

Influência da lecitina sobre os níveis de retinol do leite materno

Influence of lecithin on retinol concentration in human milk

RIALA6/1069

Fernanda B. SOARES¹, Karla Danielly da S. RIBEIRO², Roberto DIMENSTEIN^{3*}

* Endereço para correspondência: Avenida Praia de Genipabu 2100, apto. 1402, Noronha, Ponta Negra, CEP 59094-010, Natal, RN, Brasil. Telefone: 0xx84-3219-3559; e-mail: rdimen@uol.com.br.

¹ Curso de Nutrição da Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil. Bolsista PIBIC/CNPq. E-mail: fernandasoaresnutri@yahoo.com.br

² Curso de Mestrado em Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, Natal (RN), Brasil. E-mail: karladaniellysr@yahoo.com.br

³ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), Brasil. E-mail: robertod@ufnet.br

Recebido: 23/03/2006 – Aceito para publicação: 31/07/2006

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da adição de lecitina sobre a concentração e conseqüente disponibilidade de retinol do leite humano processado. Para tanto, coletaram-se 400mL de leite materno do banco de leite humano da Maternidade Escola Januário Cicco, Brasil. Foram retiradas 10 alíquotas de 1 mL (leite sem lecitina), e em seguida foram adicionados 2g de lecitina. Posteriormente, mais 10 alíquotas foram removidas (leite com lecitina). O leite, após saponificação, foi extraído com hexano e a determinação do retinol foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Para análise estatística utilizou-se o teste *t* de *Student*. As concentrações médias de retinol nas amostras de leite sem e com lecitina foram respectivamente de $28,0 \pm 5,1 \mu\text{g}/100\text{mL}$ e $35,3 \pm 5,0 \mu\text{g}/100\text{mL}$, sendo estatisticamente diferentes ($p < 0,001$). Os resultados sugerem que a adição de lecitina ao leite proporciona uma maior oferta de vitamina A. Assim, esta informação é válida para os bancos de leite, pois garantiria o fornecimento de um leite com maior valor nutricional, e para estudos que utilizam o leite como indicador do estado nutricional de lipídios ou vitaminas lipossolúveis.

Palavras-Chave. lecitina, vitamina A, leite materno

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of lecithin addition on retinol concentration, and its consequent availability in processed human milk. For this purpose, 400mL of human milk were collected at the Januário Cicco Maternity Hospital. Ten samples of 1 mL of human milk (milk without lecithin) were separated, and 2g of lecithin were added into each aliquot. After saponification, the milk was extracted with hexane, and retinol amount was determined by means of High Performance Liquid Chromatography. Statistical analysis was conducted using Student's t-Test. The average concentrations of retinol in milk samples without and with lecithin were $28.0 \pm 5.1 \mu\text{g}/100\text{mL}$ and $35.3 \pm 5.0 \mu\text{g}/100\text{mL}$, respectively, being the difference statistically significant ($p < 0.001$). The observed findings suggest that the addition of lecithin into milk results in high vitamin A provision. Therefore, reporting these data is of great value as for the Milk Banks, as it would guarantee the provision of human milk with high nutritional value, and for other studies that make use of milk as an indicator for monitoring nutritional state of lipids or liposoluble vitamins.

Key Words. lecithin, vitamin A, human milk

INTRODUÇÃO

O leite humano é a única fonte de vitamina A para o lactente totalmente alimentado ao seio e a capacidade da criança adquirir seu requerimento depende da concentração e do volume consumido¹. Além disso, é fornecedor de energia e nutrientes em quantidades apropriadas para uma boa nutrição nos primeiros seis meses de vida².

Algumas crianças que por algum motivo não puderam ser amamentadas pelas suas mães, como as de nascimento prematuro, de baixo peso e com doenças infecciosas, utilizam o leite proveniente do Banco de Leite Humano (BLH) para garantir o aporte de nutrientes.

Entretanto, durante o procedimento de coleta e posterior processamento (congelamento, pasteurização e re-congelamento) podem ocorrer perdas que comprometem o valor nutricional do leite, já que alguns nutrientes são passíveis de sofrer modificações na presença de calor, oxigênio e luz. Como exemplo, o retinol que é uma vitamina fotossensível³.

Ribeiro et al.⁴ sugerem a utilização de frascos opacos para coleta de leite materno como medida para minimizar as perdas do retinol durante o processamento do leite obtido em BLH. Porém, essa medida não previne a redução no conteúdo de retinol, já que este está presente nos glóbulos de gordura, que por sua vez aderem-se aos recipientes de coleta e armazenamento do leite materno, podendo levar à diminuição da disponibilidade da vitamina A em solução⁵.

Para tornar os glóbulos de gordura estáveis em suspensão, seria necessária a adição de um agente emulsificante. Um dos agentes bastante utilizado na indústria de alimentos é a lecitina (fosfatidilcolina), que tem por objetivos favorecer e assegurar as características físicas das emulsões e das suspensões, sendo bastante utilizada em fórmulas infantis⁶. Além disso, ela é fonte de colina, um nutriente importante no desenvolvimento cerebral e mental do feto e da criança^{7,8}.

Não existe até o momento um estudo que avalie os benefícios da adição de um agente emulsificador ao leite materno sobre a concentração de nutrientes lipossolúveis e consequentemente sobre sua disponibilidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de lecitina sobre o nível de retinol do leite processado em BLH.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido entre os meses de dezembro/2005 e janeiro/2006. O leite materno foi obtido do Banco de Leite Humano (BLH) da Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC), Natal/RN, Brasil.

Um pool (400mL) de leite materno foi agitado, em agitador magnético, e foram retiradas dez alíquotas de 1mL de leite (amostras sem lecitina). Posteriormente, foi acrescido ao pool de leite 2g de lecitina em pó do tipo CentroxTMF, segundo recomendações do fabricante *The Solae Company* (0,5g/

100mL). A lecitina foi submetida à análise para presença de retinol, sendo comprovada a ausência de qualquer traço desta vitamina. O leite foi mantido sob agitação para obter-se a dissolução da lecitina. Foram coletadas mais 10 amostras, cada qual contendo 1 mL de leite (amostras com lecitina).

Todas as alíquotas foram extraídas segundo Giuliano et al.⁹, como descrito a seguir: em 1000µL de leite foram adicionados 2000µL de etanol absoluto e 1000µL de hidróxido de potássio (50%). A mistura foi submetida à agitação e levada ao Banho-Maria, na temperatura de 45°C durante duas horas. Em seguida, foram adicionados 2000µL de hexano e após agitação, o tubo foi centrifugado por dez minutos a 4.000 rpm. A camada hexânica foi removida e a operação repetida mais duas vezes, sendo as fases hexânicas reunidas em outro recipiente. O extrato hexânico foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37°C e posteriormente ressuspenso em 1,0 ml de metanol (Merck) em grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A concentração de retinol das amostras foi determinada 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. Foram injetados 20µL da amostra e 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 (Figura 1). As concentrações dos padrões foram confirmadas pelo coeficiente de extinção específico ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1.850$) em etanol absoluto (Vetec) e comprimento de onda de 325nm¹⁰. Os valores de retinol foram expressos pela média e desvio padrão dos resultados obtidos.

A exatidão do método foi avaliada através do teste de recuperação da extração, obtendo-se 95% de recuperação do retinol acetato (padrão interno) adicionado às amostras. A precisão foi avaliada pelo teste de reprodutibilidade, em que triplicatas de uma mesma amostra de leite foram aferidas para retinol durante 3 dias seguidos. Os valores encontrados apresentaram variação inferior a 1 desvio padrão. Os limites de detecção e quantificação foram baseados na linearidade da curva do padrão, obtendo-se valores de 0,05 µg/mL e 0,1 µg/mL, respectivamente.

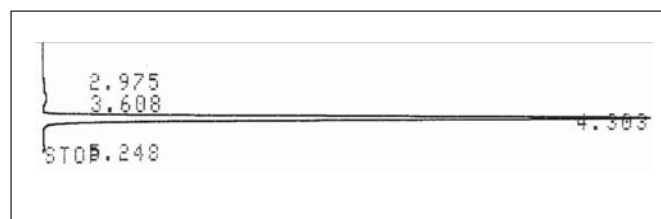


Figura 1. Cromatograma do padrão de all-trans retinol, 24ng/20µL e tempo de retenção 4,3 minutos.

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 $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os valores de retinol das amostras com e sem lecitina encontram-se na Tabela 1. Os resultados obtidos mostraram que a diferença entre as médias foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$).

DISCUSSÃO

Assim como encontrado por Ribeiro et al.⁴, neste estudo verificou-se uma baixa concentração de retinol, provavelmente à predominância de leite maduro na amostra analisada, leite com menor concentração de vitamina A quando comparado ao colostro, secreção da primeira semana pós-parto¹¹.

Após o descongelamento do leite, existe uma tendência da gordura aglomerar-se e até mesmo se fixar à parede do frasco ocasionando perda no valor nutricional, durante o reenvase do leite ou separação de alíquotas¹².

O leite acrescido de lecitina apresentou uma concentração de retinol 28% maior quando comparado à amostra sem lecitina, demonstrando que a utilização do surfactante contribuiu para a manutenção dos glóbulos de gordura em uma emulsão estável. A ausência de um fator emulsificante em amostras de leite que foram armazenadas sob refrigeração ou congelamento pode resultar em grande variabilidade, afetando análises bioquímicas que tenham como objetivo quantificar lipídeos ou vitaminas lipossolúveis.

A concentração de retinol encontrada no leite com lecitina está de acordo com os dados da literatura^{11,13} e acima do ponto de corte estabelecido para normalidade, $30\mu\text{g}/100\text{mL}$ ¹⁴. Analisando o leite sem lecitina, a média de retinol encontrada parece estar abaixo da normalidade, o que poderia caracterizar a população estudada como de risco para o desenvolvimento da hipovitaminose A, caso o retinol presente no leite fosse considerado um indicativo do estado nutricional de vitamina A.

Assim, a utilização de um surfactante natural, como a lecitina, auxiliaria na estabilidade da emulsão, reduzindo as

Tabela 1. Distribuição das amostras segundo a concentração de retinol no leite com lecitina e sem lecitina.

Leite humano	Média e Desvio - padrão
Amostras com Lecitina	$*35,3 \pm 5,0 \mu\text{g}/100\text{mL}$
Amostras sem Lecitina	$28,0 \pm 5,1\mu\text{g}/100\text{mL}$

* Médias significativamente diferentes $p < 0,001$

perdas decorrentes do processamento, permitindo a uniformização dos valores encontrados na determinação da concentração de retinol no leite. Além do mais, a lecitina é uma excelente fonte de colina⁴ e ao ser adicionada ao leite conferiria vantagens para o desenvolvimento do bebê.

A padronização do uso de um emulsificante natural em amostras de leite materno armazenadas em BLH, bem como em metodologias que visam quantificar lipídeos ou vitaminas lipossolúveis, seria de extrema importância, principalmente quando se pretende utilizar o leite materno como indicador de estado nutricional em vitamina A.

Portanto, existe influência da lecitina adicionada ao leite materno, proporcionando um maior aproveitamento do retinol em amostras de leite, como aquelas armazenadas em BLH.

AGRADECIMENTOS

À Maternidade Escola Januário Cicco e à *The Solae Company*, Solae do Brasil Ind. e Com. de Alimentos Ltda.

REFERÊNCIAS

1. 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.
2. Mahan LK, Escott-Stump S. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Roca; 1998. p.72-82
3. 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.
4. Ribeiro KD, Melo IL, Pristo AZ, Dimenstein R. Efeito do processamento do leite humano sobre os níveis de retinol. *J Pediatr*. 2005; 81:61-4.
5. Neville MC, Keller RP, Casey C, Allen JC. Calcium partitioning in human and bovine milk. *J Dairy Sci*. 1994; 77:1964-75.
6. Evangelista J. Tecnologia dos alimentos. 2ª ed. São Paulo (SP): Atheneu; 1992. p.462-3.
7. Miller DL. Health benefits of lecithin and choline. *Cereal Foods World* 2002; 47:178-84.
8. The Solae Company. [Internet site]. Ingress Communications. Available: <http://www.solae.com.br/benefitsofsoy/soylecithin.html>. Acesso em: 10 fevereiro 2006.
9. Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield LM. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzimol* 1992; 213:391-99.
10. Nierenberg RD, Namm SL. A method for determining concentrations for retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992; 56:417-26.
11. Macias C, Schweigert 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(2):82-5.
12. Góes HC, Alexandre GT, Carmem MD, Nadia MF. Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. *Nutrition*. 2002; 18:590-4.
13. Basu S, Sengupta B, Paladhi PKR. Single megadose vitamin A supplementation of Indian mothers and morbidity in breastfed young infants. *Postgrad Med J*. 2003; 79:397-402.
14. World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: WHO; 1996. [Internet site]. Ingress Communications. Available: http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/WHO_NUT_96.10.pdf. 15 fevereiro 2005.