



## ANÁLISE QUÍMICA DO LEITE MATERNO DE MÃES DEPENDENTES QUÍMICA

*Mayara Marques Mota<sup>1</sup>; Cintia Farinazo<sup>2</sup>; Jose Eduardo Gonçalves<sup>3</sup>; Rogério Aparecido Minini dos Santos<sup>4</sup>*

**RESUMO:** O leite materno é considerado o alimento ideal para o recém-nascido, sendo assim suficiente para suprir todas as suas necessidades nutricionais durante os primeiros seis meses de vida, permitindo que ele permaneça em aleitamento materno exclusivo durante esse importante período de sua vida. Traz benefícios a todos os recém-nascidos, os quais incluem aspectos higiênicos, imunológicos, psico-sociais e cognitivos, bem como aqueles relativos à prevenção de doenças futuras. Possui uma composição nutricional balanceada, constituída basicamente de proteínas, açúcares, minerais e vitaminas, com gordura em suspensão, os quais suprem as necessidades nutricionais e imunológicas para um crescimento e desenvolvimento ótimos. Este estudo discute questões determinantes para o crescimento e desenvolvimento do recém-nascido (RN), já que o leite materno é a componente chave de toda a estratégia para a nutrição enteral de todas as crianças. Com isso, o conhecimento do seu perfil proteico, lipídico, de carboidratos e de minerais é de suma importância, já que estes preenchem todas as necessidades das crianças, principalmente nos seus primeiros meses de vida, sendo, portanto, imprescindíveis para promover um crescimento e desenvolvimento ótimo no RN. Com a análise detalhada do leite materno, poderemos extrair informações a respeito de sua composição, quanto ao teor de proteínas totais, açúcares totais e minerais e verificar se o mesmo sofre variações ao longo do dia, e com o passar dos meses. O trabalho pretende confrontar dados relacionado a composição química do leite materno de mães dependentes químicas com mães não dependentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Composição Nutricional Balanceada; Composição Química; Leite Materno

### 1 INTRODUÇÃO

A lactação é um processo complementar à gestação, com grande impacto na saúde do lactente (ACCIOLY; SAUNDERS; LACERDA; 2003). Durante a gravidez, as glândulas mamárias se preparam para a lactação através de uma série de passos de desenvolvimento (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

O leite materno possui uma composição nutricional balanceada, constituída basicamente de proteínas, açúcares, minerais e vitaminas, com gordura em suspensão, os quais suprem as necessidades nutricionais e imunológicas para um crescimento e desenvolvimento ótimos (ACCIOLY et. al, 2003). Dessa forma, é considerado o alimento

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). mayaramarquesm\_@hotmail.com

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. cintia\_farinazo@hotmail.com

<sup>3</sup> Orientador, Professor Doutor do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. jgoncal@cesumar.br

<sup>4</sup> Co-orientador, Professor Mestre do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. rogeriominini@gmail.com

ideal para o recém-nascido, sendo assim suficiente para suprir todas as suas necessidades nutricionais durante os primeiros seis meses de vida, permitindo que ele permaneça em aleitamento materno exclusivo durante esse importante período de sua vida (CALIL; FALCÃO, 2003).

Fatores como as variações na composição, a importância nutricional e funcional do leite materno, trazem um grande interesse para seu estudo e análise (VELOSO; TEIXEIRA; FERREIRA; FERREIRA, 2001). Por essa razão, o presente trabalho tem por objetivo determinar proteínas e açúcares totais, gorduras e minerais presentes no leite materno para os primeiros seis meses de lactação de mães dependentes química, através de métodos químicos específicos para cada constituinte.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O leite humano será oriundo de duas mães usuárias de crack, que foram atendidas no Hospital Universitário de Maringá-PR, o mesmo foi cedido pelo banco de leite do Hospital. As amostras já foram coletadas e estão armazenadas em freezer no laboratório de Química do bloco 6 da Unicesumar e devidamente etiquetadas.

Análises a serem realizadas:

**Acidez Dornic:** Será coletado em tubo de ensaio 5 ml da amostra de Leite Humano (LH) em campo de chama (1 ml de cada vez e coletar em diferentes campos da amostra), em seguida a amostra será mantida refrigerada (abaixo 5°C) em banho de gelo (água + gelo reciclável) até o momento da análise. Será retirada a amostra de 5ml do banho de gelo, agitará em vórtex, limpará a parte externa da pipeta com papel absorvente e despejará o volume de 1ml, em outro tubo. Esse processo será repetido mais duas vezes até obter 3 alíquotas de 1 ml. Serão mantidas as 3 alíquotas em banho de gelo e não se deverá agitá-las em vórtex. Será adicionado 1 gota de solução hidroalcolica de fenolftaleína, gotejando a solução sobre o leite, evitando que escorra pelas paredes do tubo de ensaio. A cor rosa claro indica o ponto final da titulação - Cada 0,01 ml gasto corresponde a 1°D. Proceder a média aritmética das 3 alíquotas. Um resultado final superior a 8 °Dornic deverão ser desprezados.

**Creमतócrito:** Será homogeneizado a amostra em vórtex, pipetado 1 ml de LH e transferido para um tubo de ensaio de 5ml. Será aquecida em Banho-Maria à 40°C por 15 minutos. Serão coletadas 03 (três) amostras de LH com o auxílio de microcapilares e será vedado uma das extremidades dos microcapilares com massa ou bico de Bunsen. Serão dispostos os microcapilares na centrífuga com as extremidades vedadas “para fora” e serão posicionados na centrífuga sempre aos pares, em diagonal. Será centrifugado por 15 minutos, observando a velocidade estipulada pelo fabricante do equipamento. Será procedida a leitura com régua milimétrica após a centrifugação: Coluna de creme e coluna de soro. Será aplicada a fórmula: Coluna de Creme (mm) x 100 sobre a Coluna Total (mm) =% de Creme; % Creme – 0,59 sobre 1,46=% de Gordura; % Creme x 66,8 +290=Kcal / litro.

**Análise de Proteínas Totais:** O método que será utilizado para a determinação da concentração protéica do leite materno é o de Bradford o qual utiliza o reagente Comassie-Blue. O preparo desse reagente será feito através da pesagem de 30 mg do corante Comassie-Blue brilhant em balança analítica. Em um béquer, será adicionado 15 mL de Etanol 95%, e 30 mL de Ácido Fosfórico 85% ao corante. Em seguida, será diluído com água destilada, e transferido para uma proveta completando o volume até 300 mL com água destilada. Será realizado 3 filtrações do reagente até conseguir chegar a uma absorbância de aproximadamente 0,2 em 595 nm. Após o preparo do reagente, será feito

o estabelecimento da curva-padrão. Para isso, será preparada uma solução padrão de ASB (Albumina de Soro Bovino), onde pesará 25 mg de ASB em balança analítica e diluirá com água destilada em um béquer, evitando que haja a formação de bolhas, será transferido para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água destilada. Para a leitura das amostras, será diluído 0,5 mL de cada amostra em 9,5 mL de água destilada, em tubos de ensaio devidamente identificados. Será transferido 1 mL do leite diluído para outro tubo de ensaio, também identificado, e será acrescentado 5 mL do Reagente Comassie-Blue brilhante, serão homogeneizados com o auxílio de agitador. Será transferido cada amostra para cubeta de plástico e medido a absorvância em espectrofotômetro, utilizando lâmpada de tungstênio, a um comprimento de onda de 595 nm contra o “branco” da cubeta 1. O procedimento será realizado em triplicata para cada amostra.

**Análise de Açúcar Total:** A análise de açúcar total será feita utilizando o Reagente de Fenol Sulfúrico. O método se constitui no preparo de uma solução Padrão de Glicose, onde será pesado, em balança analítica, 250 mg de Padrão de Glicose e transferido para um balão volumétrico de 100 mL utilizando água destilada como solvente, a solução será identificada como P1 = (2.500µg/mL). Em seguida, serão pipetados 25 mL do Padrão P1 para um balão volumétrico de 250 mL usando água destilada como solvente, e identificar como P2 = (250µg/mL). Terminado o preparo das diluições, será pipetado 1 mL, com micropipeta, de cada balão volumétrico e transferido para tubos de ensaio devidamente identificados. Será adicionado, rapidamente, 0,5 mL de fenol a 5% (v/v), e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Para que haja uma boa mistura, será direcionado o fluxo do ácido contra a superfície do líquido, em vez de contra a parede do tubo de ensaio. Será deixado os tubos de ensaio em repouso por 10 minutos, serão agitados e colocados em banho maria a 25°C por 10 minutos. As amostras serão lidas em espectrofotômetro 490 nm, contra o branco, que será preparado com 1 mL de água destilada, 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Após a leitura, com os resultados obtidos será construída a curva padrão de glicose. O mesmo procedimento será realizado para fazer a curva padrão de sacarose. Para análise das amostras, primeiramente, será diluído 0,5 mL de cada amostra de leite em 9,5 mL de água destilada em tubos de ensaio previamente identificados. Será pipetado 0,1 mL de cada tubo de ensaio e adicionado 1 mL de fenol a 5%, e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), rapidamente. Para que haja uma boa mistura, será direcionado o fluxo do ácido contra a superfície do líquido, em vez de contra a parede do tubo de ensaio. As soluções serão agitadas e deixadas em repouso por 10 minutos. Em seguida, serão levadas para o banho maria a 25°C, deixando por 10 minutos. A leitura será efetuada em espectrofotômetro, utilizando lâmpada de tungstênio, em 490 nm contra o “branco” da cubeta 1.

**Análise de Minerais:** Os minerais Ca<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> são analisados em fotômetro de chama, e para isso será necessária a preparação de soluções padrões contendo os respectivos íons. Para o preparo da solução padrão de K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>, serão pesados 0,119g de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) e 0,005g de nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), os quais serão previamente diluídos em um balão volumétrico de 100 mL utilizando água destilada. Em seguida, serão diluídas 0,5 mL das amostras em um balão volumétrico de 100 mL utilizando água destilada. Cada balão será identificado com o mês e período de amamentação. A leitura das amostras será efetuada no fotômetro de chama. Já para o preparo da solução padrão de Ca<sup>+2</sup>, serão pesados 0,236g de nitrato de cálcio (CaNO<sub>3</sub>), o qual será previamente diluído em um balão volumétrico de 100mL utilizando água destilada. As amostras serão diluídas com 2,0 mL de água destilada e em seguida será efetuada a leitura em fotômetro de chama.

### **Análise de Lactose-Determinação de glicídios redutores em lactose**

#### **Anais Eletrônico**

**Procedimento** – Serão transferidos, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 mL da amostra para um balão volumétrico de 100 mL, serão adicionados 50 mL de água, 2 mL da solução de sulfato de zinco a 30% e 2 mL da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Deixará sedimentar durante 5 minutos, completará o volume com água e agitará. Será filtrado em papel de filtro, recebendo o filtrado, que deverá estar límpido, em um frasco Erlenmeyer de 300 mL. Em um balão de fundo chato de 300 mL, serão transferidos 10 mL de cada uma das soluções de Fehling e serão adicionados 40 mL de água, aquecendo até a ebulição em chapa aquecedora. Será transferido o filtrado para uma bureta de 25 mL e adicionado, às gotas, sobre a solução do balão em ebulição, agitando sempre, utilizando garra de madeira, até que esta solução mude de coloração azul à incolor (no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho-tijolo).

**Acidez Total:** Será pesado de 1 a 5 g ou pipetado de 1 a 10 mL da amostra, transferido para um frasco Erlenmeyer de 125 mL com o auxílio de 50 mL de água. Serão adicionados de 2 a 4 gotas da solução fenolftaleína e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 M, até coloração rósea. *Nota:* no caso de amostras coloridas ou turvas, para a determinação do ponto de viragem, utilize método potenciométrico.

### 3 RESULTADOS ESPERADOS

Este projeto pretende avaliar e comparar os resultados obtidos da análise do leite materno de mães dependentes químicas com mães não dependentes, estabelecendo uma relação com o seu perfil químico, assim como, obter resultados confiáveis das análises e que possam trazer informações consistentes sobre a importância da qualidade do leite materno.

### REFERÊNCIAS

ACCIOLY, Elizabeth; SAUNDERS, Claudia; LACERDA, Elisa Maria de Aquino. *Nutrição em obstetrícia e pediatria*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2003.

CALIL, Valdenise Martins Laurindo Tuma; FALCÃO, Mario Cícero. *Composição do leite materno: o alimento ideais*. *Rev Med*, jan-dez. v.82 n.1-4, p. 1-10, 2003.

MAHAN, L. Kathleen; ESCOTT-STUMP, Sylvia. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998. Cap. 9. p. 181-212

VELOSO, Ana Cristina A.; TEIXEIRA, Natércia; FERREIRA, Isabel M.; FERREIRA, Margarida A. **Metodologias de doseamento das proteínas do leite**. *Boletim de Biotecnologia*. 2001.