

O perfil lipídico, a concentração de calorías, de sódio e de água do leite humano são adequados para serem ofertados ao neonato desidratado?

Are lipid profiles, the concentration of calories, sodium and human milk water suitable to be offered to dehydrated neonate?

¿Los perfiles de lípidos, la concentración de calorías, sodio y agua de leche humana son adecuados para ser ofrecidos al neonato deshidratado?

Recebido: 23/11/2020 | Revisado: 24/11/2020 | Aceito: 28/11/2020 | Publicado: 03/12/2020

Adriela Albino Rydlewski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5791-4159>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: adrielaar@hotmail.com

Luciana Pelissari Manin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5429-5743>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: lucianapmanin@hotmail.com

Christyna Beatriz Genovez Tavares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1671-5425>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: cbgenovez@gmail.com

Meliana Gisleine Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3746-690X>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: mgpaula@uem.br

Eloize Silva Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3340-8374>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: eloizeetaus@gmail.com

Jesuí Vergilio Visentainer

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3412-897X>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: jesuivv@gmail.com

Resumo

Este estudo foi realizado para analisar o perfil lipídico, concentração de calorias, de sódio e água em amostras de colostro, leite de transição e leite maduro, para avaliar se as diferentes fases do leite humano são adequadas para serem oferecidas aos neonatos desidratados a termo. Foi escolhido delineamento transversal e quantitativo, utilizando 44 amostras de leite humano doados para o Banco de Leite Humano. Como critério de inclusão, foram selecionadas amostras de doadoras que amamentavam exclusivamente. Para avaliação dos perfis lipídicos foram preparados pools das três fases, que foram analisados com auxílio de espectrometria de massas com fonte de ionização por eletropulverização. As análises do teor calórico, sódio e umidade foram realizadas em amostras individuais utilizando-se metodologias oficiais da AOAC. Os perfis lipídicos indicaram que os pools podem apresentar importantes ácidos graxos que compõe os triglicerídeos presentes nos lipídios do leite humano. Os teores de sódio quando avaliados individualmente variaram significativamente e na maioria das amostras foram elevados, quando comparados aos valores de referência utilizados em UTIs neonatais. O teor médio de umidade do leite maduro foi maior quando comparado as demais fases, que apresentaram maiores teores de sódio e menores de umidade ($p < 0,05$). A análise estatística por PCA separou as amostras se destacaram em relação ao teor deste mineral. Os perfis lipídicos indicam a presença de ácidos graxos essenciais das famílias ômega-6 e 3, importantes para o desenvolvimento neurológico dos neonatos. O teor médio de sódio encontrado no leite maduro está dentro dos limites adequados para neonatos desidratados.

Palavras-chave: Leite humano; Perfil lipídico; Calorias, Sódio; Água; Neonato desidratado.

Abstract

This study was conducted to analyze the lipid, caloric, sodium and water in colostrum, transitional milk and mature milk profile to assess whether the different phases of human milk are suitable to be offered to dehydrated term infant. A cross-sectional and quantitative design was chosen, using 44 human milk samples donated to the Human Milk Bank. As inclusion criteria, were selected samples of donors who exclusively breastfed. To evaluate the lipid profiles pools of the three phases were prepared, which were analyzed with the aid of electrospray ionization source mass spectrometry. Calorie, moisture and sodium analyzes were performed on individual samples using official AOAC methodologies. Lipid profiles indicated that pools may have important fatty acids that make up the triglycerides present in human milk lipids. The levels of sodium when evaluated individually varied significantly and in most samples were high when compared to the reference values. The average moisture content of

mature milk was higher when compared to the other phases, which presented higher sodium content and lower moisture content ($p < 0.05$). The statistical analysis by PCA separated the samples stood out in relation to the content of this mineral. The lipid profiles indicate the presence of essential fatty acids from the omega-6 and 3 families, important for the neurological development of neonates. The average sodium content found in mature milk is within the appropriate range for dehydrated neonate.

Keywords: Human milk; Lipid profile; Calories; Sodium; Water; Dehydrated neonate.

Resumen

Este estudio se llevó a cabo para analizar el perfil lipídico, concentración de calorías, sodio y agua en muestras de calostro, leche de transición y leche madura, para evaluar si las diferentes fases de la leche materna son aptas para ser ofrecidas a neonatos a término deshidratados. Se eligió un diseño transversal y cuantitativo, utilizando 44 muestras de leche materna donadas al Human Milk Bank. Como criterio de inclusión se seleccionaron muestras de donantes que amamantaron exclusivamente. Para evaluar los perfiles de lípidos se prepararon pools de las tres fases, que se analizaron con la ayuda de espectrometría de masas con fuente de ionización por electropulverización. Se realizaron análisis de contenido calórico, de sodio y de humedad en muestras individuales utilizando metodologías oficiales de la AOAC. Los perfiles de lípidos indicaron que las piscinas pueden presentar importantes ácidos grasos que componen los triglicéridos presentes en los lípidos de la leche materna. Los niveles de sodio cuando se evaluaron individualmente variaron significativamente y en la mayoría de las muestras fueron altos, en comparación con los valores de referencia utilizados en las UCI neonatales. El contenido de humedad promedio de la leche madura fue mayor en comparación con las otras fases, que tuvieron mayor contenido de sodio y menor contenido de humedad ($p < 0.05$). El análisis estadístico por PCA separó las muestras que se destacaron en relación al contenido de este mineral. Los perfiles lipídicos indican la presencia de ácidos grasos esenciales de las familias omega-6 y 3, que son importantes para el desarrollo neurológico de los recién nacidos. El contenido promedio de sodio que se encuentra en la leche madura está dentro de los límites apropiados para los recién nacidos deshidratados.

Palabras clave: Leche materna; Perfil lipídico; Calorías, Sodio; Agua; Neonato deshidratado.

1. Introdução

O leite humano (LH) é uma emulsão complexa de lipídios, proteínas e água, calorias e sais minerais necessários para o desenvolvimento ideal do neonato (Léke et al., 2019). Noventa e oito por cento (98%) dos lipídios presentes no LH é constituído por triacilgliceróis (TAGs), que são fonte de importantes ácidos graxos (AGs) como o ácido graxo saturado (AGS) palmítico, monoinsaturado (AGMI) oleico 18:1n-9 e o poli-insaturado (AGPI) linoleico 18:2n-6, sendo este último componente da família ômega – 6 (Shahi et al., 2019). O ácido alpha-linolênico ômega – 3 também está presente no LH, e é precursor de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPI-CL) relacionados ao desenvolvimento neurocognitivo, como por exemplo o ácido eicosapentaenóico (Ep) e o ácido docosaexapentaenoico (DHA), que participam fortemente do desenvolvimento neurológico do neonato (Wang et al., 2019).

A composição nutricional do LH se modifica de acordo com as fases de lactação, sendo que o LH produzido durante os primeiros 7 dias pós-parto é considerado colostro, após o sétimo dia até o décimo quinto dia: leite de transição e após o décimo sexto dia: leite maduro (Soares et al., 2019). Além disso, o LH do início da mamada é conhecido como leite anterior, devido ao seu menor conteúdo de calorias. Com a progressão da mamada, pode tornar-se mais calórico e também é chamado de leite posterior (Brasil, 2014). Portanto, dependendo da concentração calórica, pode ser considerado hipocalórico (< 580 kcal/L), calórico (\geq 580 até 711 Kcal/L) ou hipercalórico (> 711 kcal/L) (Moraes et al., 2013).

Embora o LH seja considerado a opção ideal de alimentação, deve ser oferecido de maneira individualizada para atender às necessidades de neonatos desidratados (Harding et al., 2017). A desidratação pode ocorrer nos primeiros dias de vida e pode ser causada por dificuldades no aleitamento materno, prematuridade, dentre outros fatores. Conseqüentemente, o neonato pode apresentar diurese reduzida e até febre (Brasil, 2014). Estes problemas podem ser amenizados com o apoio da oferta de LH, que é um fator protetor contra a desidratação (Soares et al., 2019). Na ocorrência da condição clínica de desidratação neonatal, o mineral sódio deve ser monitorado continuamente, pois seu desequilíbrio pode agravar o problema, apesar de ser extremamente importante por regular o equilíbrio osmótico através da bomba de sódio-potássio (Locks et al., 2016; Sharma & Shastri, 2016).

Nesse contexto, o presente estudo foi realizado para identificar os perfis lipídicos, teores calóricos, de sódio e de água do colostro, leite de transição e leite maduro, que foram coletados no Banco de Leite Humano (BLH), situado no Hospital Universitário de Maringá (HUM) -

Maringá-PR, com o intuito de avaliar se as amostras de diferentes fases do LH são adequadas para serem oferecidas aos neonatos desidratados.

2. Materiais e Métodos

Seleção de amostras, ética e análises de leite humano (LH)

O delineamento selecionado foi de natureza transversal e quantitativa, utilizando 15 amostras de leite da fase de lactação colostro, 14 amostras de leite de transição e 15 amostras de leite maduro, somando 44 amostras de LH doados para o Banco de Leite Humano (BLH), localizado no Hospital Universitário de Maringá (HUM), Paraná, Brasil. Para a realização do presente estudo, foi necessário solicitar autorização da Comissão para o Regulamento de Atividades Acadêmicas (COREA) do HUM (número 1926), além de inserção na Plataforma Brasil e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (número 2.230.946).

Como critério de inclusão, foram selecionados LH de doadoras que amamentavam exclusivamente (sem outros alimentos líquidos ou sólidos). A coleta de dados sobre as características das doadoras (idade e raça) foi realizada através de registros do banco de dados do hospital, autorizado pela enfermeira chefe do BLH. Foram excluídos do estudo LH de doadoras que estavam em uso de medicamentos e presença de doenças.

As amostras de LH foram coletadas à temperatura de refrigeração (4 °C) e transportadas em caixa térmica com termômetro digital acoplado. O volume total de amostra de LH de cada doadora foi separado em três partes com 50 mL cada, para a realização das posteriores análises.

Teste de Crematócrito

O teor calórico foi obtido pelo método Crematócrito, originalmente descrito por Lucas et al. (1978). Três alíquotas de 75 µL de cada uma das amostras LH foram coletadas usando tubos capilares com diâmetro externo/interno de 1,5/1,0 mm respectivamente (tubos de micro-hematócritos, Perfecta®); uma extremidade foi selada com o queimador de Bunsen. Os tubos foram centrifugados em centrífuga Excelsa® Flex 3400, Fanem, Brasil a 11.5000 rpm por 15 minutos. Com auxílio de uma régua milimetrada mediu-se o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total do produto (coluna de creme + coluna de soro, expressos em mm). Esses valores foram aplicados nas fórmulas descritas e posteriormente, percentual de creme e o valor calórico das amostras foram calculados, respectivamente:

Coluna de creme (mm) x 100 ÷ Coluna total (mm) = % de creme.

Kcal / L = (290 + 66,8) x Crematócrito (%).

Teor de umidade e de sódio

A determinação do teor de umidade das amostras foi realizada utilizando-se o método da AOAC (2005) e a determinação do teor de sódio foi realizada por método espectrométrico de emissão de chama (Aoac, 2000).

Preparação das amostras para espectrometria com fonte de ionização por electropulverização (ESI (+)- MS) por infusão direta e condições instrumentais

Foram realizados *pools* de colostro, leite de transição e leite maduro, para extração dos lipídios totais (dados não apresentados) a partir do método de Folch et al. (1957). Os lipídios extraídos foram utilizados para a análise do perfil lipídico por ESI-MS. A análise foi realizada em *pools*, pois desta forma é possível analisar o comportamento do perfil lipídico, resultando em dados que refletem os perfis mundiais de possíveis AGs presentes nos TAGs do LH (Floris et al., 2019). As amostras foram preparados de acordo com da Silveira et al. (2017), empregando-se um espectrômetro de massa Xevo TQ-D triplo quadrupolo (Waters, Massachusetts, EUA), equipado com uma ionização por electropulverização (ESI) operando em modo positivo (ESI (+)- MS). O perfil lipídico foi obtido por infusão direta das amostras, compreendendo a faixa de massa/carga (m/z) de 100 a 1200, em triplicata. Os dados foram processados usando o software MassLynx™.

Análise estatística

Os dados de umidade e sódio foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com um nível de significância de 95%. Os resultados obtidos pelo método espectrométrico de emissão de chama foram analisados juntamente com a análise de componentes principais (PCA) e a análise de correlação de Pearson (r) do teor de umidade versus teor de sódio e do teor calórico versus sódio foi realizada para médias de LH usando o software RStudio (2015).

3. Resultados e Discussões

Descrição da amostra

Dentre as 45 doadoras selecionadas, as doadoras de colostro, leite de transição e leite maduro possuíam idades médias de 28.7; 31.6 e 32.4 anos, respectivamente. A maioria da doadoras não declarou raça (68.75%) e 31.55% declarou-se da raça branca.

Conteúdo calórico de amostras LH

De acordo com a Tabela 1, a maioria das amostras é considerada hipocalórica. A amostra 9 de colostro e as amostras 8 e 15 de leite maduro são consideradas calóricas e apenas a amostra 7 de leite de transição é classificada como hipercalórica. Estes resultados estão de acordo com um estudo realizado no Brasil, onde Aprile (2006) encontrou apenas 9% do LH classificado como hipercalórico. Moraes et al. (2013) também realizaram um estudo do conteúdo calórico dos doadores nas três fases de LH, em que 55% dos leites analisados eram hipocalóricos, sendo também considerados leites anteriores. Os autores relataram que a dificuldade em obter leite hipercalórico pode estar relacionada à falta de orientação das mães sobre a ordenha do leite final, que possui mais calorias por ser rico em lipídios. Além disso, o conteúdo calórico do LH também pode ser influenciado pela resposta hormonal da mãe, a partir da sucção do bebê, que produzirá impulsos sensoriais da contração das células mioepiteliais ao redor dos alvéolos, favorecendo o fluxo de leite dos dutos para o mamilo. Assim, esse hormônio, além de atuar na ejeção, também pode influenciar o teor lipídico que o bebê recebe durante a mamada, uma vez que não é liberado apenas no final (Sahi et al., 2019).

É importante enfatizar também que o método Crematócrito pode superestimar ou subestimar o valor calórico, devido ao tempo de aplicação da centrifugação da amostra, o que pode refletir na compressão da camada de creme. Consequentemente, o conteúdo calórico calculado pode ser influenciado pelo tempo de centrifugação, de acordo com a adaptação ao método original de Lucas et al. (1978) para a rotina de BLH (Moraes et al., 2013).

Tabela 1 - Teor calórico analisado pelo método Crematócrito em amostras de leite humano (colostro, transição e maduro).

Amostras	Valor calórico (kcal/L)		
	Colostro	Transição	Maduro
1	451.66 ^a	506.66 ^a	544.14 ^a
2	510.44 ^a	505.48 ^a	506.66 ^a
3	503.35 ^a	450.81 ^a	514.01 ^a
4	450.01 ^a	499.99 ^a	435.48 ^a
5	492.62 ^a	498.78 ^a	486.39 ^a
6	396.62 ^a	613.28 ^a	474.95 ^a
7	449.07 ^a	718.76 ^c	502.06 ^a
8	534.65 ^a	536.94 ^a	616.87 ^b
9	608.25 ^b	537.44 ^a	452.52 ^a
10	507.88 ^a	509.02 ^a	393.37 ^a
11	539.85 ^a	505.52 ^a	449.15 ^a
12	510.31 ^a	501.03 ^a	512.67 ^a
13	506.66 ^a	504.49 ^a	345.06 ^a
14	449.93 ^a	449.07 ^a	557.98 ^a
15	509.06 ^a	-	583.54 ^b

Resultados expressos em média; ^a Amostras com valores menores ou iguais a 580 kcal/L são consideradas hipocalóricas; ^b Amostras com valores de 580 a 711 Kcal/L são consideradas calóricas; ^c Amostras com valores superiores a 711 Kcal/L são consideradas hipercalóricas. Fonte: Autores.

Teor de umidade

De acordo com a Tabela 2 são apresentados os valores de umidade de cada amostra, bem como os teores médios. A concentração média encontrada no leite maduro foi mais elevada, diferindo significativamente das médias do colostro e do leite de transição.

Silva et al. (2007) analisaram a umidade média de diferentes fases de LH e encontraram valores semelhantes em nosso estudo para as concentrações médias de colostro e leite maduro, que foram de 87.82% e 89.85%, respectivamente. Por outro lado, o teor de umidade para leite

maduro estabelecido por USDA (2018) é de 87.50%, próximo ao valor encontrado em nosso estudo para o leite de transição.

Tabela 2 - Valores de umidade de amostras de leite (coloostro, transição e maduro).

Amostras	Teor de umidade (%)		
	Coloostro	Transição	Maduro
1	89.78 ± 1.02 ^{AB}	85.61 ± 1.66 ^{BC}	90.70 ± 1.37 ^{AB}
2	89.41 ± 0.77 ^{AB}	86.94 ± 0.57 ^{BD}	89.38 ± 0.38 ^{AB}
3	88.22 ± 0.03 ^{AB}	84.72 ± 0.15 ^{BCD}	87.38 ± 0.53 ^{BC}
4	85.31 ± 1.00 ^{BCD}	86.42 ± 1.11 ^{BC}	89.37 ± 0.28 ^{AB}
5	84.34 ± 1.67 ^{CD}	83.98 ± 0.38	89.37 ± 0.32 ^{AB}
6	86.94 ± 1.45 ^{ABC}	86.40 ± 0.88 ^{BC}	88.38 ± 0.33 ^{AB}
7	84.67 ± 0.58 ^C	83.48 ± 0.87	88.91 ± 1.03 ^{AB}
8	87.01 ± 0.29 ^C	84.93 ± 0.58	86.69 ± 0.37 ^{BC}
9	82.51 ± 1.69 ^{CD}	87.53 ± 0.75 ^B	90.80 ± 0.32 ^A
10	90.42 ± 0.14 ^{AB}	88.49 ± 0.38 ^B	88.70 ± 0.39 ^{AB}
11	85.49 ± 0.39 ^C	88.39 ± 0.49 ^B	88.38 ± 0.29 ^{AB}
12	85.37 ± 0.47 ^B	87.41 ± 0.51 ^B	89.38 ± 0.39 ^{AB}
13	86.68 ± 0.59 ^C	89.29 ± 0.39 ^A	88.48 ± 0.33 ^{AB}
14	86.94 ± 0.48 ^C	87.53 ± 0.97 ^B	90.30 ± 1.42 ^{AB}
15	88.47 ± 0.46 ^{AB}	-	89.55 ± 0.47 ^{AB}
Média	86.87 ± 2.44 ^b	87.19 ± 1.09 ^b	89.16 ± 1.25 ^a

Resultados expressos como média ± desvio padrão de três repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autores.

Teor de sódio

A Tabela 3 mostra o conteúdo de sódio em cada amostra, e também apresenta as concentrações médias de cada fase de LH, expressas em mg/100g. O menor valor foi encontrado na amostra 12 de leite de transição e o maior valor na amostra 9 de coloostro, que também foi considerado leite calórico e apresentou alto nível de umidade. Os teores médios encontrados

para os dois minerais foram maiores no colostro, seguidos pelo leite de transição e pelo leite maduro, mostrando diferença significativa.

De acordo com Wack et al. (1997) variações interindividuais na secreção de sódio no LH poderiam explicar, pelo menos em parte, as diferenças encontradas nas concentrações deste mineral, entre os resultados dos estudos disponíveis na literatura. É importante enfatizar que a aplicação de diferentes metodologias resulta em diferentes resultados, o que pode dificultar a comparação dos dados (Sírio et al., 2007). Entretanto, não há diferença significativa entre os valores encontrados para esse mineral ao se aplicar técnicas de fotometria de chama ou digestão ácida, seguidas de espectrofotometria de absorção atômica, que foi o método escolhido em nosso estudo (Aoac, 2000).

Tabela 3 - Teor de sódio (mg / 100 g) de amostras de leite humano (colostro, transicional e maduro).

Amostras	Concentração de sódio ^a (mg/100 g)		
	Colostro	Transição	Maduro
1	7.68 ± 0.30 ^A	29,38 ± 0,08 ^A	19.14 ± 0,17 ^A
2	17.39 ± 0.90 ^C	23,63 ± 0,15 ^B	15,62 ± 0,05 ^A
3	20.91 ± 0.57 ^D	15,70 ± 0,28 ^C	17,06 ± 0,57 ^B
4	32.58 ± 0.38 ^G	18,81 ± 0,21 ^D	17,08 ± 0,10 ^B
5	25.23 ± 0.14 ^E	25,42 ± 0,04 ^E	20,13 ± 0,15 ^C
6	8.81 ± 0.31 ^K	35,98 ± 0,11 ^F	17,47 ± 0,45 ^B
7	40.83 ± 0.53 ^J	26,88 ± 0,11 ^G	17,05 ± 0,18 ^B
8	36.13 ± 0.15 ^H	24,92 ± 0,13 ^E	9,88 ± 0,68 ^D
9	42.60 ± 1.31 ^A	23,07 ± 0,18 ^H	18,63 ± 0,29 ^E
10	28.01 ± 0.55 ^F	21,23 ± 0,23 ^I	17,56 ± 0,19 ^B
11	33.44 ± 0.15 ^G	15,85 ± 0,08 ^C	12,54 ± 0,05 ^F
12	38.93 ± 0.67 ^I	6,97 ± 0,26 ^J	14,94 ± 0,07 ^E
13	37.66 ± 0.31 ^{HI}	7,44 ± 0,21 ^J	13,55 ± 0,43 ^G
14	36.34 ± 0.14 ^H	15,05 ± 0,20 ^K	15,14 ± 0,35 ^A
15	15.00 ± 0.76 ^B	-	14,59 ± 0,23 ^A

^aResultados expressos como média \pm desvio padrão de três repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autores.

A Tabela 4 mostra os valores médios de sódio expressos em mmol/L ou mEq/L. A concentração média encontrada no leite maduro em mmol/L representa menos de um terço dos valores presentes no leite de vaca (25mEq/L ou mmol/L) e são suficientes para atender às necessidades de bebês desidratados, que é de 2-4 mEq/kg/dia (Bruxel et al., 2019). O resultado médio de sódio encontrado no leite maduro (mg/100g) apresentou concentrações significativamente menores em comparação ao colostro e foi semelhante aos valores de referência do USDA (2018) (17 mg/100 g), que foram inseridos no Software Dietbox® (2015). Apesar disso, Morgano et al. (2005) analisaram o conteúdo de sódio de amostras de leite maduro e encontraram 20.72 mg/100g de sódio, resultados semelhantes aos encontrados no leite de transição em nosso estudo.

O valor médio de sódio no colostro (mg/100g), foi semelhante ao estabelecido pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TBCA (2017) que é de 25 mg/100 g e foram inseridos no software Dietbox®. Por outro lado, pode-se observar que o valor médio encontrado do colostro para este mineral foi superior aos resultados de estudos de Calil et al. (1991) (15.06 mg/100 g) e Accioly (2009) (16 mg/100 g).

Tabela 4 - Concentrações médias de sódio no colostro, leite de transição e maduro (mg/100g e mmol/L).

	Leite Humano		
	Colostro	Transição	Maduro
Sódio	28.10 ^a \pm 0.29 ^a	20.74 ^a \pm 0.09 ^b	16.02 ^a \pm 0.08 ^c
	12.21 ^a \pm 0.26 ^a	9.01 ^a \pm 0.11 ^b	6.96 ^a \pm 0.10 ^c

Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). DP: desvio padrão. ^amg / 100 g; ^aMmol/L ou mEq/L. Fonte: Autores.

Espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS)

A Tabela 5 apresenta os possíveis lipídios que compõem os TAGs dos *pools* de LH com intensidades aproximadas de 50%. Para evitar a repetição dos resultados no texto, descrevemos a simbologia dos AGs no rodapé da Tabela. O pico iônico mais intenso foi considerado 100%. Subsequentemente, todos os demais picos encontrados na região de 500 a 1000 *m/z* dos

espectros foram atribuídos com intensidade decrescente em relação ao pico mais intenso. Todos os picos dos *pools* analisados são mostrados nas Figuras 1, 2 e 3.

Para os *pools* de colostro e de leite de transição, o pico representando 100% foi o de m/z 874, com possíveis combinações de AGs apresentadas na Tabela 5. É possível observar que o AGS predominante foi o ácido palmítico (P), que no LH está posicionado no centro do esqueleto do TAG, promovendo sensação de analgesia no neonato (Rydlewski et al., 2020). Além do AGPI ácido alpha-linolênico (Ln), precursor do AGPI-CL ácido eicosapentaenóico (Ep), ambos da família ômega-3 também poderem compor os TAGs destes *pools*. Nota-se m/z 874 é o pico mais intenso nos *pools* de colostro e de leite de transição com predominância de P; o precursor Ln e o AGPI-CL Ep também podem compor as combinações, sendo este último importante constituinte do cérebro e retina do neonato (Shahi et al., 2019). Além disso, Ep desempenha papel importante na resposta inflamatória e imune, por ser considerado anti-inflamatório (Léké et al., 2019).

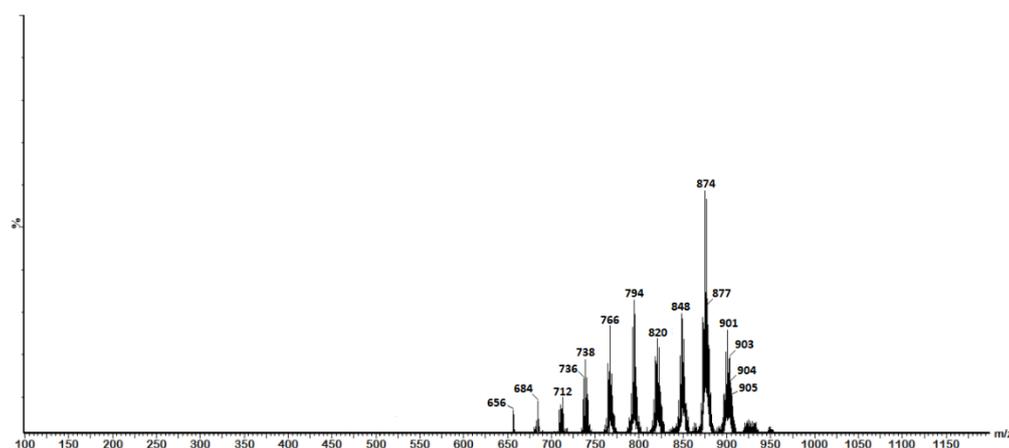
Para o *pool* de leite maduro, o pico mais intenso foi o de m/z 876, sendo o AGMI oleico (O) predominante, que é de extrema importância para o neonato, já que a presença deste AG auxilia na absorção do mineral cálcio pelo intestino do neonato (Rydlewski et al., 2020). Em todos os *pools*, o pico de m/z 877 foi bastante intenso, apresentando dentre as combinações de AGs a predominância do ácido graxo essencial linoleico (L), da família ômega-6, que é precursor do AGPI-CL ácido araquidônico, um dos principais constituintes das membranas de células neuronais (Sahi et al., 2019). Em um estudo realizado por Floris et al. (2019), no qual foram incluídas 5391 amostras, os autores concluíram que P, O e L permaneceram estáveis nas três fases da lactação, contribuindo com um terço do teor total de lipídios do LH. Além disso, todos estes AGs são de grande importância para o pleno desenvolvimento do neonato (Rydlewski et al., 2020), o que fica confirmado presença destes compostos lipídicos em todas as fases de LH avaliadas.

Tabela 5 - Os principais TAGs analisados por ESI (+) - MS de *pools* de LH em porcentagem relativa (%).

Possíveis TAGs	Fórmula	[TAG+NH ₄] ⁺	C	T	M
PLO, PEpP, SEpM, MaMaLn, PLnHp	C ₅₅ H ₁₀₀ O ₆	874	100	100	59.37
POO, SOPo, SLP, APoPo	C ₅₅ H ₁₀₂ O ₆	876	85.69	96.31	100
SPS/APoP/SOP	C ₅₅ H ₁₀₄ O ₆	878	55.30	73.29	86.58
PoOL/PLL	C ₅₅ H ₉₈ O ₆	877	61.04	85.39	88.09

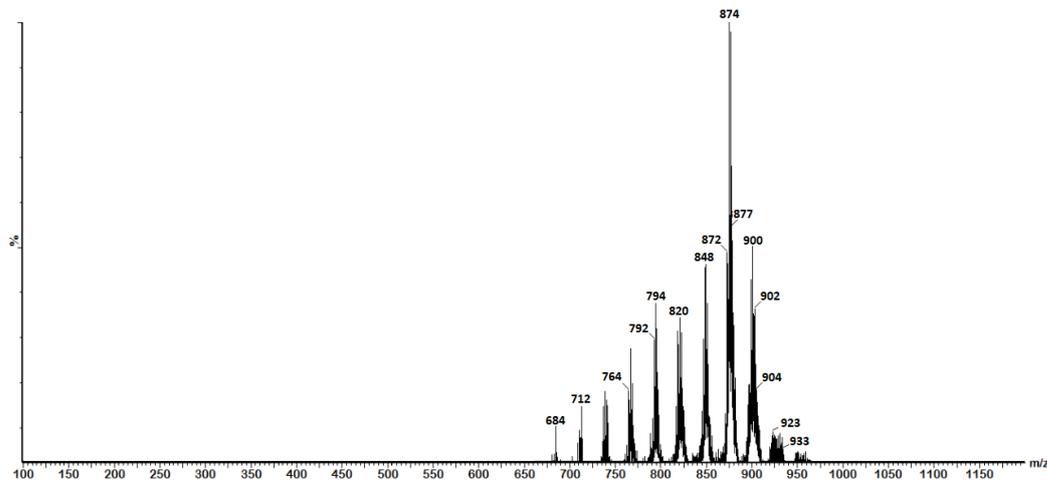
TAG: triacilglicerol. C: colostro. T: transição. M: maduro. A: ácido araquídico (20:0). Ep: ácido eicosapentaenoico (20:5n-3). S: ácido esteárico (18:0). L: ácido linoleico (18:2n-6). Ln: ácido alfa-linolênico (18:3n-3). M: ácido mirístico (14:0). Ma: ácido margárico (17:0). O: ácido oleico (18:1n-9). P: ácido palmítico (16:0). Po: ácido palmitoléico (16:1). Fonte: Autores.

Figura 1. Espectro do *pool* de colostro obtido por ESI (+) - MS.



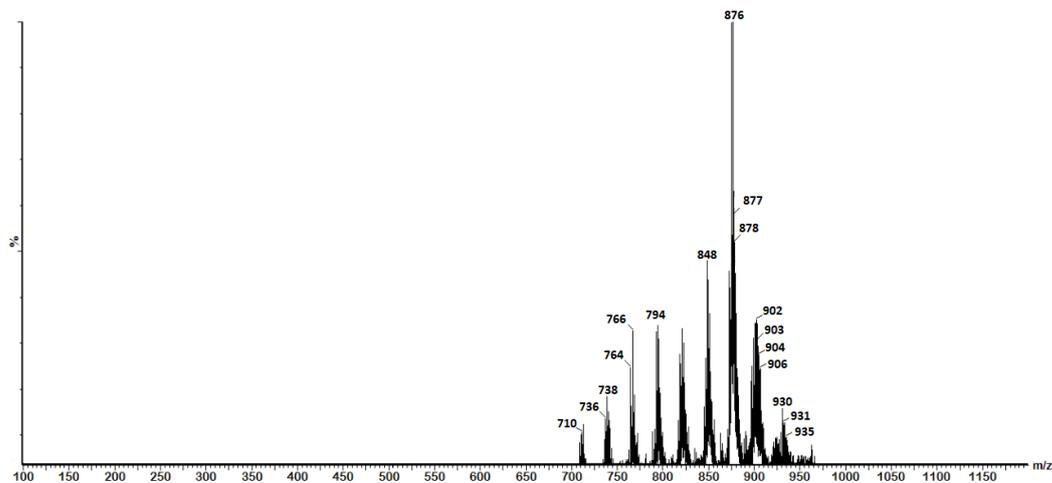
Fonte: Autores.

Figura 2. Espectro do *pool* de leite de transição obtido por ESI (+) - MS.



Fonte: Autores.

Figura 3. Espectro do *pool* de leite maduro obtido por ESI (+) – MS.



Fonte: Autores.

Coefficiente de correlação de Pearson (r)

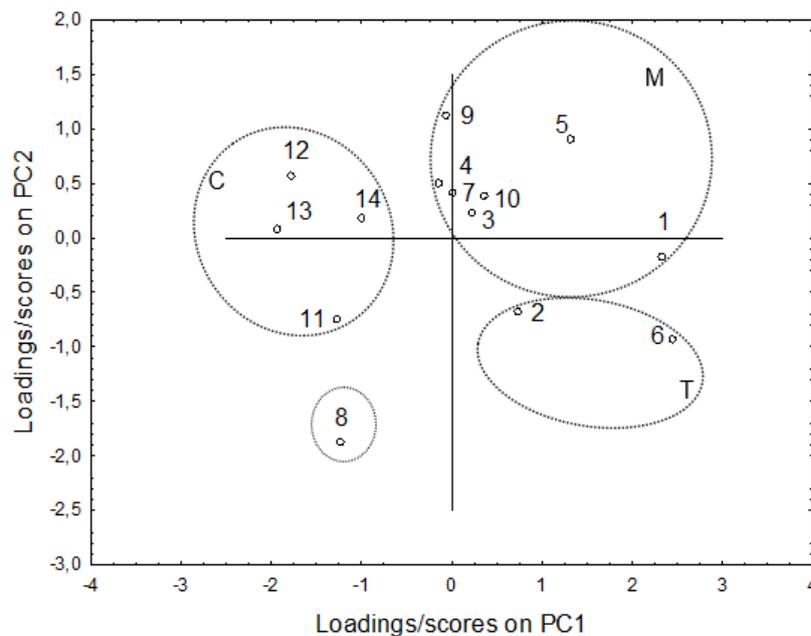
As correlações entre sódio, umidade e calorias foram analisadas usando o coeficiente de correlação de Pearson (r). Os resultados médios entre a variável umidade versus sódio no colostro, de leite de transição e leite maduro foram negativos (-0.55; -0.52 e -0.56; respectivamente), que indicam correlações inversamente proporcionais.

Os resultados entre a variável calorias versus sódio do colostro (0.45) e de leite de transição (0.53) foram positivos. Para amostras de leite maduro, o resultado foi negativo (-0.23), já que o teor de sódio nesta fase de LH foi menor em relação às demais fases.

Análise de Componentes Principais (PCA)

A Figura 4 apresentada abaixo representa a análise de PCA, que foi realizada para proporcionar melhor visualização da contribuição dos resultados das concentrações de sódio para cada amostra. PC1 (63.99%) e PC2 (21.76%) explicaram 85.75% da variância total. As cargas (variáveis)/escores (amostras) da análise mostraram a formação de quatro grupos distintos.

Figura 4 - PC: componente principal. Análise biplot de cargas (variáveis)/escores (amostras) de sódio para o primeiro e segundo PC de diferentes amostras de LH. 1: amostra de leite maduro. 2: amostra de leite de transição. 3: amostra de leite maduro. 4: amostra de leite maduro. 5: amostra de leite maduro. 6: amostra de leite de transição. 7: amostra de leite maduro. 8: amostra de colostro. 9: amostra de leite maduro. 10: amostra de leite maduro. 11: amostra de colostro. 12: amostra de colostro. 13: amostra de colostro. 14: amostra de colostro. C: colostro. T: transição. M: maduro.



Fonte: Autores.

No quadrante negativo de PC1 e nos quadrantes positivo e negativo do PC2, um grupo foi formado por amostras 11, 12, 13 e 14 de colostro, que se separaram devido as altas concentrações do mineral.

No quadrante positivo para PC1 e negativo de PC2, um segundo grupo consistiu nas amostras de leite de transição 2 e 6, mais concentradas em sódio.

O terceiro grupo formado pelas amostras de leite maduro (1, 3, 4, 5, 7, 9 e 10) separou-se no quadrante positivo e negativo de PC1 e PC2. Finalmente, a amostra 8 formou o quarto grupo porque apresentou altos níveis de sódio, tanto no colostro e quanto no leite de transição.

4. Conclusões

O teor calórico da maioria das amostras foi considerado hipocalórico e possui perfil semelhante ao do leite anterior. O teor médio de umidade do leite maduro foi significativamente maior quando comparado ao colostro e leite de transição, que apresentaram maiores teores de sódio e menores de umidade. A partir de correlação de Pearson (r), foi possível confirmar que as variáveis umidade e sódio são inversamente proporcionais nas diferentes fases do LH e a análise de sódio em combinação com PCA provou ser uma ferramenta estatística capaz de elucidar quais as amostras se destacaram em relação ao teor deste mineral. Os teores de sódio foram bastante variáveis e elevados na maioria das amostras analisadas separadamente, quando comparados aos valores de referência utilizados em neonatologia. Apesar disso, os teores médios de sódio e de água no leite maduro estão dentro dos limites adequados para serem ofertados aos neonatos desidratados. Já os perfis lipídicos dos *pools* de LH analisados mostraram que P, L, Ln, Ep, O estão dentre os AGs que compõem os TAGs, sendo L e Ln, precursores essenciais de AGPI-CL das famílias ômega-6 e 3, sendo portanto, adequados as necessidades de intenso desenvolvimento físico e neurológico dos neonatos. A partir desses resultados, podem ser realizados trabalhos futuros de mensuração dos teores sódio e outros minerais no leite maduro, que apresentou-se adequado para ser ofertado ao neonato desidratado, a fim de contribuir positivamente para a confirmação dos teores destes nutrientes no LH, já que este alimento é tão importante para o desenvolvimento do neonato.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse com relação à publicação deste artigo.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e bolsas de estudos.

Referências

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. (17a ed.), Gaithersburg: AOAC.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. 2005. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. (18a ed.), Gaithersburg: AOAC.

Aprile, M. D. M. (2006). *Crescimento de recém-nascidos de muito baixo peso alimentados com leite de banco de leite humano selecionado segundo o valor calórico e proteico* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). Recuperado de <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5141/tde-26012007-171556/en.php>.

Brasil. Ministério da Saúde. *Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde, cuidados gerais*. Brasília, (2a ed.), 2, 194. Recuperado de http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao_saude_recem_nascido_v1.pdf.

Bruxel, R., & Sica, C. D. A. (2019). Análise de proteína e micronutrientes em amostra de leite humano. *RBONE-Revista Brasileira De Obesidade, Nutrição E Emagrecimento*, 13(78), 194-201. Recuperado de <http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/909/662>.

da Silveira, R., Vágula, J. M., de Lima Figueiredo, I., Claus, T., Galuch, M. B., Junior, O. O. S., & Visentainer, J. V. (2017). Rapid methodology via mass spectrometry to quantify addition of soybean oil in extra virgin olive oil: a comparison with traditional methods adopted by food industry to identify fraud. *Food Research International*, 102, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.076>.

DIETBOX. Software para Planejamento Dietético Dietbox versão 2.0. 2015. Recuperado de <https://dietbox.me/pt-BR/>.

Floris, L. M., Stahl, B., Abrahamse-Berkeveld, M., & Teller, I. C. (2019). Human milk fatty acid profile across lactational stages after term and preterm delivery: A pooled data analysis. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 102023. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2019.102023>.

Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226(1), 497-509.

Guimarães, V. A., de Novak, J. A. G., & Reis, F. (2016). Normas Técnicas REDE BLH-BR para Bancos de Leite Humano: recursos humanos. Recuperado de <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lis-LISBR1.1-40108>.

Harding, J. E. et al. Advances in nutrition of the newborn infant. (2017). *The Lancet*, 389 (10079), 1660-1668. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30552-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30552-4).

Léké, A., Grognet, S., Deforceville, M., Goudjil, S., Chazal, C., Kongolo, G., & Biendo, M. (2019). Macronutrient composition in human milk from mothers of preterm and term neonates is highly variable during the lactation period. *Clinical Nutrition Experimental*, 26, 59-72. <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2019.03.004>.

Locks, L. M., Manji, K. P., McDonald, C. M., Kupka, R., Kisenge, R., Aboud, S., & Duggan, C. P. (2016). Effect of zinc and multivitamin supplementation on the growth of Tanzanian children aged 6–84 wk: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 103(3), 910-918. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.120055>.

Lucas, A., Gibbs, J. A., Lyster, R. J. L., & Baum, J. D. (1978). Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br med J*, 1(6119), 1018-1020. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6119.1018>.

Moraes, P. S. D., Oliveira, M. M. B. D., & Dalmas, J. C. (2013). Perfil calórico de la leche pasteurizada en el banco de leche humana de un hospital escuela en Londrina, Paraná,

Brasil. *Revista Paulista de Pediatria*, 31(1), 46-50. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-05822013000100008>.

Morgano, M. A., Souza, L. A., M Neto, J., & Rondó, P. H. (2005). Composição mineral do leite materno de bancos de leite. *Food Science and Technology*, 25(4), 819-824. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400031>.

Rydlewski, A. A. (2020). Métodos analíticos utilizados para a determinação de lipídios em leite humano: uma revisão. *Revista Virtual de Química*, 12(1). <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200013>.

Sahi, A. K., Varshney, N., Poddar, S., Vajanthri, K. Y., & Mahto, S. K. (2019). Optimizing a detection method for estimating polyunsaturated fatty acid in human milk based on colorimetric sensors. *Materials Science for Energy Technologies*, 2(3), 624-628. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.07.001>.

Sharma, D., Shastri, S., Farahbakhsh, N., & Sharma, P. (2016). Intrauterine growth restriction—part 1. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 29(24), 3977-3987. <https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1152249>.

Silva, R. C. D., Escobedo, J. P., Gioielli, L. A., Quintal, V. S., Ibidi, S. M., & Albuquerque, E. M. (2007). Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. *Química Nova*, 30(7), 1535-1538. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000700007>

Sírio, M. A. D. O., Silva, M. E., Paula, H. D., Passos, M. C., & Souza Sobrinho, A. O. D. (2007). Clinical and epidemiological determinants of sodium and potassium levels in the colostrum of nursing mothers with and without hypertension in Brazil. *Cadernos de saude publica*, 23(9), 2205-2214. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2007000900028>.

Soares, F. V. M., Abranches, A. D., Méio, M. D. B. B., Junior, S. C. G., Villela, L. D., & Moreira, M. E. L. (2019). Differences in energy expenditure in human donor milk versus formula milk in preterm newborns: A crossover study. *Nutrition*, 66, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.04.002>.

Souza, A. I. D. (2004). Nutrição em obstetrícia e pediatria. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 4(2), 203-204. <https://doi.org/10.1590/S1519-38292004000200011>.

TEAM, RStudio et al. RStudio: integrated development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. V. 42, 14, 2015. Recuperado de <http://www.rstudio.com>.

US Department of Agriculture. Agricultural Research Service. (2001). *USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 14: Nutrient Data Laboratory Home Page*. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service.

Wack, R. P., Lien, E. L., Taft, D., & Roscelli, J. D. (1997). Electrolyte composition of human breast milk beyond the early postpartum period. *Nutrition*, 13(9), 774-777. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(97\)00187-1](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(97)00187-1).

Wang, L., Li, X., Liu, L., da Zhang, H., Zhang, Y., Chang, Y. H., & Zhu, Q. P. (2020). Comparative lipidomics analysis of human, bovine and caprine milk by UHPLC-Q-TOF-MS. *Food chemistry*, 310, 125865. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125865>.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito:

Adriela Albino Rydlewski – 20%

Luciana Pelissari Manin – 15%

Christyna Beatriz Genovez Tavares – 15%

Meliana Gisleine Paula – 15%

Eloize Silva Alves – 15%

Jesuí Vergílio Visentainer – 20%