; SILVA, 2014). Tais características, o diferencia do leite de vaca e de fórmulas infantis comerciais (BRASIL, 2010).

A composição do LH modifica-se progressivamente ao longo da lactação, o que o classifica em três fases. Cada uma delas apresenta características distintas (BALLARD; MORROW, 2013), sendo: o colostro com duração de 3 a 7 dias pós-parto, o leite de transição que é produzido por volta do 5º ao 15º dia, seguido do leite maduro (ACCIOLY; SAUNDERS; LACERDA, 2009). O colostro é viscoso, de coloração amarela, com concentração elevada de alguns componentes como oligossacarídeos, proteínas, minerais, vitaminas lipossolúveis, particularmente, A e E, fatores imunológicos (CALIL; FALCÃO, 2003; NASCIMENTO; ISSLER, 2003) e teor reduzido de carboidratos e gorduras (1,8 a 2,9 g/dL), em comparação aos leites de transição (2,9 a 3,6 g/dL) e maduro (3 a 4 g/dL) (EUCLYDES, 2014; RIORDAN, 2009; CALIL; FALCÃO, 2003). Após o quinto dia, o LH sofre uma modificação gradual em sua composição, caracterizada pelo aumento da produção e da concentração de lipídios. Nesse período, o LH é denominado leite de transição e ainda contém características semelhantes ao colostro. Essas modificações ocorrem para possibilitar a produção do leite maduro, o último estágio de lactação (BZIKOWSKA *et al.*, 2018; EUCLYDES, 2014; BALLARD; MORROW, 2013). O leite maduro é produzido cerca de quinze dias após o parto e é caracterizado por uma menor concentração de proteínas quando comparado ao colostro. Em contrapartida, a lactose tem sua concentração aumentada, estima-se que seja em 70 - 74g/L de LH. Os lipídios também estão presentes em maiores

concentrações e são responsáveis por grande parte do valor calórico (EUCLYDES, 2014).

## 1.2. FRAÇÃO LIPÍDICA DO LEITE HUMANO

Estudos sobre a composição do LH têm crescido nos últimos anos, sobretudo com relação à fração lipídica. Esta corresponde a componentes abundantes do leite, além de se apresentarem como importante fonte energética para crianças amamentadas exclusivamente por LH, contribuindo para o crescimento e desenvolvimento saudável dos RNs (SAPHIER *et al.*, 2013; NISHIMURA *et al.*, 2013; BRENNAN *et al.*, 2007; INNIS, 2007). Nessas circunstâncias, tem se destacado a importância da realização de estudos para avaliar a composição lipídica do LH e os fatores associados, uma vez que os ácidos graxos (AG) presentes são de grande importância devido às peculiaridades dos efeitos destes sobre a saúde materno-infantil (TORO-RAMOS *et al.*, 2013).

Dentre os macronutrientes do leite, a gordura mostra a concentração mais variável. Por exemplo, GROTE *et al.* (2016) encontrou em amostras de leite maduro um coeficiente de variação de 37,3% para a gordura do leite, mas apenas de 14,4% para a lactose e 12,9% para a proteína. O conteúdo de gordura do leite tende a aumentar com a duração da amamentação e varia ao longo do dia (KOLETZKO *et al.*, 2011). A concentração de gordura do leite aumenta com o aumento do intervalo de tempo até a extração do leite anterior da mesma mama, e aumenta com a deposição de gordura materna na gravidez indicada pelo ganho de peso gestacional (KOLETZKO, 2016).

A composição de AGs do LH é variável, e fatores intrínsecos e extrínsecos a nutriz contribuem para a modulação destes. Estima-se que possua mais de 200 AGs, no entanto, muitos são encontrados em pequenas concentrações (ANDREAS; KAMPMANN; LE-DOARE, 2015). São classificados pelo número de carbono em sua estrutura, sendo: AG de cadeia curta (<6 átomos de carbonos), AG de cadeia média (6 a 12 átomos de carbonos), AG de cadeia longa (>12 átomos de carbono) ou AG de cadeia muito longa (>22 átomos de carbono) (BLOCK; BARRERA, 2013). Os AGs presentes no LH podem ser divididos pela presença de ligações duplas (insaturações) em

monoinsaturados (MUFA) (45-50%) e os poli-insaturados (PUFA) (15%), ou pela ausência de duplas ligações, os saturados (SFA), que representam 35-40% (GROTE *et al.*, 2016).

O MUFA mais encontrado no LH por alguns pesquisadores é o ácido oleico (C 18:1) e, além de ser importante fonte energética, também compõe membranas celulares (FREITAS *et al.*, 2019; JENSEN, 1999; GIOVANNINI, AGOSTINI; SALARI, 1991).

Os PUFAs, como os ácidos linoléico (C 18: 2n-6) e  $\alpha$ -linolênico (C 18: 3n-3) são precursores de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (LCPUFA) da família ômega-6 e da família ômega-3. Esses LCPUFAs têm sido relacionados ao aumento do quociente de inteligência, bem como o desenvolvimento do sistema visual, nervoso e cognitivo das crianças (VICTORA *et al.*, 2016; KOLETZKO, 2016; BALLARD; MORROW, 2013; IRANPOUR *et al.*, 2013). Apresentam efeitos supressores, como inibição da proliferação de linfócitos, produção de anticorpos e citocinas, expressão de moléculas de adesão e ativação das células *Natural Killers* (PERINI *et al.*, 2010).

Os SFA são compostos importantes na composição do LH, pois além de fonte energética, são substratos para a síntese de compostos intermediários (MENESES; TORRES; TRUGO, 2008). A produção desses AGs no LH é influenciada, por exemplo, pela alimentação materna, sendo que dietas compostas por baixos percentuais de lipídeos e alto percentual de carboidratos intensificam a produção destes (SILBERSTEIN *et al.*, 2013). O ácido palmítico (C 16:0), um exemplo de SFA presente no LH, apresenta posição de esterificação que favorece sua absorção e evita a formação de sabões insolúveis e a consequente perda fecal de cálcio e magnésio (EUCLYDES, 2014). Por outro lado, o ácido esteárico (C 18:0) é encontrado em menor concentração, sendo que, nos tecidos humanos, é rapidamente convertido em ácido oleico (C 18:1) (COSTA; SABARENSE, 2010).

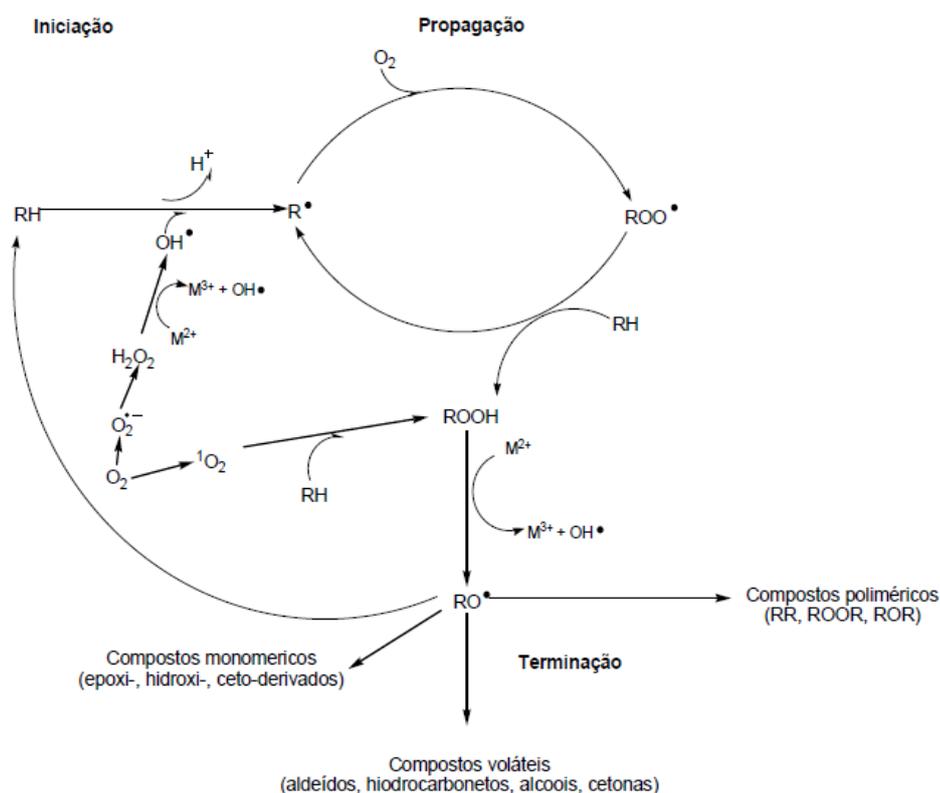
### 1.3. OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica compreende uma sequência complexa de alterações químicas e bioquímicas provenientes da relação entre lipídeos e oxigênio, podendo ocorrer por meio de três mecanismos: auto-oxidação não-enzimática mediada por radicais livres, foto-oxidação não-enzimática e não-radicalar e oxidação enzimática (RATNAM *et al.*, 2006). Além de ser uma das mais importantes causas da perda de qualidade dos alimentos, devido à formação de sabores e odores indesejáveis, esta pode também estar relacionada à formação de substâncias potencialmente tóxicas (FRANKEL, 2005; SKIBSTED, 2000).

A auto-oxidação de lipídios insaturados é auto-catalítica, ou seja, a velocidade da reação aumenta devido à formação de compostos que catalisam a própria reação. Requer a presença de oxigênio, envolve a formação de radicais livres e forma, como produtos primários, os hidroperóxidos a partir dos quais são formados os produtos secundários (álcoois, cetonas e aldeídos) e os terciários (álcoois derivados de aldeídos). O processo é indesejável, tanto do ponto de vista sensorial quanto de segurança ao consumo, uma vez que há formação de produtos oxidados com possibilidade de efeitos tóxicos, além de ocorrer degradação de vitaminas lipossolúveis e caroteno (ARAÚJO, 2008; WONG, 1995; FENNEMA, 1993).

O mecanismo da oxidação lipídica está ilustrado pela figura 1. A iniciação irá ocorrer na presença de luz e calor, além disso, irá retirar o hidrogênio da molécula de AG e formar os radicais livres. Na fase seguinte, propagação, os radicais livres formados na etapa anterior reagem com o oxigênio, originando novos radicais, peróxidos e hidroperóxidos e, assim, promovem a continuação da reação. E na fase final, denominada término, irá ocorrer a combinação de dois radicais livres dando origem a produtos estáveis (ARAÚJO, 2008).

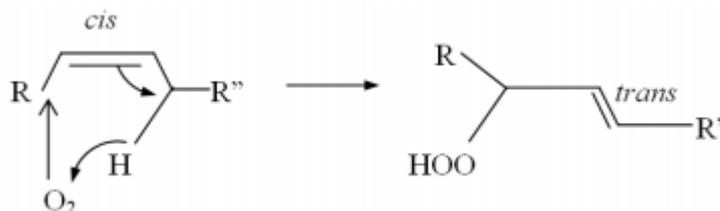
**Figura 1.** Oxidação lipídica e seus mecanismos.



Fonte: Adaptado por Sancho (2010).

A luz (fontes diretas e difusas) é capaz de iniciar reações químicas e bioquímicas na presença de oxigênio e, conseqüentemente, provoca a oxidação de lipídeos e outros compostos. Pigmentos e vitaminas são fotossensores, compostos que catalisam reações de formação de radicais livres quando expostos à luz e desempenham papel importante na degradação lipídica (PISCOPO; POIANA, 2012). No mecanismo de foto-oxidação, o oxigênio molecular ou triplete ( $^3O_2$ ) é convertido a oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), mais comumente formado por fotossensibilização (Figura 2) na presença de fotossensibilizadores (clorofila, riboflavina e mioglobina) que irão absorver a energia da luz e, ao retornar ao seu estado fundamental, emitem luz ou calor que poderá ser absorvido pelo oxigênio molecular convertendo-o para o estado excitado, o qual é mais eletrofílico e reage diretamente com as ligações duplas dos AGs insaturados produzindo hidroperóxidos em uma maior velocidade (KIM; MIN, 2008).

**Figura 2:** Mecanismo da oxidação fotossensibilizada.



Fonte: Borgo; Araújo (2005); Wong (1995); Fennema (1993).

#### 1.4. EMBALAGENS

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada nº 171, de 4 de setembro de 2006 (BRASIL, 2006), a embalagem para acondicionamento do LH extraído deve ser de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL. Também deve apresentar fácil limpeza e desinfecção, vedamento perfeito e ser constituída de material inerte e inócuo ao leite em temperaturas na faixa de -25 °C a 128 °C, não permitindo trocas indesejáveis com o produto acondicionado e mantendo seu valor biológico (BRASIL, 2006). As embalagens e os materiais que entram em contato com o LH extraído precisam ser resistentes aos processos de pasteurização já que deverão ser pasteurizados por métodos apropriados, descritos no manual “Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos” (BRASIL, 2008).

As embalagens podem proporcionar proteção tanto à luz, quanto ao oxigênio (VASSILA *et al.*, 2002; SKIBSTED, 2000; SCHRÖDER *et al.*, 1985). Para que haja a proteção dos compostos orgânicos do leite contra a luz, o mesmo deve ser armazenado sob condições que impeçam sua exposição aos feixes luminosos durante o transporte, armazenamento, processamento térmico, entre outros fatores que influenciam a qualidade nutricional do LH doado (CHANG; CHEN; LIN, 2012; LAWRENCE, 1999; HAMOSH *et al.*, 1996). O vidro transparente oferece total barreira à luz na faixa do comprimento de onda dos raios ultravioleta até 320 nm. A partir desse comprimento de onda, o vidro transparente apresenta alto percentual de transmissão de luz. Para a obtenção de melhores propriedades de barreira das embalagens de vidro à

radiação acima de 320 nm são, portanto, adicionados compostos químicos durante sua produção para conferir diferentes colorações (ALVES; PEREIRA, 2003). O vidro cor âmbar é obtido pela adição combinada de ferro e enxofre em fornos com atmosferas redutoras. A cor âmbar absorve a radiação em comprimentos de onda menores de 450 nm, oferecendo ótima proteção à luz (JAIME; BOCOLI, FARIA, 2018). Além da cor das embalagens, uma boa barreira à luz pode ser obtida quando utilizadas estruturas flexíveis, como filmes metálicos, limitando a transmissão da luz sob o produto (MORTENSEN *et al.*, 2004). Portanto, recomenda-se a proteção do leite estocado, adotando medidas preventivas, como a simples cobertura dos frascos com papel alumínio para impedir exposição à luminosidade que gera compostos indesejáveis (ROMEU-NADAL *et al.*, 2007; FELLOWS, 2006; SIEBER *et al.*, 1996).

#### 1.5. BANCOS DE LEITE HUMANO

A Portaria n. 322, de 26 de maio de 1988, do Ministério de Estado da Saúde, define Banco de Leite Humano (BLH) como "centro especializado obrigatoriamente vinculado a um hospital materno e/ou infantil, responsável pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e execução das atividades de coleta, processamento e controle de qualidade de colostro, leite de transição e LH maduro para posterior distribuição, sob prescrição do médico ou de nutricionista". Entre outras atribuições, de acordo com esse documento, o BLH é responsável pela qualidade do leite que será fornecido aos lactentes (BRASIL, 2008).

As atividades de um BLH iniciam-se com a coleta do LH, com a ajuda de profissionais capacitados. Após essa primeira fase, o leite cru é acondicionado em recipientes de vidro com tampa de plástico e guardado no refrigerador. No caso de serem transportados, esse processo é realizado em caixas isotérmicas, revestidas de polímero de adição policloreto de vinila (PVC), preferentemente, resfriados com gelo reciclável em quantidade proporcional ao número de frascos de leite. O LH é, então, selecionado de acordo com as condições de conservação em que se encontra no momento da recepção e classificado antes de sua estocagem. Ele passa pelo processo de

pasteurização em banho-maria, em temperatura de 62,5 °C por 30 minutos. Logo há um resfriamento dos frascos com a imersão em banho de gelo até atingir temperatura inferior a 5 °C. Assim, o produto está pronto para ser congelado e estocado em freezer, com validade de 6 meses, sob rigoroso controle de temperatura, que não deve ultrapassar -3 °C. Esse leite está apto para ser distribuído e administrado, segundo prescrição médica ou de nutricionista, a bebês prematuros ou RN de baixo peso com problema de sucção, RN infectados, especialmente com enteroinfecções (gastroenterites ou desidratações), portadores de deficiências imunológicas, portadores de diarreia protraída ou persistente (entre duas e quatro semanas), portadores de alergia a proteínas heterólogas e casos excepcionais, a critério médico (BRASIL, 2008).

## REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; LACERDA, E. M. A. **Nutrição em Obstetrícia e Pediatria**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica: Guanabara Koogan, 2009.
- ALVES, R. M. V.; PEREIRA, B. C. **Importância da barreira à luz para produtos de laticínios**. ITAL: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2003.
- ANDREAS, N. J.; KAMPMANN, B.; LE-DOARE, K. M. Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. **Early Human Development**, v. 91, n. 11, p. 629- 635, 2015.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008.
- BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatric Clinics of North America**, v. 60, n. 1, p. 49-74, 2013.
- BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. **Temas Selectos en Aceites y Grasas** v. 2. São Paulo: Editora Blusher, 2013.
- BORGO, L. A.; ARAÚJO, W. M. C. Mecanismos dos processos de oxidação lipídica. **Higiene Alimentar**, v. 19, n.130, p. 51-58, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite Humano. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 5 ser. 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Guia alimentar para crianças menores de 2 anos. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, DF, Brasil: Ministério da Saúde, 2 ed., 2010.
- BRENNA, J. T. *et al.* Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human milk breast milk world wide. **The american Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 6, p. 1457–1464, 2007.
- BZIKOWSKA, A. *et al.* Correlation between human milk composition and maternal nutritional status. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny**, v. 69, n. 4, p. 363-367, 2018.
- CALIL, V. M. L. T.; FALCÃO, M. C. Composição do leite humano: o alimento ideal. **Revista de Medicina**, v. 82, n. 1-4, p. 1-10, 2003.

CHANG, Y.; CHEN, C.; LIN, M. The macronutrients in human milk change after storage in various containers. **Pediatrics & Neonatology**, v. 53, n. 3, p. 205-209, 2012.

COSTA, A. G. V.; SABARENSE, C. M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 445-457, 2010.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação saudável**. Viçosa: Editora UFV, 2014.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993.

FELLOWS, P. L. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. Tradução Florencia Cladera Oliveira. 2. ed. Porto Alegre. Artmed, 2006.

FRANKEL, E. N. **Lipid oxidation**. 2nd ed. Bridgewater: Barnes, P.J. & Associates The Oily Press. 2005. 488p.

FREITAS, R. F. *et al.* Composição em ácidos graxos do leite maduro de nutrízes. **Revista Brasileira Saúde Materno-Infantil**, v. 19, n. 4, p. 827-836, 2019.

GIOVANNINI, M.; AGOSTONI, C.; SALARI, P. C. The role of lipids in nutrition during the first months of life. **Journal of International Medical Research**, v. 19, n. 5, p. 351-362, 1991.

GROTE, V. *et al.* **Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life**. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n. 1, p. 250-256, 2016.

HAMOSH, M. *et al.* Breastfeeding and the Working Mother: Effect of Time and Temperature of Short-term Storage on Proteolysis, Lipolysis, and Bacterial Growth in Milk. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**, v. 97, n. 4, p. 492-498, 1996.

INNIS, S. M. Human milk: maternal dietary lipids and infant development. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 3, p. 397-404, 2007.

IRANPOUR, R. E. *et al.* Comparison of long chain polyunsaturated fatty acid content in human milk in preterm and term deliveries and its correlation with mothers' diet. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 18, n.1, p. 1-5, 2013.

JAIME, S. B. M.; BOCOLI P. F. J.; FARIA T. B. Barreira à luz de embalagens de vidro. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.2, p. 1-5, 2018.

JENSEN, R. G. Lipids in human milk. **Lipids**, v. 34, n.12, p.1243–1271, 1999.

KIM, H. J.; MIN, D. B. Chemistry of lipid oxidation. **Food Lipids**, v. 3, n. 1, p. 299-320, 2008.

KOLETZKO, B. Human Milk Lipids. **Annals Nutrition Metabolim**, v. 69, n. 2, p. 28-40, 2016.

KOLETZKO, B. *et al.* Physiological aspects of human milk lipids and implications for infant feeding: a workshop report. **Acta Paediatrica**, v. 100, n. 11, p. 1405-1415, 2011.

LAWRENCE, R. A. Storage of human milk and the influence of procedures on immunological components of human milk. **Acta Paediatrica**, v. 88, n. 1, p.14-18, 1999.

LUNA, F. D. T.; OLIVEIRA, J. D. L.; SILVA, L. R. M. Banco de leite humano e estratégia saúde da família: parceria em favor da vida. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 33, p. 358-364, 2014.

MENESES, F.; TORRES, A. G.; TRUGO, N. M. F. Essential and longchain polyunsaturated fatty acid status and fatty acid composition of breast milk of lactating adolescents. **The British Journal of Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 1029-1037, 2008.

MORTENSEN, G. *et al.* Light – induced changes in packaged cheeses - a review. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 2, p. 85-102, 2004.

NASCIMENTO M. B. R.; ISSLER H. Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.58, n.1, p.49-60, 2003.

NISHIMURA, R. Y. *et al.* Breast milk fatty acid composition of women living far from the coastal area in Brazil. **Jornal de Pediatria**, v. 89, n. 3, p. 263-268, 2013.

PERINI J. A. D. L. *et al.* Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010.

PISCOPO, A.; POIANA, M. Packaging and Storage of Olive Oil. In: **Reference Module in Food Science**. 1. ed. IntechOpen, 2012. 386 p.

RATNAM, D. V. *et al.* Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 3, p. 189-207, 2006.

RIORDAN, J.; WAMBACH, K. **Breastfeeding and human lactation**. 4. ed. Kansas: Jones & Bartlett Learning, 2009, 912 p.

ROMEU-NADAL, M. *et al.* Effect of pasteurisation on ascorbic acid, dehydroascorbic acid, tocopherols and fatty acids in pooled mature human milk. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, 434-438, 2007.

SANCHO, R. A. S. (2010). Efeito da adição de coentro e urucum na composição de ácidos graxos em filé de pescada branca (*Cynoscion spp.*). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Ciência de Alimentos. Campinas-SP, 90p.

SAPHIER, O. *et al.* Fatty Acid Composition of Breast milk of Israeli Mothers. **Indian Pediatrics**, v. 50, n. 11, p. 1044-1047, 2013.

SCHRÖDER, M. J. A. *et al.* Flavour and vitamin stability in pasteurized milk in polyethylene-coated cartons and in polyethylene bottles. **International Journal of Dairy Technology**, v. 38, n. 2, p. 48-52, 1985.

SIEBER, R. *et al.* Effect of microwave heating on vitamins A, E, B1, B2 and B6 in milk. **Journal of Dairy Research**, v. 63, n. 1, p.169-172, 1996.

SILBERSTEIN, T. *et al.* Saturated fatty acid composition of human milk in Israel: a comparison between Jewish and Bedouin women. **Israel Medical Association Journal**, v. 15, n. 4, p. 156-159, 2013.

SKIBSTED, L. H. Light-induced changes in dairy products – Packaging of milk products. **Bulletin of the International Dairy Federation**, v. 36, n. 346, p. 4-9, 2000.

TORO-RAMOS, T. *et al.* Preterm infant language development: a role for breastmilk fatty acids. **Journal of Human Growth and Development**, v. 23, n. 3, p. 1-6, 2013.

VASSILA, E. *et al.* Chemical and microbiological changes in fluid milk as affected by packaging conditions. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 9, p. 715-722, 2002.

VICTORA, C. G. *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. **The Lancet**, v. 387, n.1, p. 475-490, 2016.

WONG, D. W. S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría.** Zaragoza: Acribia, 1995.

## **CAPÍTULO 2**

### ***Artigo científico***

# **EFEITO DA INCIDÊNCIA DE LUZ DURANTE O PROCESSAMENTO DO LEITE HUMANO SOBRE A ESTABILIDADE DE ÁCIDOS GRAXOS**

## RESUMO

Os Bancos de Leite Humano (BLH) possibilitam aos recém-nascidos que suas mães não podem amamentar, principalmente àqueles em condições de saúde mais vulneráveis, receberem leite humano (LH) de forma segura, pois é evidente que sua composição é ideal para atender as necessidades específicas desses bebês. No entanto, durante o seu processamento podem ocorrer interferências negativas com perdas de alguns nutrientes, dentre eles, os lipídeos, pois se sabe que a incidência da luz devido à utilização de frasco transparente para o envase do leite, entre outros fatores, pode induzir reações de oxidação que irão comprometer sua qualidade. Por isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da incidência de luz sobre o perfil lipídico do LH pasteurizado. O estudo experimental contou com a participação das doadoras do BLH, que coletaram 20 mL de LH em cada um dos três tipos de frascos avaliados (transparente, âmbar e transparente recoberto com papel alumínio). Foi feito o *pool* dos leites do mesmo tipo de frasco que, em seguida, foram congelados a -18 °C por 4 dias. Após esse período, os leites foram pasteurizados seguindo os procedimentos preconizados no Brasil. A extração dos lipídeos foi realizada pelo método butirométrico de Gerber e a esterificação utilizando trifluoreto de boro, e então foram identificadas e determinadas as porcentagens de onze ácidos graxos (AG) (caprílico, cáprico, láurico, mirístico, pentadecanóico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico) por cromatografia gasosa. Foi observado que a presença de luz não interferiu significativamente na estabilidade dos AGs avaliados, exceto o AG palmitoleico (C 16:1). Acredita-se que tal resultado se deve ao curto período de exposição à luz do LH durante as etapas de degelo e pasteurização.

**Palavras-chave:** leite humano; ácidos graxos; banco de leite humano, oxidação lipídica.

## ABSTRACT

The Human Milk Banks (HMB) enable newborns that their mothers cannot breastfeed, especially in those in the most vulnerable health conditions, to receive human milk (LH) safely, as it is evident that its composition is ideal to meet as babies basic needs. However, during its processing, negative interference may occur with losses of some nutrients, including lipids, as it is known that the incidence of light due to the use of a transparent bottle for the filling of milk, among other factors, can induce reactions of oxidation that compromise its quality. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of the incidence of light on the lipid profile of pasteurized LH. The experimental study was attended by donors from the HMB, who collected 20 mL of LH in each of the three types of bottles emitted (amber, transparent and covered with aluminum foil). The milk from the same type of bottle was pooled and then frozen at -18 °C for 4 days. After this period, the milks were pasteurized following the procedures recommended in Brazil. The extraction of lipids was carried out by the Gerber butyrometric method and esterification using boron trifluoride, and then they were identified and determined as percentages of fatty acids (AG) (caprylic, capric, lauric, myristic, pentadecanoic, palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic and linolenic) by gas chromatography. It was observed that the presence of light did not interfere with the stability of the fatty acids found, except for palmitoleic AG (C 16:1). It is believed that this result is due to the short period of exposure to LH light during the thawing and pasteurization stages.

**Keywords:** human milk; fatty acids; human milk bank, lipid oxidation.

## 1. INTRODUÇÃO

O LH contém 3 a 5% de lipídeos, sendo compostos por 98% de triacilgliceróis, 1% fosfolipídios e 0,5% de esteróis (KOLETZKO, 2016; JENSEN, 1999). Esse macronutriente atua como isolante térmico e elétrico, protege os órgãos vitais, além de serem precursores de hormônios e mediadores bioquímicos responsáveis pelas funções essenciais no organismo (EUCLYDES, 2014).

Em alguns casos em que não é possível oferecer o LH aos lactentes, a opção mais adequada é o uso do LH doado procedente dos BLH (WHO, 2020; BRASIL, 2015). O LH doado proveniente dos BLH deve passar por processamento térmico que assegure sua qualidade, para que não represente risco à saúde dos RNs. Após a seleção e classificação do leite, é realizada a pasteurização lenta (62,5 °C/30 minutos), que consiste em um tratamento térmico aplicado ao leite que visa à adequação higiênico-sanitária antes de ser ofertado (BRASIL, 2008). Todas as etapas acima citadas são realizadas sob incidência de luz e estudos como o de Favaretto *et al.* (2016), demonstram evidências de que alguns nutrientes, dentre eles, os lipídeos, podem ser suscetíveis às reações indesejáveis durante o processamento do LH realizado pelos BLH.

O leite é susceptível à foto-oxidação, por conter alta quantidade de riboflavina (fotossensibilizante), uma vitamina capaz de absorver energia e desencadear reações de oxidação em cadeia, levando ao desenvolvimento de sabores/odores estranhos além de uma perda nutricional em compostos sensíveis como os lipídeos (MORTENSEN; SORENSEN; STAPELFELDT, 2002; BORLE; SIEBER; BOSSET, 2001; SKIBSTED, 2000; BOSSET; SIEBER; GALLMANN, 1995; BRADLEY; KIM; MIN, 2006). A ocorrência e a velocidade das alterações decorrentes da foto-oxidação do leite podem ser influenciadas pela intensidade da luz, pelo tipo de embalagem e também pelo tempo de exposição à luz do leite que poderá induzir reações indesejáveis (SCHMIDT *et al.*, 2012; MESTDAGH *et al.*, 2005).

Chaves *et al.* (2019) avaliaram os efeitos da incidência de luz usando diferentes tipos de frascos sob os teores de retinol, uma vitamina lipossolúvel

no LH, e concluíram que o uso do frasco transparente, com maior exposição à luz, reduziu significativamente seus teores, ao passo que os frascos âmbar e transparente recoberto por papel alumínio proporcionaram maior estabilidade durante as etapas de manuseio e processamento.

A problemática deste estudo surgiu a partir de conhecimentos prévios sobre foto-oxidação e da observação de interferências nocivas da luz em vitaminas lipossolúveis e AG, demonstradas em estudos anteriores com LH (CHAVES *et al.*, 2019; BATES; LIU; FULLER, 1985) e leite bovino (JOHNSON *et al.*, 2015; SMET *et al.*, 2008; MESTDAGH *et al.*, 2005). É consenso na literatura que o melhor alimento para os RN é o LH, porém ainda são escassos os estudos que avaliaram aspectos que podem interferir na integridade nutricional do LH processado pelos BLH. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi averiguar os possíveis efeitos da incidência de luz sobre a estabilidade de alguns AGs durante o processamento do LH doado, destinado, principalmente, a bebês internados em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN).

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. COLETA DE LEITE HUMANO PELAS DOADORAS**

O estudo contou com a participação de 10 doadoras do BLH da Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto, no período de janeiro a abril de 2018. O recrutamento foi por meio de contato telefônico, após a pesquisa ser aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, sob o número de CAAE 71251517.9.0000.5150 (ANEXO A). As doadoras que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). Como critério de exclusão foi adotada idade abaixo de 20 anos.

### **2.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS**

Foi avaliada a interferência do tipo de embalagem (vidro transparente, vidro âmbar e vidro transparente recoberto por papel alumínio) utilizados nas

etapas de coleta, armazenamento e pasteurização do LH e as consequências sob seu perfil lipídico. Os três tipos de frascos utilizados para as análises possuíam a mesma espessura e tamanho, tampa rosqueável de polietileno e apresentavam capacidade de 100 mL. As doadoras coletaram em seu domicílio 20 mL de LH em cada um dos três tipos de frascos.

Foi realizado um *pool* de leites do mesmo frasco para execução do estudo experimental. Após o reenvase nos devidos frascos citados, as amostras foram congeladas imediatamente por quatro dias a -18 °C. Logo em seguida, foram descongeladas e pasteurizadas, seguindo todos os procedimentos padronizados pelo Manual “Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos” (BRASIL, 2008). O descongelamento foi realizado em banho-maria à 40 °C e a pasteurização à 62,5 °C por 30 minutos, sendo que durante o aquecimento o LH foi moderadamente agitado para evitar formação de espuma e aderência às paredes do recipiente. Após o tratamento térmico, as amostras foram resfriadas imediatamente em banho de gelo até atingirem temperatura inferior à 5 °C e, em seguida, foram realizadas as análises para a determinação dos AG.

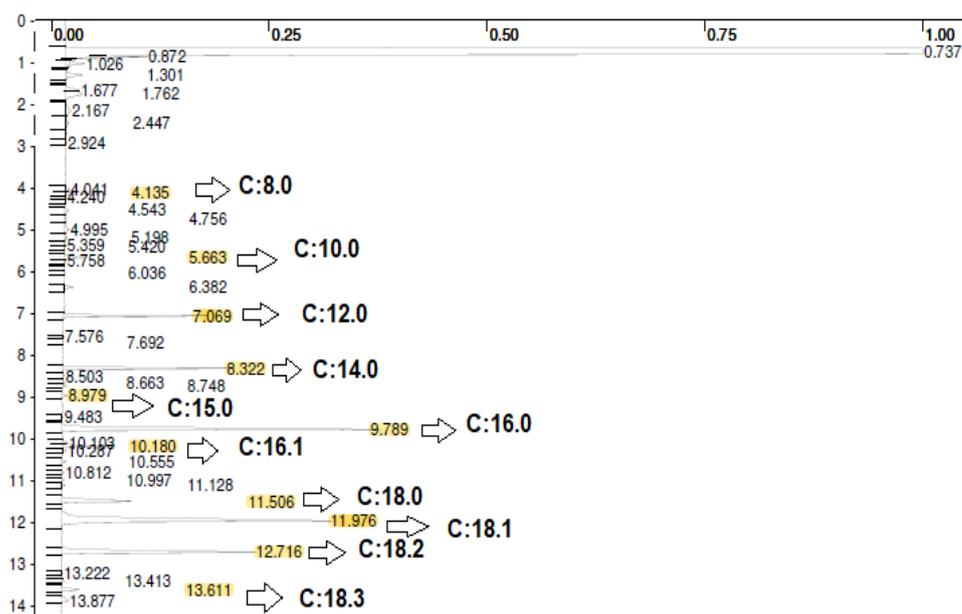
### 2.3. DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

A extração de lipídios totais foi realizada pelo método butirométrico de Gerber – conforme (BRASIL, 2005). Primeiramente, em butirômetros de Gerber, foram adicionados 11 mL de LH, 10 mL de ácido sulfúrico PA (D=1,82 g/mL) e 1 mL de álcool amílico PA. Essa solução foi agitada para dissolução completa do coágulo formado. Posteriormente, para a leitura dos teores de gordura, os butirômetros foram centrifugados a 500 xg, por 5 minutos. Na sequência, foram transferidas para um tubo de ensaio com tampa rosqueável, alíquotas de 20 mg de lipídios, e foi feita a esterificação dos AG, o que facilitou a sua volatilização na coluna do cromatógrafo, pela transformação dos AGs livres em metil-ésteres. Em um tubo de ensaio adicionou-se 1,5 mL de uma solução contendo hidróxido de potássio 0,5 N em metanol, que levou a saponificação dos AGs, sendo agitado em vórtex durante 1 minuto. A mistura

que se formou foi colocada em banho-maria a 70 °C por 5 minutos e então resfriada imediatamente em água corrente.

Após o resfriamento, foram adicionados 2 mL de solução de trifluoreto de boro (BF<sub>3</sub>, PA), 14% em metanol, sendo agitado em vórtex durante 1 minuto, aquecido em banho-maria a 70 °C durante 5 minutos e resfriado imediatamente em água corrente. Em seguida, foram adicionados 2,5 mL de solução de cloreto de sódio saturado e 1 mL de hexano (PA) à mistura, sendo centrifugado durante 10 minutos a 246 xg. A solução de cloreto de sódio saturada facilita a separação dos lipídios pela diferença de densidade das fases líquidas e o hexano extrai os AG da fase metanólica, o que forma o sobrenadante. Para a determinação dos AGs, foi utilizado o cromatógrafo a gás modelo CP-3380 (VARIAN, California, United States), com detector por ionização em chama. Inicialmente, 2 µL das amostras (em triplicata), foram injetadas no cromatógrafo. O extrato foi injetado a 225 °C no modo splitless (1 min) e Split (1/50) no injetor CP 1177 do sistema GC CP 3380 com detector de ionização de chama (DIC) e equipado com uma coluna SP-2330 (80% bis (3-cianopropil), 20% 3-cianopropilfenil polissiloxano) da Supelco Inc., Bellefonte, PA com 30m x 0,25mm x 0,2 µl de espessura de filme. A coluna foi mantida a 60 °C por 2 min e depois a 150 °C com taxa de 15 °C minutos e então, foi a 240 °C com taxa de 5 °C minutos sendo mantida nessa temperatura por 10 minutos. Foi utilizado como gás de arraste a 1,20 mL/minuto. O tempo total de análise foi 36 minutos e a identificação dos onze AGs metilados (Figura 3) foi realizada pela comparação com o tempo de retenção do padrão de AG Supelco 37 componentes mix FAME (SIGMA-ALDRICH®) e os resultados foram expressos em percentual de concentração relativa.

**Figura 3:** Cromatograma referente ao perfil de ácidos graxos de uma das amostras de leite humano



ácido caprílico (C 8:0), ácido cáprico (C 10:0), ácido láurico (C 12:0), ácido mirístico (C 14:0), ácido pentadecílico (C 15:0), ácido palmítico (C 16:0), ácido palmitoléico (C 16:1), ácido esteárico (C 18:0), ácido oléico (C 18:1  $\omega$  9), ácido linoléico (C 18:2  $\omega$  6) e ácido linolênico (C 18:3  $\omega$  3)

## 2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

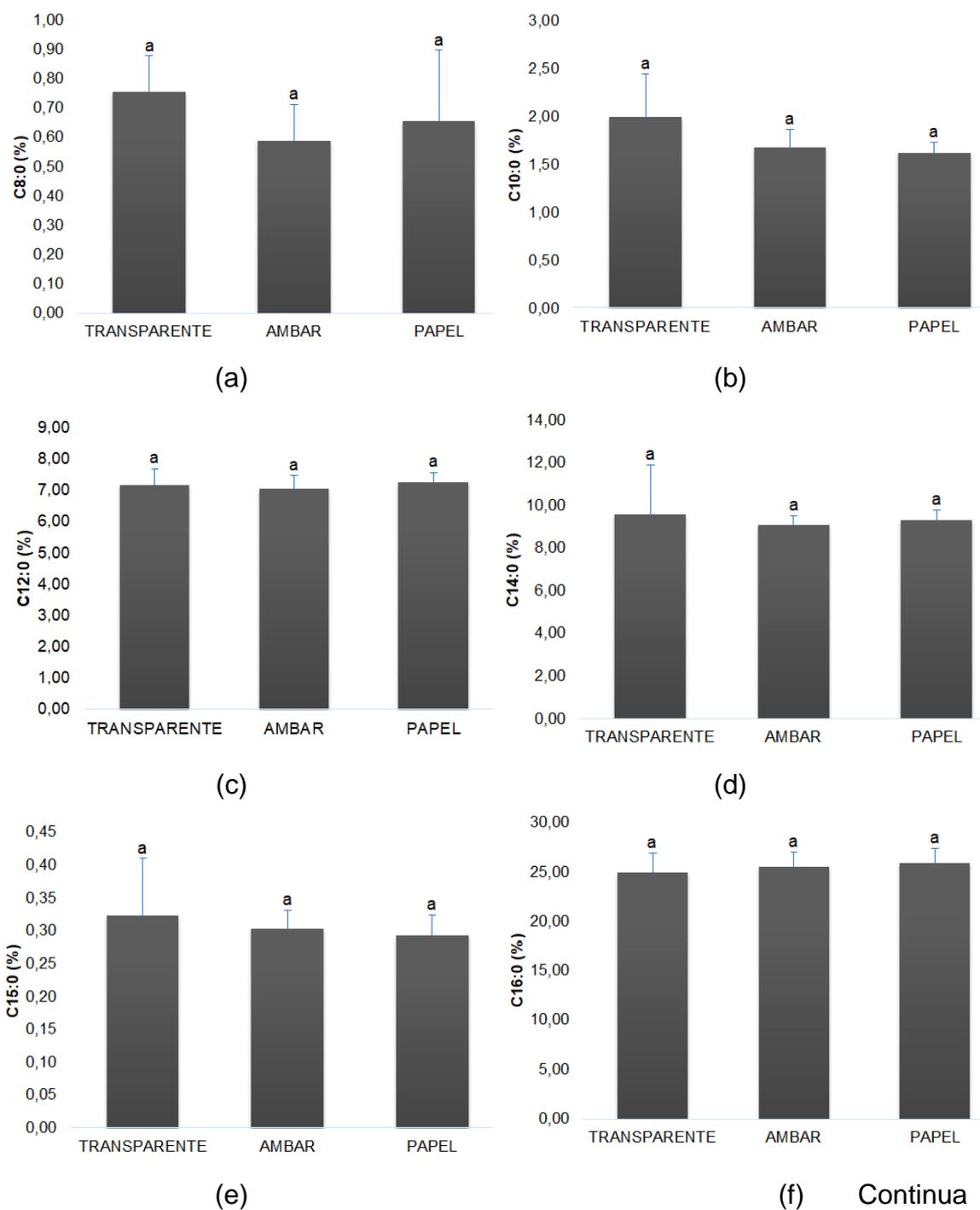
Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram aplicados para testar a normalidade dos dados. Em seguida, os resultados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas utilizando-se um nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2019).

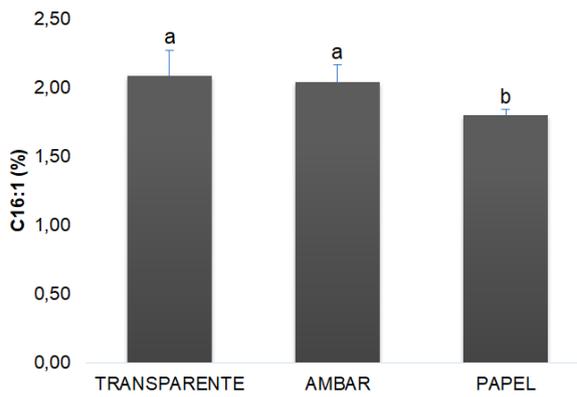
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do efeito da incidência de luz sobre o perfil dos onze AGs analisados no LH está apresentada pela Figura 4. Observou-se que não houve diferença significativa entre os tipos de embalagens de vidro utilizadas (transparente, transparente recoberto por papel alumínio e âmbar) na concentração de dez dos onze AGs analisados. Ao analisar as médias dos tratamentos do AG palmitoleico (C 16:1) (Figura 4g), verificamos que são

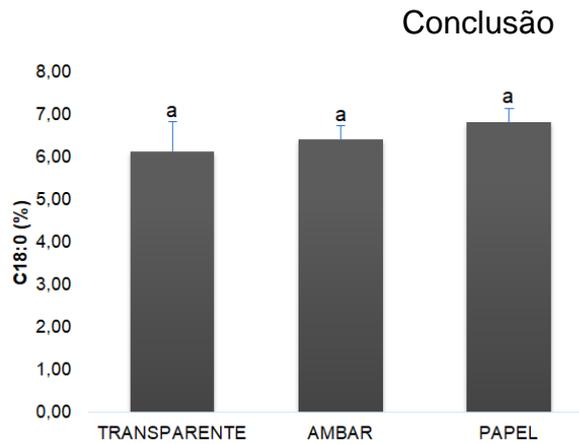
bastante similares e, por isso, a diferença significativa encontrada ( $p \leq 0,05$ ), pode não apresentar relevância na prática.

**Figura 4:** Efeito da incidência de luz conferida pelos tipos de embalagens de vidro (transparente, âmbar e recoberta por papel alumínio) sobre as concentrações de ácidos graxos\* do leite humano

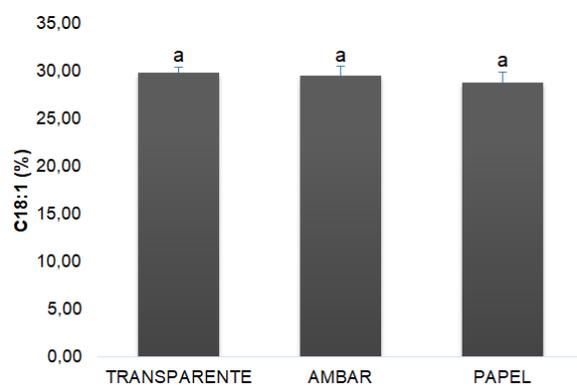




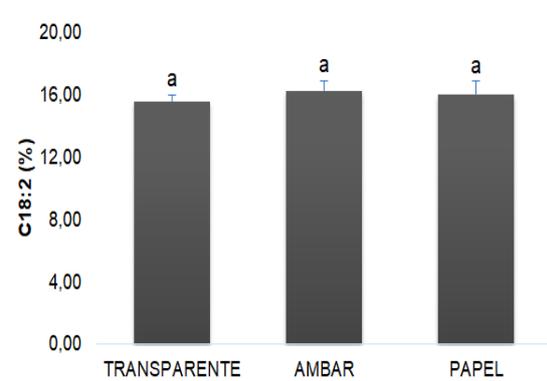
(g)



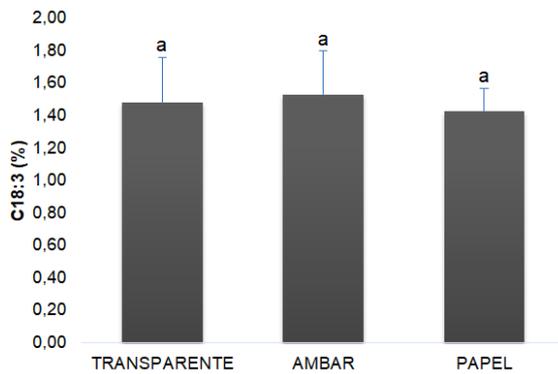
(h)



(i)



(j)



(k)

ácido caprílico (C 8:0), ácido cáprico (C 10:0), ácido láurico (C 12:0), ácido mirístico (C 14:0), ácido pentadecílico (C 15:0), ácido palmítico (C 16:0), ácido palmitoléico (C 16:1), ácido esteárico (C 18:0), ácido oléico (C 18:1 ω 9), ácido linoléico (C 18:2 ω 6) e ácido linolênico (C 18:3 ω 3)

\*Tratamentos seguidos de letras diferentes indica diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Não há na literatura estudos que avaliaram a estabilidade de AGs do LH em relação à foto-oxidação. Alguns artigos trazem a estabilidade de vitaminas, como A e B2 (riboflavina) presente no LH ou no leite de vaca (LIMA; VOGEL;

HAMPE, 2020; CHAVES *et al.*, 2019; UNAL *et al.*, 2017; JOHNSON *et al.*, 2015; SMET *et al.*, 2008; MESTDAGH *et al.*, 2005; BATES *et al.*, 1985). Com isso, atribui-se aos antioxidantes a atividade de inibir experimentalmente a oxidação ou, a depender de sua estrutura química, eliminar radicais livres. Os radicais livres são moléculas que contém um ou mais elétrons livres, o que os tornam altamente reativos. Um exemplo de radicais livres são as espécies reativas de oxigênio e seus efeitos são neutralizados pelos antioxidantes (MATOS; RIBEIRO; GUERRA, 2015). A riboflavina é um forte sensibilizador, que induz as reações de foto-oxidação, capaz de ser facilmente reduzido e oxidado por receber e doar átomos de hidrogênio ou elétron (CHOE; HUANG; MIN, 2005).

Lima, Vogel e Hampe (2020) buscaram associar a relação da luz durante os processamentos realizados nos BLHs e a degradação de alguns macronutrientes e vitaminas fotossensíveis presentes no LH doado. Foi aconselhado as nutrizes que participaram do estudo doando LH que extraíssem em condições de alta luminosidade natural e armazenassem em embalagens translúcidas, enquanto outra parte das amostras foram extraídas sob condições de baixa luminosidade e armazenadas em frascos âmbar. As amostras foram divididas em: cru exposta à luz, cru protegido da luz, pasteurizado exposto à luz e pasteurizado protegido da luz. Em relação aos resultados observados, as amostras que passaram pela exposição à luz tiveram sua concentração de riboflavina diminuída se comparada às outras amostras que não receberam luminosidade, o que indica instabilidade em relação a processos foto-oxidativos. Chaves *et al.* (2019) avaliaram o efeito da exposição à luz por meio de embalagens diferentes (frasco âmbar, transparente e transparente recoberto com papel alumínio) durante a extração, transporte e processamento do LH. Como resultados, verificaram que não houve influência dos tipos de embalagens na atividade antioxidante avaliada por dois métodos *in vitro*: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), mas em relação ao retinol, houve maior estabilidade nos frascos âmbar e recoberto por papel alumínio, ou seja, àqueles que apresentavam maior proteção à exposição à luz. Já Unal *et al.* (2017) investigaram o efeito da exposição do LH à luz de fototerapia para os RNs internados em UTIN, e constataram que a atividade antioxidante total foi

maior no grupo que teve proteção à luz. Os resultados de Bates *et al.* (1985) corroboram com os achados de Unal *et al.* (2017), pois os autores também simularam a exposição do LH em sondas orogástricas para RN que recebiam fototerapia e, como resultado, registraram uma maior degradação de riboflavina e vitamina A nos recipientes transparentes, ou seja, a exposição à luz influenciou negativamente a concentração dessas vitaminas no LH exposto à luminosidade por 7 horas.

Devido à escassez de estudos sobre o LH e as consequências de sua exposição à luz durante a extração e todo o processamento realizado nos BLHs até ser oferecido aos lactentes, foi interessante explorar pesquisas com outros tipos de leite. Mestdagh *et al.* (2005) utilizaram vários tipos de garrafas de polietileno tereftalato (PET) (transparente e composta por uma camada de oxigênio ativa; com perfeita barreira contra a luz; e uma garrafa formada por uma camada absorvente de raios ultravioleta) e comparou o potencial para prevenir a foto-oxidação em leite de vaca processado por *Ultra High Temperature* (UHT). Os leites foram estocados por dois meses e parâmetros, como oxidação lipídica, foram analisados. Os resultados demonstraram que embalagens com camadas de proteção contra a luz foram eficazes para prevenir a degradação lipídica, enquanto as embalagens formadas somente por barreiras de oxigênio não se mostraram eficazes na proteção dessas substâncias.

Urzêdo (2013) analisou a foto-oxidação do leite de vaca simulando a exposição nas gôndolas dos supermercados e avaliou a degradação da riboflavina (fossensibilizante). Acondicionou o leite em embalagens de vidro e polietileno de alta densidade sob incidência de luz de intensidade variada durante 14 dias de armazenamento e constatou que a vida de prateleira do leite aumentou com o uso de embalagem com maior proteção à incidência de luminosidade.

Jonhson *et al.* (2015) avaliaram a efetividade do uso da substância dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) em três concentrações distintas em embalagens, conferindo permeabilidades à luz distintas, e a eficácia na preservação de componentes como a riboflavina no leite de vaca. Verificaram que as embalagens com alto teor de TiO<sub>2</sub> ofereceram proteção similar ao grupo que não ficou exposto à luz durante 22 dias.

Apesar das evidências dos estudos citados que apontam a importância da utilização de embalagens que protejam os leites à exposição à luz para reduzir às consequências da foto-oxidação, em nosso estudo as amostras de LH ficaram um curto período de tempo expostas à luz, ou seja, receberam luminosidade durante procedimentos rápidos como durante a extração, degelo e pasteurização, os quais, juntos, não ultrapassaram uma hora de exposição. Vale ressaltar que a parte do processamento mais demorada é a pasteurização lenta, processo no qual os frascos contendo as amostras ficam imersos em água, dificultando ainda mais a refração de luz por meio da embalagem. No transporte do LH doado até o laboratório e armazenamento congelado as amostras permaneceram dentro de caixas isotérmicas ou em congeladores, protegendo-as da incidência de luz. Dessa forma, ressaltamos que o tempo de exposição do LH à luz foi muito inferior aos avaliados pelas demais pesquisas mencionadas anteriormente, podendo ter sido insuficiente para provocar alterações nas concentrações dos AGs analisados. Sabendo-se da importância do LH doado para a manutenção e/ou recuperação do estado de saúde de RNs em condições vulneráveis, sugerimos que outros estudos sejam realizados avaliando a eficácia da utilização de embalagens de vidro transparentes durante a obtenção, processamento e distribuição desses leites. Devem ter como foco a avaliação do efeito da foto-oxidação sobre outros AGs ainda não estudados, assim como nos seus demais nutrientes e compostos bioativos.

#### **4. CONCLUSÃO**

A incidência da luz sobre as diferentes embalagens não conferiu efeito deletério nas concentrações relativas dos AG analisados após as etapas de extração, manuseio, degelo e pasteurização do LH. Tais efeitos podem estar relacionados ao curto intervalo de tempo em que as amostras de LH ficaram expostas à luz.

## REFERÊNCIAS

BATES, C. J.; LIU, D. S.; FULLER, J. N. Susceptibility of riboflavin and vitamin a in breast milk to photodegradation and its implications for the use of banked breast milk in infant feeding. **Acta Paediatrica Scand**, v. 74, n. 1, p. 40-44, 1985.

BORLE, F.; SIEBER, R.; BOSSET, J. O. Photo-oxidation and photoprotection of foods, with particular reference to dairy products. An update of a review article (1993-2000). **Sciences des Aliments**, London, v. 21, n. 6, p. 571-590, 2001.

BOSSET, J. O.; SIEBER, R.; GALLMANN, P. U. Light transmittance: influence on the shelf life of milk and milk products. In: **TECHNICAL guide for the packaging of milk and milk products**. Brussels: IDF – International Dairy Federation, cap. 6, p. 19-39, 1995.

BRADLEY, D. G.; KIM, H. J.; MIN, D. B. Effects, quenching mechanisms, and kinetics of water soluble compounds in riboflavin photosensitized oxidation of milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 16, p. 6016-6020, 2006.

BRASIL. Ministério de Estado da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de atenção básica. **Saúde da criança: aleitamento materno e nutrição complementar**. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

CHAVES, J. O. *et al.* Effect of storage on retinol content and total antioxidant capacity of human milk. **British Food Journal**, v. 122, n. 2, p. 606-616, 2019.

CHOE, E.; HUANG, R.; MIN, D. B. Chemical reactions and stability of riboflavin in foods. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 28-36, 2005.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação saudável**. Viçosa: Editora UFV, 2014.

FAVARETTO, M. *et al.* Composição lipídica e proteica do leite humano pré e pós pasteurização. **Visão Acadêmica**, v.17, n. 4, p. 43-55, 2016.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira De Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

- JENSEN, R. G. Lipids in human milk. **Lipids**, v. 34, n. 12, p.1243–1271, 1999.
- JOHNSON, D. S. *et al.* Packaging modifications for protecting flavor of extended-shelf-life milk from light. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2205-2214, 2015.
- KOLETZKO, B. Human Milk Lipids. **Annals Nutrition Metabolim**, v. 69, n. 2, p. 28-40, 2016.
- LIMA, H. K.; VOGEL, K.; HAMPE, L. D. The associations between light exposure during pumping and holder pasteurization and the macronutrient and vitamin concentrations in human milk. **Journal of Human Lactation**, v. 36, n. 2, p. 254-263, 2020.
- MATOS, C.; RIBEIRO, M.; GUERRA, A. Breastfeeding: Antioxidative properties of breast milk. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 13, n. 3, p. 169-180, 2015.
- MESTDAGH, F. *et al.* Protective Influence of Several Packaging Materials on Light Oxidation of Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 2, p. 499-510, 2005.
- MORTENSEN, G.; SORENSEN, J.; STAPELFELDT, H. Effect of light and oxygen transmission characteristics of packaging materials on photo-oxidation quality changes in semi-hard havarti cheeses. **Packaging Technology and Science**, v.15, n. 3, p. 121-127, 2002.
- SCHMIDT, V. S. J. *et al.* Microbial biodiversity, quality and shelf life of microfiltered and pasteurized extended shelf life (ESL) milk from Germany, Austria and Switzerland. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, n. 2, p. 1-9, 2012.
- SKIBSTED, L. H. Light-induced changes in dairy products – Packaging of milk products. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 346, p. 4-9, 2000.
- SMET, K. *et al.* A change in antioxidative capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. **International Dairy Journal**, v.18, n. 5, p.520–530, 2008.
- UNAL, S. *et al.* The consequence of phototherapy exposure on oxidative stress status of expressed human milk. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 46-50, 2019.
- URZÊDO, A. C. B. (2013). Foto-oxidação do leite microfiltrado pasteurizado: influência do tipo de embalagem e intensidade da luz. Dissertação de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Ciência de Alimentos. Campinas-SP, 81p.
- WHO. **Policy brief: Ensuring equitable access to human milk for all infants:** A comprehensive approach to essential newborn care. Disponível em:

<https://www.who.int/nutrition/publications/infantfeeding/equitable-access-human-milk-policybrief/en/>. Acesso em: 30 dez. 2020.

## APÊNDICE A

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Você está sendo convidada para participar como voluntária de uma pesquisa. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, você deverá assinar este documento em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

Em caso de recusa, você não será penalizada de forma alguma. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com as pesquisadoras Camila Carvalho Menezes nos telefones (31) 8887-2233/3559-1834 e Jaísa Oliveira Chaves no telefone (31) 99403-6545. O Comitê de Ética em Pesquisa/UFOP poderá esclarecer questionamentos quantos aos aspectos éticos da pesquisa, por meio do telefone (31) 3559-1368.

#### **INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE A PESQUISA**

A pesquisa intitulada **“EFEITO DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DO LEITE HUMANO DESTINADO AOS BANCOS DE LEITE: IMPACTO SOBRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, VITAMINA A E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO”** tem por objetivo avaliar o efeito das condições de armazenamento, especialmente o armazenamento congelado (tempo x temperatura) e da luminosidade (diferentes embalagens) sobre o perfil de ácidos graxos, os teores de vitamina A (retinol) e da capacidade antioxidante in vitro do leite humano destinado aos bancos de leite. Portanto, para observar esses efeitos no leite humano. A coleta será realizada pelas pesquisadoras no seu domicílio, com agendamento prévio, não necessitando de nenhum deslocamento de sua parte.

Participando desse estudo você estará ajudando a melhorar a qualidade do leite humano do Banco de Leite e, assim, possibilitará o oferecimento aos prematuros de um leite mais potente para proteger sua saúde dos efeitos negativos de uma internação.

Você não sofrerá nenhum tipo de punição relacionada ao resultado da pesquisa e os dados oriundos da sua participação serão utilizados apenas para os fins propostos no estudo.

Esclarecemos que toda pesquisa envolve um risco inerente. Neste caso, o risco potencial é considerado baixo, uma vez que não implica em adoção de um procedimento que não seja rotineiro para a doação de leite. No entanto, reconhecemos a possibilidade de risco de constrangimento frente à possibilidade de não conseguir extrair a quantia necessária no momento agendado. Caso isto ocorra, as pesquisadoras deixarão você bem à vontade para agendar uma nova data para coleta. Além disto, como é feito no Banco de Leite Humano rotineiramente, nós ligaremos para você antes de retornar à sua casa, para sabermos se será possível fazer a coleta. Em relação ao momento da coleta, ao identificar qualquer sinal de complicação na mama, encaminharemos você ao Banco de Leite Humano para atendimento, como já é feito rotineiramente durante o processo de doação.

Não haverá despesas na sua participação da pesquisa e, portanto, não haverá nenhum tipo de ressarcimento, pagamento ou gratificação financeira. Todos os dados coletados serão mantidos em sigilo respeitando a sua privacidade e ficarão arquivados na ENUT/UFOP sob responsabilidade da pesquisadora responsável por 5 anos e logo após serão incinerados. Os dados obtidos serão de uso específico para os propósitos da pesquisa.

É seu direito negar-se a responder qualquer pergunta do questionário, recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

Os resultados da pesquisa, sendo favoráveis ou não, serão apresentados em forma de Trabalho de Conclusão de Curso e serão divulgados em eventos científicos e na forma de publicação de artigo científico em periódico indexado na área, sempre preservando a identidade e a privacidade das participantes.

---

Camila Carvalho Menezes

## CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA

Eu, \_\_\_\_\_, RG/CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do mencionado estudo intitulado **“EFEITO DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E EFEITO DA LUMINOSIDADE NO LEITE HUMANO PARA OS BANCOS DE LEITE: IMPACTO SOBRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, OS TEORES DE VITAMINA A E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO”**. Fui devidamente informada e esclarecida pelas pesquisadoras sobre os procedimentos da pesquisa, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento, se for o caso).

Local e data: \_\_\_\_\_

Nome e Assinatura: \_\_\_\_\_

## ANEXOS A

### Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
OURO PRETO



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Efeito das condições de armazenamento do leite humano destinado aos Bancos de Leite: impacto sobre o perfil de ácidos graxos, vitamina A e capacidade antioxidante in vitro

**Pesquisador:** MARIA CRISTINA PASSOS

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 71251517.9.0000.5150

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ouro Preto

**Patrocinador Principal:** Universidade Federal de Ouro Preto

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.243.745

##### Apresentação do Projeto:

O leite humano (LH) é o alimento ideal para o recém-nascido (RN), contribuindo para o seu crescimento e desenvolvimento plenos, conferindo proteção imunológica, nutrição adequada, compostos bioativos e capacidade antioxidante. Nos Bancos de Leite Humano (BLH) é realizado o tratamento térmico e o armazenamento do LH como forma de garantir sua qualidade ao ser ofertado aos bebês. Quanto ao armazenamento (congelamento), as evidências científicas que associam o potencial impacto de diferentes tempos e temperaturas sobre a capacidade antioxidante, perfil de ácidos graxos e teores de vitamina A (retinol) do LH, ainda são inconclusivos, como também o impacto da luz sobre esses teores, considerando que o LH sofre incidência da mesma nas etapas de processamento. Diante disto, os objetivos do trabalho serão: avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos leites doados por meio de um checklist aplicado às nutrizes para verificar a qualidade dos procedimentos adotados para a ordenha e manipulação do leite humano, e da realização de análises microbiológicas (contagens de *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e termotolerantes, fungos e leveduras e mesófilos aeróbios totais). Outros objetivos serão verificar a interferência das etapas do processamento do leite humano adotadas pelo Banco de Leite Humano da Santa Casa da Misericórdia de Ouro Preto e o efeito da luminosidade sobre seus teores de compostos bioativos, capacidade antioxidante e perfil de

**Endereço:** Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP  
**Bairro:** Campus Universitário      **Cel:** 35.400-000  
**UF:** MG      **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3559-1368      **Fax:** (31)3559-1370      **E-mail:** cep@propp.ufop.br

Continuação do Parecer: 2.243.745

ácidos graxos. Serão determinados os teores de vitaminas A, capacidade antioxidante pelos métodos de sequestro do radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) e de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil(DPPH). As dosagens serão realizadas em leites armazenados em três temperaturas distintas (-3 oC, -8 oC e -18 oC) por diferentes tempos (0, 2, 4, 8 e 15 dias). Para avaliar o efeito da luminosidade será utilizado diferentes frascos (vidro transparente, âmbar e transparente envolvido com papel alumínio) para armazenamento do LH nas etapas de coleta, processamento e armazenamento.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar o efeito do armazenamento (congelamento), condições de tempo, temperatura e luminosidade sobre o perfil de ácidos graxos, os teores de vitamina A (retinol) e da capacidade antioxidante in vitro do leite humano destinados aos bancos de leite.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

O risco potencial é considerado baixo, uma vez que não implica em adoção de um procedimento que não seja rotineiro para a doação de leite. No entanto, reconhecemos a possibilidade de risco de constrangimento frente à possibilidade de não conseguir ordenhar a quantidade necessária no momento agendado.

**Benefícios:**

Essa pesquisa possibilitará a detecção de pontos críticos do armazenamento do leite humano adotados pelos Bancos de Leite Humano no Brasil, que servirão de subsídios para promover uma melhoria no controle de qualidade dos serviços que compõem a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano, visando fornecer um leite mais adequado em qualidade em relação à composição lipídica, de vitamina A e da capacidade antioxidante.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O estudo objetiva avaliar as condições de armazenamento do leite humano.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O projeto apresentou todos os termos.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Endereço:** Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP  
**Bairro:** Campus Universitário **Cep:** 35.400-000  
**UF:** MG **Município:** OURO PRETO  
**Telefone:** (31)3550-1368 **Fax:** (31)3559-1370 **E-mail:** cep@propp.ufop.br