



## ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM FÓRMULAS INFANTIS PARA LACTENTES

*Weliton Pedro Batiston<sup>1</sup>; Aline Kirie Gohara<sup>2</sup>; Aloísio Henrique Pereira de Souza<sup>2</sup>; Jesui Vergilio Visentainer<sup>3</sup>; Sandra Terezinha Marques Gomes<sup>3</sup>; Makoto Matsushita<sup>4</sup>*

**RESUMO:** Este trabalho investigou a qualidade lipídica de fórmulas infantis para lactentes, por meio da análise de componentes principais e tratamento estatístico da quantificação absoluta dos ácidos graxos. As amostras foram submetidas à extração de lipídios totais e à preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos. Estes foram separados em cromatógrafo à gás com detector de ionização de chama. A análise das PCs indicou que duas marcas possuem composições lipídicas semelhantes e a variação da quantidade de ácidos graxos por grama de lipídios totais para o ácido docahexaenóico (DHA) e araquidônico (AA) foi respectivamente: 0,00-2,18; 0,00-5,04 e os somatório dos compostos polinsaturados, ômega 6, ômega 3 e ácido linoléico conjugado, foi respectivamente: 162,86-180,39; 140,54-164,46; 13,55-20,02; 1,54-2,86. Somente uma amostra apresentou concentração adequada de DHA e AA conforme recomendação da Food and Agriculture Organization. As análises químicas indicam que o alimento mostra-se como nutracêutico e funcional, devido as concentrações adequadas de ômega 3, ômega-6 e isômeros de linoléico conjugado.

**PALAVRAS-CHAVES:** alimentos funcionais; cromatografia à gás; quimiometria.

### 1 INTRODUÇÃO

A composição lipídica na dieta do recém-nascido tem importante efeito funcional no desenvolvimento do cérebro e retina durante o período gestacional e primeiros anos de vida. Neste aspecto, os ácidos graxos (AG) mais importante da família ômega 3 (n-3) e ômega 6 (n-6), são os ácidos docahexaenóico (DHA, 22:6n-3) e ácido araquidônico (AA, 20:4n-6) respectivamente. Deficiência destes AG na alimentação pode causar disfunções do sistema nervoso central, incluindo a cognitiva e visual. Desta forma recomenda-se a amamentação com o leite materno pelo menos nos primeiros seis meses, devido às concentrações adequadas dos ácidos DHA, AA e outros. Contudo, quando não é possível amamentar inúmeras mães utilizam fórmulas infantis que se aproximam da característica do leite materno. Porém, a composição físico-química e concentrações de AG podem variar de um fabricante a outro. Desta forma, o objetivo do estudo foi verificar as semelhanças da composição de AG de quatro fórmulas infantis para lactentes, por meio do teste de Tukey e análise de componentes principais (PCA) de modo a contribuir com o desenvolvimento do produto e fornecer novas informações nutricionais para consumidores, nutricionistas e instituições formuladoras de políticas alimentares.

<sup>1</sup> Acadêmico de Pós-Graduação em Química Analítica e Inorgânica do Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos-SP. Bolsista de Mestrado do CNPq. welitonbatiston@hotmail.com

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá-PR. Bolsista Capes. aline.gohara@gmail.com, souzaahps@gmail.com

<sup>3</sup> Professores Doutores Dpto. Química da Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá-PR. jvvisentainer@uem.br, stmg@uem.br

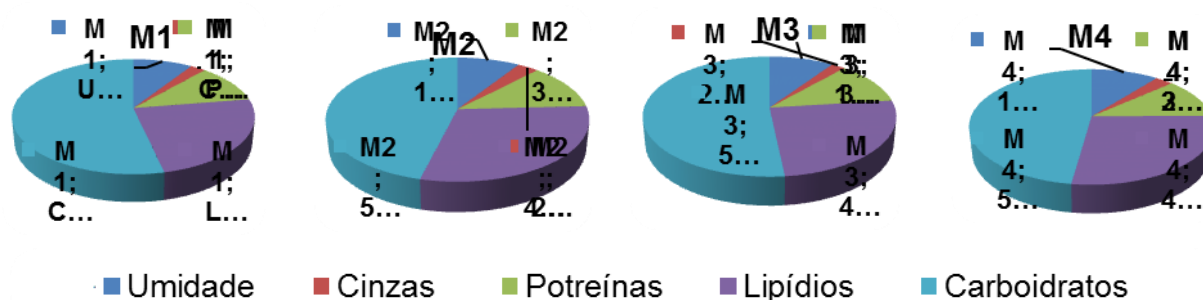
<sup>4</sup> Orientador, Professor Doutor do Dpto de Química da Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá-PR. mmakoto@uem.br

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Analisou-se 4 marcas de formulas infantis para lactentes e destas selecionaram-se três diferentes lotes de cada marca, denominadas M1, M2, M3 e M4 adquiridas no comércio de Maringá (PR). Pelo método da AOAC (Cunniff, 1998), foram determinados a umidade por aquecimento em estufa (105°C) e teor de cinzas por incineração em mufla (600°C). A proteína bruta foi analisada segundo o método semi-micro Kjeldahl, e os carboidratos por diferença de massa. Para a determinação de lipídios totais, as amostras foram preparadas conforme as instruções das embalagens dos produtos (26g de pó para 200mL de água) estas foram submetidas à extração conforme método Folch *et al.* A esterificação dos ácidos graxos foi realizada segundo método Hartman & Lago. Os ésteres metílicos foram separados em cromatógrafo a gás (Shimadzu 14A Japão), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP-Sil88, com 100m de comprimento. A identificação de ácidos graxos foi realizada através da comparação dos tempos de retenção relativo dos picos de amostras, com padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma), por co-eluição (spiking) de padrões junto com a amostra e a quantificação absoluta foi efetuada utilizando tricostanoato de metila como padrão interno. As injeções foram realizadas em triplicatas. Para as análises estatísticas os resultados foram expressos com média e desvio padrão de análises em triplicata, adotou-se como nível de significância  $p < 0,05$  e utilizou-se o software Statistica versão 6.0. Para análise de componentes principais realizou-se normalização e software Matlab versão 7.12.0.635.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos das análises físico-químicas. Os valores de umidade e proteína não possuem diferenças significativas entre as amostras com confiança de  $p < 0,05$ . Por meio da análise cromatográfica detectou-se 29 AG, de modo que os majoritários em todas as amostras foram os saturados láurico (12:0), palmítico (16:0) e os insaturados oléico (18:1n-9) e linoléico (18:2n-6), Tabela 1.



**Figura 1.** Composição centesimal de fórmulas infantis para lactentes. Valores em percentagem (%).

Observou-se a presença dos isômeros de linoléico conjugado (CLA), 18:2(c9,t11) e 18:2(t10,c12) em todas as marcas, dados coerentes conforme reportados por Rodríguez-Alcalá *et al.* Pesquisas indicam que os isômeros de CLA são efetivos contra o câncer, obesidade e diabetes. No entanto, os mecanismos bioquímicos ainda são questionados com estudos que mostram a possibilidade de alterações metabólicas e alguns efeitos adversos à saúde. Outro fator importante do trabalho foi a detecção dos ácidos graxos essenciais linoleico (18:2n-6) e alfa-linolênico (18:3n-3). Estes AG são necessários para

manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. A variação dos AG DHA e AA nas amostras foram respectivamente de 0,0-0,23% e 0,0-0,54%. A FAO (Food and Agriculture Organization) recomenda que as concentrações sejam entre 0,20% à 0,36% para DHA e 0,40% à 0,60% para AA. Nestes parâmetros somente a amostra M2 se enquadra. No entanto as concentrações de ácidos graxos *trans* foram inferiores a 0,14%. Valores inferiores a 14 vezes em relação aos leites em pó de vaca e cabra, conforme reportados por Batiston *et al.*

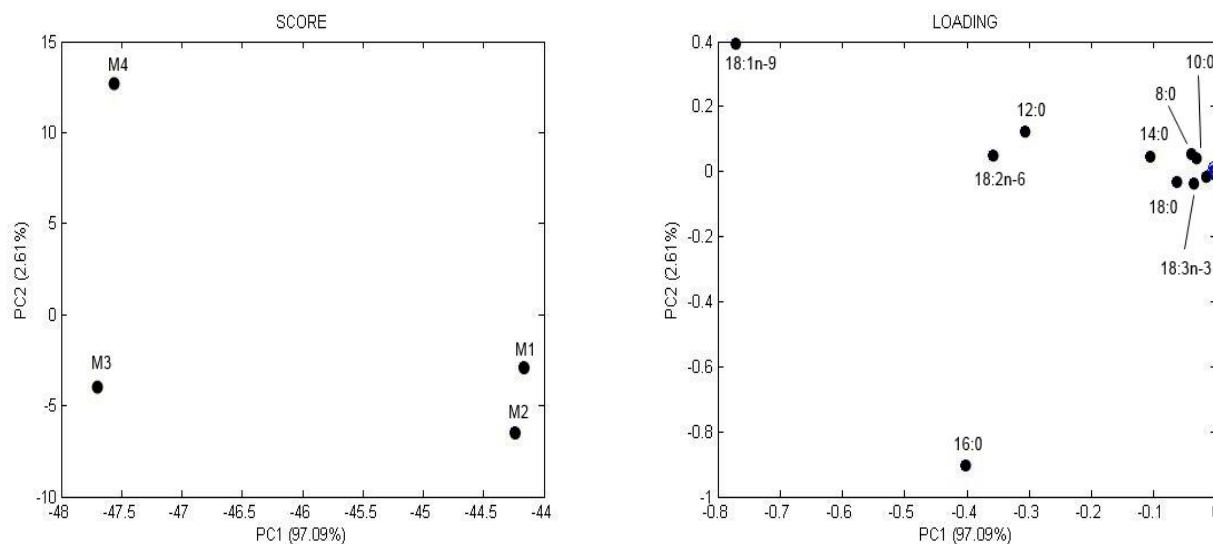
**Tabela 1.** Quantificação absoluta de ácidos graxos (mg por g de lipídios totais) em fórmulas infantis para lactentes.

Amostra AG	Média ±DP			
	M1	M2	M3	M4
4:0	0,35b ±0,03	0,30a ±0,03	0,30a ±0,01	0,28a ±0,02
6:0	2,02c ± 0,07	1,33b ±0,05	0,86a ±0,04	2,21d ±0,17
8:0	24,85c ±1,61	16,01b ±0,40	9,13a ±0,26	27,43d ±0,89
10:0	18,28c ±0,42	12,57b ±0,28	8,29 a ±0,22	20,73d ±0,41
11:0	0,09a ±0,01	0,13c ±0,01	0,10b ±0,01	0,08a ±0,01
12:0	141,20a ±3,01	137,10a ±2,67	111,34b ±2,91	158,34c ±3,34
13:00	0,10a ±0,01	0,13 bc ±0,01	0,12c,d ±0,00	0,12b ±0,01
14:0	52,24c ±1,01	43,37b ±0,55	37,64a ±0,56	53,60d ±0,52
14:1n-11	0,20b ±0,00	0,17a ±0,01	0,21b ±0,01	0,16a ±0,01
15:0	0,44b ±0,01	0,43b ±0,01	0,52c ±0,01	0,28a ±0,01
16:0	192,01c ±6,89	220,43a ±3,28	216,78a ±2,84	74,03b ±6,01
16:1n-9	1,36a ±0,10	1,38a ±0,01	1,82c ±0,03	0,83b ±0,04
17:0	0,69a ±0,05	0,76a,b ±0,03	0,77b ±0,07	0,35c ±0,03
17:1n-7	0,33b ±0,01	0,27a ±0,01	0,33b ±0,01	0,27a ±0,01
18:0	26,32a ±1,25	30,24b ±0,64	26,53a ±0,46	25,14a ±1,93
18:1n-9	288,64b ±2,11	279,64a ±2,42	340,08c ±1,89	378,15d ±1,54
18:1n-7	8,37d ±0,71	5,70b ±0,16	7,70c ±0,34	4,51a ±0,13
18:2(t12)	0,90a ±0,06	1,22c ±0,03	1,06b ±0,05	0,83a ±0,08
18:2n-6	153,09b ±2,96	148,78a,b ±2,74	138,81a ±2,56	165,83c ±0,82
18:3n-6	1,42d ±0,01	0,58a ±0,04	0,78b ±0,01	0,88c ±0,03
18:3n-3	15,01a ±0,73	17,28c ±0,32	15,64a ±0,29	11,76b ±1,08
20:0	2,27a ±0,07	2,24a ±0,07	2,27c ±0,03	1,62b ±0,04
CLA 18:2(c9t11)	2,40c ±0,17	1,55b ±0,04	2,70d ±0,05	1,33a ±0,03
CLA 18:2(t10c12)	0,16a ±0,01	0,19b,c ±0,01	0,17a,b ±0,02	0,20c ±0,01
20:4n-6 (AA)	-	5,04d ±0,16	1,73b ±0,04	3,00c ±0,23
22:1n-9	1,29b ±0,07	1,07a ±0,08	1,14a ±0,02	3,33c ±0,10
20:5n-3 (EPA)	-	-	0,37 ±0,02	-
22:5n-3 (DPA)	0,68a ±0,04	0,68a ±0,07	0,97b ±0,03	1,20c ±0,03
22:6n-3 (DHA)	-	2,18d ±0,12	1,52c ±0,05	0,99b ±0,08

Médias seguidas por letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Aplicou-se PCA em todos os AG das quatro amostras, conforme representados pela Figura 2. Verificou-se que duas componentes principais representaram 99,70% da variância total. Por meio dos gráficos dos scores observa-se que as amostras M1 e M2

possuem composição de ácidos graxos semelhantes. Analogamente as amostras M3 e M4 possuem características diferentes em sua composição lipídica. Analisando os gráficos do loading conclui-se que o ácido graxo oleico (18:1n-9) foi a principal variável responsável pela separação dos grupos no score seguido pelos ácidos palmítico (16:0), lilonênico (18:2n-6) e láurico (12:0). Destas três variáveis (18:1n-9, 18:2n-6 e 12:0) com uma variável (16:0) obteve-se mesma correlação na PC1 e correlação inversa na PC2.



**Figura 2.** Score e loading obtidos na análise de componentes principais da composição de ácidos graxos em fórmulas infantis para lactentes.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados da composição lipídica indicaram que o alimento possui características nutracêuticas e funcionais, devido a presença dos isômeros de linoleico conjugado, ácidos graxos essenciais ômega 3, ômega 6 e concentrações insignificantes de AG *trans*. No entanto necessitam de melhorias nas concentrações dos ácidos graxos DHA (22:6n-3) e AA (20:4n-6).

#### REFERÊNCIAS

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Association of Official Analytical Chemists.** , Washington, n. 16 Edição, 1998.

BATISTON, W. P. et al. Absolute Quantification of Fatty Acid and Proximate Composition of Cow and Goat Powdered Milks . **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 10, p. 1907-1914, 2012.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, v. 1, n. 226, p. 497-509, 1957.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Fats and fatty acids in human nutrition Report of an expert consultation.** [S.l.]: FAO, 2010.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl ester from lipids. **Laboratory Practices**, p. 22-474, 1973.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: Collaborative study. **Journal Association of Official Analytical Chemistry.**, v. 3, n. 75, p. 488-506, 1992.

RODRIGUÉZ-ALCALÁ, L. M. et al. Changes in the lipid composition of powdered infant formulas during long-term storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**, v. 55, p. 6533-6538, 2007.