



Efeito do processamento do leite humano sobre os níveis de retinol

The effect of processing on the Vitamin A content of human milk

Karla D. S. Ribeiro¹, Illana L. P. Melo², Ana Z. O. Pristo³, Roberto Dimenstein⁴

Resumo

Objetivos: Analisar o efeito do processamento sobre os níveis de retinol no leite humano ordenhado, bem como avaliar se o mesmo supre o requerimento nutricional de vitamina A do lactente.

Métodos: Foram coletadas 60 amostras de leite humano ordenhado no Banco de Leite Humano da Maternidade Escola Januário Cicco e divididas em duas alíquotas de 5 ml cada, sendo uma não processada termicamente, enquanto a outra foi submetida à pasteurização. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a análise estatística, foi utilizado o teste *t* de Student, sendo a diferença entre as médias considerada significativa quando $p < 0,05$.

Resultados: A concentração de retinol encontrado no leite antes da pasteurização foi de $55,4 \pm 34,0$ $\mu\text{g}/100$ ml, enquanto que a presente no leite processado foi de $36,6 \pm 26,1$ $\mu\text{g}/100$ ml ($p < 0,001$). Considerando um consumo de 500 ml de leite por dia, observou-se que o leite anterior à pasteurização ofereceu 69,3% das necessidades diárias recomendadas, e o leite processado, 45,8%.

Conclusão: Os níveis de retinol são mais baixos no leite processado termicamente e, nessa concentração, não atingem o requerimento de vitamina A do lactente.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(1):61-4: Retinol, leite humano, bancos de leite.

Abstract

Objectives: To analyze the effect of processing on the Vitamin A levels of milk that is donated to the Human Milk Bank at the University Maternity Hospital, and to evaluate whether this milk supplies the infants' Vitamin A requirement.

Methods: Sixty milk samples from the Human Milk Bank were divided into two equal portions. One milk portion was extracted prior to processing, while another fraction was subjected to pasteurization and later extracted. The samples were analyzed using high performance liquid chromatography. Analysis with Student's *t* test indicated that the difference between mean retinol levels was statistically significant at the $p < 0.05$ level.

Results: The retinol content found in the milk prior to processing was 55.4 ± 34.0 $\mu\text{g}/100$ ml, whereas for the processed milk this level was 36.6 ± 26.1 $\mu\text{g}/100$ ml ($p < 0.001$).

Conclusion: It was found that retinol loss occurs during milk processing and that the milk from the Human Milk Bank does not meet infants' Vitamin A requirement.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(1):61-4: Vitamin A, breast milk, human milk bank.

1. Aluna de graduação do curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), bolsista PIBIC/CNPq.
2. Aluna de graduação do curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), voluntária vinculada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PPPg/UFRN).
3. Enfermeira coordenadora do Banco de Leite Humano da Maternidade Escola Januário Cicco, Natal, RN.
4. Doutor em Bioquímica da Nutrição pela UFRJ. Professor adjunto IV do Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, RN.

Artigo submetido em 04.08.04, aceito em 17.11.04.

Como citar este artigo: Ribeiro KD, Melo IL, Pristo AZ, Dimenstein R. Efeito do processamento do leite humano sobre os níveis de retinol. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81:61-4.

Introdução

A vitamina A é um micronutriente essencial para a saúde e está envolvida em processos fisiológicos como o crescimento, o desenvolvimento fetal e a integridade do sistema imunológico¹. O leite humano é a única fonte de vitamina A para o lactente alimentado exclusivamente ao seio, e a capacidade da criança de adquirir seu requerimento depende da concentração e do volume consumido².

O leite materno proveniente do banco de leite humano (BLH) torna-se uma excelente alternativa nutricional para crianças prematuras, de baixo peso, vítimas de doenças infecciosas, diarreia e imunodeprimidas³, quando o leite de suas mães não é disponível. O BLH coleta,

processa e armazena o leite de mulheres saudáveis, além de promover o aleitamento materno, constituindo-se em importante estratégia de política governamental em prol da alimentação saudável⁴. O leite coletado é submetido ao processamento nas seguintes etapas: descongelamento, reenvase, pasteurização a 62,5 °C por 30 minutos, resfriamento, coleta de amostra para controle de qualidade microbiológica e estocagem em freezer a -20 °C por até 6 meses⁵.

O processamento pode influenciar a composição nutricional do leite, uma vez que existem nutrientes que são sensíveis à ação da temperatura, oxigênio e raios ultravioletas⁶. Dutra-de-Oliveira & Marchini⁷ relataram que a vitamina A é relativamente estável ao calor, mas passível à ação do oxigênio e, principalmente, da luz, pela ação dos raios ultravioletas.

São raras as pesquisas sobre o efeito do processamento sobre os nutrientes do leite ordenhado e armazenado em BLH. Apenas um estudo refere concentrações consideradas inadequadas (< 1,1mol/l)⁸. É importante investigar se o mesmo episódio ocorre em outros BLH e em que intensidade. Além disso, é imperativo verificar a cobertura nutricional de vitamina A do leite oferecido aos lactentes, principalmente aqueles especiais, que se alimentam exclusivamente com o leite do BLH, como os prematuros. Essas crianças possuem requerimento nutricional de retinol maior que em qualquer outro estágio⁹. Isso ocorre devido ao intenso catabolismo nas primeiras semanas após o nascimento¹⁰, juntamente com o baixo estoque de retinol no fígado ao nascer, as baixas concentrações de retinol plasmático e as baixas concentrações de proteínas carreadoras de retinol em relação aos recém-nascidos a termo¹¹. Assim, este estudo pretende trazer informações que possam ser úteis para os BLH, que têm o máximo interesse em garantir a qualidade nutricional do leite durante a pasteurização e o congelamento em BLH.

Metodologia

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Foram coletados 10 ml de 60 amostras de leite, de diferentes estágios de lactação, dos frascos doados ao BLH da Maternidade-Escola. As amostras foram fracionadas em duas alíquotas de 5 ml. Ambas alíquotas foram extraídas segundo Giuliano *et al.*¹², mas uma delas foi previamente submetida à pasteurização (62,5 °C por 30 minutos), segundo os procedimentos utilizados no BLH da Maternidade-Escola Januário Cicco. As amostras de leite foram descongeladas em forno microondas, e, depois de decorrido o tempo preestabelecido (15 minutos), os frascos foram imersos em recipiente plástico com gelo por mais 15 minutos. O processamento ocorreu no Laboratório de Bioquímica da Nutrição da UFRN.

O extrato hexânico foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria, a 37 °C. Os resíduos foram ressuspendidos em 1,0 ml de metanol (Merck) em grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

e agitados por 1 minuto. O teor de retinol das amostras foi determinado por CLAE em cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu, com uma coluna LC Shim-pack CLC-ODS (M) de 4,6 mm x 25 cm. O cromatograma evoluiu nas seguintes condições: fase móvel metanol 100% e fluxo 1,0 ml/min. A identificação e a quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com os tempos de retenção e as áreas dos respectivos padrões de *all-trans retinol* - SIGMA. As concentrações dos padrões foram confirmadas pelo coeficiente de extinção específico (ϵ 1%, 1 cm = 1.850) em etanol absoluto (Vetec) e comprimento de onda de 325 nm¹³.

Os valores de retinol foram expressos em média e desvio padrão, e, para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos, foi utilizado o teste *t* de Student em amostras pareadas. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

A recomendação diária de retinol para o lactente nos primeiros 6 meses de vida foi baseada na *Dietary Reference Intake*¹⁴, que refere 400 µgROH; para crianças prematuras, utilizou-se a recomendação proposta por Segre *et al.*⁹, que corresponde a 420 µgROH. Para quantificar o retinol consumido pelo lactente alimentado com o leite do BLH, adotou-se ingestão equivalente a 500 ml de leite por dia, volume correspondente às primeiras semanas de vida¹⁵.

Resultados

A concentração de retinol encontrada no leite antes da pasteurização foi de 55,4±34,0 µg/100 ml, enquanto que a presente no leite processado foi de 36,6±26,1 µg/100 ml, correspondendo a uma redução equivalente a 34%. A diferença entre as médias foi estatisticamente diferente ($p < 0,001$). Quando avaliada a cobertura nutricional do leite, tanto o leite anterior à pasteurização quanto o processado ofereceram apenas 69,3 e 45,8%, respectivamente, da recomendação diária de retinol para o lactente a termo. Com relação ao lactente pré-termo, o leite processado ofereceu apenas 43,6% das necessidades nutricionais (Tabela 1).

Discussão

O conteúdo nutricional do leite do BLH depende de dois fatores: composição do leite doado e efeito do processamento. Sua composição é relativamente constante, embora alguns nutrientes variem de maneira significativa ao longo da lactação, durante o dia e até mesmo ao longo de uma mesma mamada¹⁶. A vitamina A é um exemplo desses nutrientes, sofrendo influência do momento da mamada¹⁷ e do estágio de lactação¹⁸.

O descongelamento, a pasteurização e o congelamento são procedimentos que podem afetar diversos nutrientes presentes no leite humano¹⁹. No presente estudo, o conteúdo de retinol do leite processado diminuiu em relação à alíquota antes da pasteurização, conforme observado por Góes *et al.*⁸. Além disso, o nível de retinol do leite proces-

Tabela 1 - Ingestão média de retinol pelo lactente nas primeiras semanas de vida, utilizando o leite materno antes e após o processamento no banco de leite humano

Tipo de leite	ROH ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Ingestão média* ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	% de adequação	
			A termo	Pré-termo
Antes da pasteurização	55,4 \pm 34,0	277	69,3	66
Após a pasteurização	36,6 \pm 26,1	183	45,8	43,6

ROH = retinol.

Necessidade do lactente a termo: 400 $\mu\text{g}/\text{dia}$ ¹⁴; e do lactente pré-termo: 420 $\mu\text{g}/\text{dia}$ ⁹.* Considerando um consumo de 500 ml de leite/dia¹⁵.

sado (36,6 \pm 26,1 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) também foi semelhante aos 31,46 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ encontrados no leite do BLH, do Instituto Fernandes Figueira (RJ)⁸.

A perda de retinol durante o processamento provavelmente é resultante da exposição dos frascos à luz durante o descongelamento e reenvase, já que a vitamina A é fotossensível e a técnica de processamento ocorre em ambiente bastante iluminado. Além disso, o retinol presente no leite pode sofrer influência das microondas do forno durante o descongelamento²⁰. Esses resultados sugerem que seria importante proteger da luz o leite estocado em frascos de vidro, adotando medidas preventivas, como a simples embalagem dos frascos com papel alumínio. Outra medida profilática seria a suplementação de vitamina A, para garantir ao lactente o aporte necessário, evitando o aumento do risco de morbidade e mortalidade.

Muito do interesse na vitamina A em relação ao recém-nascido prematuro está no seu papel em ajudar a manter a integridade das membranas epiteliais, especialmente no pulmão, e sua deficiência está associada ao aumento do risco de desenvolver a doença crônica pulmonar^{21,22}.

A concentração de retinol no leite tanto antes quanto após a pasteurização, segundo os resultados do presente estudo, não são suficientes para atender o requerimento de crianças que se alimentam exclusivamente do leite do BLH, em especial as prematuras, cujos requerimentos de vitamina A são maiores e cuja capacidade de ingerir leite é menor que a dos recém-nascidos a termo. Para que essas crianças pudessem garantir a formação de reservas hepáticas e a proteção contra a deficiência, seriam necessárias concentrações de retinol no leite superiores a 80 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (Tabela 1).

As baixas concentrações de retinol encontradas neste estudo provavelmente se devem à predominância de leite maduro na amostra analisada, leite com menor concentração de vitamina A quando comparado ao colostro, secreção da primeira semana pós-parto. Um aspecto relevante desta pesquisa seria a sugestão de classificação do leite quanto ao estágio de lactação quando ele é fornecido para consumo,

uma vez que o nível de vitamina A do leite decresce no decorrer da lactação¹⁸. Considerando-se a concentração de retinol no colostro de mulheres lactantes de baixa renda da cidade de Natal (RN), equivalente a 93,10 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ²³, e baseando-se nos resultados do presente estudo, seria interessante que o colostro e o leite de transição fossem doados aos recém-nascidos apenas na primeira semana de vida, já que o leite obtido nos estágios iniciais de lactação ofereceria maior quantidade de vitamina A do que o leite maduro. Essa medida iria garantir leite com adequado aporte de vitamina A, condizente com o período de vida do lactente.

Os resultados deste estudo alertam sobre a necessidade de reavaliar procedimentos utilizados no BLH, os quais poderiam auxiliar na manutenção da qualidade nutricional do leite oferecido ao lactente.

Agradecimento

Ao Banco de Leite Humano da Maternidade Escola Januário Cicco, UFRN, Natal, RN.

Referências

1. Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ.* 1995;73:703-11.
2. World Health Organization. Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Geneva: WHO; 2002. p. 22-6.
3. Almeida JA, Novak FR, Almeida CH, Chave RM, Araujo FM, Garrido JR. Recomendações técnicas para o funcionamento de bancos de leite humano. 2ª ed. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde/Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição/Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno/Fundação Oswaldo Cruz/Instituto Fernandes Figueira; 1993.
4. Giugliani ER. Rede nacional de bancos de leite humano do Brasil: tecnologia para exportar. *J. Pediatr (Rio J).* 2002;78:183-4.
5. Ministério da Saúde. Normas gerais para bancos de leite humano. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 1993.
6. Penteado MD. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri (SP): Manole; 2003.

7. Dutra-de-Oliveira JE, Machini JS. *Ciências Nutricionais*. São Paulo: Sarvier; 1998.
8. Góes HC, Torres AG, Donangelo CM, Trugo NM. Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. *Nutrition*. 2002;18:590-4.
9. Segre CA, Armellini PA, Marino WT. RN. São Paulo: Sarvier; 1995.
10. Ruffier CP, Ruffier JG, Pagani JR, Barreto AP, Braz MG. Neonatologia. In: Waitzberg DL. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 1051-86.
11. Vinagre RD, Diniz EM. O leite humano e sua importância na nutrição do recém-nascido prematuro. São Paulo: Atheneu; 2002.
12. Giuliano AR, Neilson EM, Yap H, Baier M, Canfield LM. Quantification of and inter/intra-individual variability in major carotenoids of mature human milk. *J Nutr Biochem*. 1994;5: 551-6.
13. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr*. 1992;56: 417-26.
14. Institute of Medicine. *Dietary Reference Intake for vitamin A, vitamin K, Arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc*. 1st ed. Washington (DC): National Academy Press; 2001.
15. Ross JS, Harvey PW. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull World Health Organ*. 2003;81:80-6.
16. Neville MC, Morton J, Umemura S. Lactogenesis. The transition from pregnancy to lactation. *Pediatr Clin North Am*. 2001;48: 35-52.
17. Ribeiro KD, Dimenstein R. Níveis de retinol no leite materno ao início e final da mamada. *Rev Pan Am Salud Publ*. 2004;16:19-22.
18. Macias C, Schuweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab*. 2001;45:82-5.
19. Jensen RG. Miscellaneous factors affecting composition and volume of human and bovine milks. In: Jensen RG, editor. *Handbook of milk composition*. San Diego: Academic Press; 1995. p. 237.
20. Sieber R, Eberhard P, Fuchs D, Gallmann PU, Strahm W. Effect of microwave heating on vitamins A, E, B1, B2 and B6 in milk. *J Dairy Res*. 1996;63:169-72.
21. Glasziou PP, Mackerras DE. Vitaminas na gravidez e na primeira infância. *Anais Nestlé*. 1996;53:37-47.
22. Darlow BA, Graham PJ. Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in very low birthweight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;2:CD000501.
23. Dimenstein R, Simplício JL, Ribeiro KD, Melo IL. Influência de variáveis socioeconômicas e de saúde materno-infantil sobre os níveis de retinol no colostro humano. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79:513-8.

Correspondência:
 Roberto Dimenstein
 Av. Praia de Genipabu, 2100/1402
 CEP 59094-010 – Natal, RN
 Fone: (84) 219.4340