

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA

LUCIANA MARQUES CARABETTI GONTIJO

FÓRMULAS INFANTIS PARA LACTENTES DE 0-6 MESES COM
ADIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOCOSAHEXAENÓICO E
ARAQUIDÔNICO: análise de rotulagem e lipídeos

Belo Horizonte

2016

LUCIANA MARQUES CARABETTI GONTIJO

FÓRMULAS INFANTIS PARA LACTENTES DE 0-6 MESES COM
ADIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOCOSAHEXAENÓICO E
ARAQUIDÔNICO: análise de rotulagem e lipídeos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do grau de Mestra em Ciências de Alimentos.

Orientação: Prof. Roberto Gonçalves Junqueira
Coorientadora: Prof^a. Raquel Linhares Bello de Araújo

Belo Horizonte

2016

G641f Gontijo, Luciana Marques Carabetti.
Fórmulas infantis para lactentes de 0-6 meses com
adição dos ácidos graxos docosahexaenóico e
araquidônico: análise de rotulagem e lipídeos / Luciana
Marques Carabetti Gontijo. – 2016.
82 f. : il.

Orientador: Roberto Gonçalves Junqueira.
Coorientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas
Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Ácidos graxos – Teses. 2. Lactantes – Nutrição –
Teses. 3. Rótulos – Legislação – Teses. 4. Fórmulas
infantis – Teses. 5. Valor nutricional – Teses. I. Junqueira,
Roberto Gonçalves. II. Araújo, Raquel Linhares Bello de.
III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Farmácia. III. Título.

CDD: 664.0026



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

FOLHA DE APROVAÇÃO

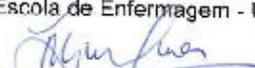
**FÓRMULAS INFANTIS PARA LACTENTES DE 0-6 MESES COM ADIÇÃO DOS
ÁCIDOS GRAXOS DOCOSHEXANÓICO E ARAQUIDÔNICO:
ANÁLISE DE ROTULAGEM E LIPÍDEOS**

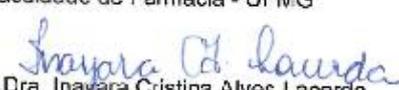
LUCIANA MARQUES CARABETTI GONTIJO

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 20 de outubro de 2016, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Dra. Simone Cardoso Lisboa Pereira
Escola de Enfermagem - UFMG


Prof. Dr. Roberto Gonçalves Junqueira (Orientador)
Faculdade de Farmácia - UFMG


Profa. Dra. Inayara Cristina Alves Lacerda
Faculdade de Farmácia - UFMG


Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo
Faculdade de Farmácia - UFMG

Belo Horizonte, 20 de outubro de 2016.

*Às crianças pois elas são a
esperança que se renova.*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Patrícia e aos meus irmãos Ludmilla e Felipe por sempre me apoiarem;

André e Bruna vocês também fazem parte;

Ao meu querido Helder por tornar fácil quando a vida é difícil;

Aos meus queridos avós pelo mais certo acolhimento do mundo;

Ao Pedro e à Ronália pela amizade e por toda a ajuda;

Eduardo, Renan, Carol, Carina, Gustavo, Malu, Mauro, Laura, Mari, Flavinha, Elaine, Lucas, Júlia e Débora, obrigada por tornarem os meus dias mais leves e pelas discussões enriquecedoras.

Ao Marcão por fornecer ritmo às análises;

Ao professor Roberto pela oportunidade e orientação;

À professora Raquel pelo suporte e orientação;

Aos meus amigos Dhionne e Gustavo pela sabedoria, conversas, aconselhamentos e ajuda. Vocês foram fundamentais;

Todos vocês fizeram grande diferença.

“O correr da vida embrulha tudo.
A vida é assim: esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa, sossega e depois
desinquieta.

O que ela quer da gente é coragem”.

Grande Sertão Veredas.

Guimarães Rosa.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi: (a) determinar - nas fórmulas infantis para lactentes de 0 a 6 meses adicionadas de ácido graxo docosaheptaenoico (DHA) e ácido graxo araquidônico (ARA) - o teor de lipídeos totais, o perfil de ácidos graxos, a quantificação de DHA, ARA, linoleico e α – linolênico; (b) avaliar a adequação nutricional do rótulo de acordo com as leis vigentes no Brasil; (c) avaliar a ingestão diária proposta pelo fabricante em relação às recomendações internacionais; (d) comparar as fórmulas infantis com o leite materno. Para tal, empregou-se, inicialmente, o método de Roese Gottlieb para a quantificação de lipídeos totais e, para as demais análises, utilizou-se a cromatografia gasosa com espectrometria de massas. Para os dados de avaliação de rotulagem empregou-se a Resolução 43/2011 e as recomendações internacionais da Organização Mundial da Saúde, Dietary Reference Intakes e European Food Safety Authority. Foram encontradas diferenças significativas para menos no teor de lipídeos totais entre 3 das 4 fórmulas analisadas, contudo a tolerância de 20% prevista em lei as tornam legalmente adequadas. A respeito dos ácidos graxos DHA, ARA, linoleico e α – linolênico, encontrou-se diferença significativa em comparação com o indicado nos rótulos das fórmulas em estudo. O DHA e o ARA estavam menos concentrados do que informado pelos fabricantes, 18% a 37% e 46% a 56%, respectivamente, e, de maneira oposta, o ácidos graxos linoleico e α – linolênico em maior concentração do que o indicado no rótulo. Em ambos os casos em apenas uma das fórmulas os ácidos graxos encontrados concordavam com o disposto nas leis brasileiras, mesmo com a tolerância de 20% no valor nutricional. A rotulagem nutricional apresentou-se legalmente adequada com a resolução número 43 de 2011, para todos os nutrientes. A proposta de ingestão diária feita pelos fabricantes para os lactentes apresentou-se nutricionalmente inadequada. Encontrou-se excesso de proteínas, carboidratos e energia, e deficiência de DHA e ARA. Constatou-se, por fim, que apesar dos rótulos estarem adequados com o previsto em lei, as formulas estão inadequadas em quantidade e qualidade de nutrientes. Portanto as fórmulas estão inadequadas em quantidade e qualidade de nutrientes.

Palavras - chaves: ácidos graxos de cadeia longa. Qualidade nutricional. Fórmulas infantis. Rótulo.

ABSTRACT

Human milk is the only food capable of providing, in quantity and quality, all the nutrients, energy, and immunomodulatory substances for newborns. However, when there are situations that make breastfeeding impossible (mothers with HIV or children born with severe problems in metabolism), or no access to milk banks, the most suitable alternative food source are infant formulas. There are, in the Brazilian market, many infant formulas with varying compositions, making necessary the constant evaluation of its quantity and quality nutritional adequacy, inasmuch as the young children feeding affects the development of the individual throughout his life. The aim of this study was: (a) determine - in infant formulas for infants from 0 to 6 months added fatty docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic fatty acid (ARA) - the total lipid content, fatty acid profile, quantification of DHA, ARA, linoleic and α - linolenic; (B) assess the nutritional adequacy of the label according to the laws in force in Brazil; (C) evaluate the daily intake proposed by the manufacturer in relation to international recommendations. To this purpose, we used initially the Roesse Gottlieb method for the quantification of total lipids and, for the other analyzes, we used gas chromatography with mass spectrometry. For labeling assessment data we employed the Resolution 43/2011 and the international recommendations of the World Health Organization, Dietary Reference Intakes, and European Food Safety Authority. We found significant differences for less in total lipid content between 3 of the 4 analyzed formulas, however a 20% tolerance provided for by law make them legally appropriate. Regarding fatty acids DHA, ARA, linoleic and α - linolenic acid, we found a significant difference compared to the stated on the labels of the formulas under study. The DHA and ARA were less concentrated than reported by the manufacturer, 18% to 37% and 46% to 56%, respectively, and, in the opposite way, linoleic fatty acids and α - linolenic acid in a higher concentration than indicated in the label. In both cases in only one of the formulas the fatty acids were in agreement with the provisions of Brazilian law, even with the tolerance of 20% in nutritional value. Nutrition labeling was legally appropriate to resolution number 43 of 2011 for all nutrients. The proposed daily intake made by manufacturers for infants proved to be inadequate. We found excess of proteins, carbohydrates and energy, and deficiency of DHA and ARA. It was noted, finally, that although the labels are adequate, the formulas were inadequate in quantity and quality of nutrients, to the Brazilian laws. In relation to international recommendations, both labels and formulas were inadequate in quantity and quality of nutrients.

Key - words: long-chain fatty acids. Nutritional quality. Infant formula. Label.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Energia requerida de acordo com idade e quantidade oferecida pelo leite materno.....	19
FIGURA 2 Molécula de triglicerídeo	28
FIGURA 3 Composição de ácidos graxos de três fontes alimentares.....	29
FIGURA 4 Composição de ácidos graxos de três fontes alimentares.....	30
FIGURA 5 Molécula de ácido graxo DHA (a), ARA (b) e palmitoleico (c).	31
FIGURA 6 Molécula de ácido láurico.	32
FIGURA 7 Molécula do ácido oleico cis (a) e trans (b).....	33
FIGURA 8 Esterificação (a) e transesterificação (b) de ácidos graxos.....	38
FIGURA 9 Representação gráfica do teste de hipótese por meio de gráfico do tipo Boxplot.....	42
FIGURA 10 Fluxograma do método de extração de lipídeos por Roesse Gottlieb.	44
FIGURA 11 Fluxograma do método de transesterificação de lipídeos.....	45
FIGURA 12 Representação dos resultados de lipídeos totais através do método gravimétrico Roesse Gottlieb	49
FIGURA 13 Representação do teste de t para análise de lipídeos totais das fórmulas: Fórmula 1 (F1), Fórmula 2 (F2), Fórmula 3 (F3) e Fórmula 4 (F4). ..	50
FIGURA 14 Cromatograma fórmula 1	51
FIGURA 15 Cromatograma fórmula 2	51
FIGURA 16 Cromatograma fórmula 3.....	52
FIGURA 17 Cromatograma fórmula 4	52
FIGURA 18 Representação do teste de t para análise de ácido graxo ω 6	54
FIGURA 19 Representação do teste de t para análise de ácido graxo ω 3.	55
FIGURA 20 Representação do teste de t para análise de ácido graxo ARA....	55
FIGURA 21 Representação do teste de t para análise de ácido graxo DHA ...	56
FIGURA 22 Representação da ingestão diária e recomendações de energia para meninos, expresso em kcal diária	60
FIGURA 23 Representação da ingestão diária e recomendações de energia para meninas, expresso em kcal diária.	61
FIGURA 24 Representação da ingestão diária e recomendações hídrica para meninos e meninas, expresso em mililitros.....	62

FIGURA 25 Representação da ingestão diária e recomendações de carboidrato para meninos, expresso em grama diário	63
FIGURA 26 Representação da ingestão diária e recomendações de carboidrato para meninas, expresso em grama diário	63
FIGURA 27 Representação da ingestão diária e recomendações de proteína para meninos, expresso em grama diário	64
FIGURA 28 Representação da ingestão diária e recomendações de proteína para meninas, expresso em grama diário	65
FIGURA 29 Representação da ingestão diária e recomendações de lipídeos para meninos, expresso em grama diário	67
FIGURA 30 Representação da ingestão diária e recomendações de lipídeos para meninos, expresso em grama diário	67
FIGURA 31 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninos, expresso em grama diário.	68
FIGURA 32 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninas, expresso em grama diário.	69
FIGURA 33 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninas, expresso em grama diário	69
FIGURA 34 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo linoleico (LA- ω 6) para meninas, expresso em grama diário.....	70
FIGURA 35 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo DHA para ambos os sexos, expresso em gramas diários	72
FIGURA 36 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo ARA para ambos os sexos, expresso em grama diário.....	72

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Composição nutricional do leite Humano maduro.	20
TABELA 2 Composição proteica do leite Humano e do leite de vaca.	21
TABELA 3 Composição opcional de ácidos graxos em fórmulas infantis conforme RDC 43 (ANVISA, 2011).	27
TABELA 4 Composição essencial de macronutrientes das fórmulas infantis conforme RDC 43 (ANVISA, 2011).	27
TABELA 5 Classificação e exemplo de ácidos graxos.	33
TABELA 6 Composição dos ácidos graxos dos principais ingredientes utilizados nas fórmulas infantis em comparação com o leite Humano.	35
TABELA 7 Principais métodos gravimétricos de extração de lipídeos para análise de lipídeos totais.	37
TABELA 8 Métodos de esterificação.	39
TABELA 9 Condições cromatográficas da análise de ácidos graxos.	46
TABELA 10 Fator estequiométrico de conversão.	47
TABELA 11 Resumo das análises realizadas.	48
TABELA 12 Concentração dos principais ácidos graxos das fórmulas infantis, leite materno e rótulo dos fabricantes ¹	53
TABELA 13 Comparação da composição nutricional das fórmulas infantis para lactentes de acordo com a RDC 43, 2011 ¹	58
TABELA 14 Proporção dos ácidos graxos.	68
TABELA 15 Quantidade de DHA previsto na RDC 43/2011 e nas fórmulas infantis expresso em porcentagem de lipídeos.	71

LISTA DE ABREVIATURAS

a.C – Antes de Cristo

AGE – Ácido graxo essencial

AGP CL – Ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa

AGS – Ácido graxo saturado

AGT - Ácido graxo *trans*

ALA – Ácido graxo α linolênico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Official methods of analysis

ARA – Ácido graxo araquidônico

BLH's – Bancos de Leite Humano

BSSL – Lipase estimulada pelos sais biliares

CG - Cromatografia gasosa

CMV – Citomegalovírus

d. C – Depois de Cristo

DHA – Ácido graxo docosahexaenoico

DRI – Dietary Reference Intake

ECA – ácido graxo ecosaenoico

EFSA – European Food Safety Authority

F1 – Fórmula 1

F2 – Fórmula 2

F3 – Fórmula 3

F4 – Fórmula 4

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations

FOS – Frutoligossacarídeo

GOS – Glicoligossacarídeo

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HIV – Vírus da imunodeficiência adquirida

HTLV 1 e 2 – Vírus linfotrófico humano de células T

IdD - Imunoglobulina D

IDF - International Dairy Federation

IgA – Imunoglobulina A

IgE - Imunoglobulina E

IgF 1 – Imunoglobulina F 1

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

ISO - International Organization for Standardization

Kcal - quilocaloria

LA – Ácido graxo linoleico

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

EM – Espectrometria de massas

MTBE - Éter metil-terc-butílico

MUFA – Ácido graxo monoinsaturado

OMS – Organização mundial da saúde

pH – potencial hidrogenionico

PUFA – Ácido graxo poliinsaturado

RDC – Resolução Diretoria Colegiada

UI – Limite aparentemente seguro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1- Leite materno	18
2.3- Fórmulas infantis	24
2.4- Lipídeos	28
2.4.1- Os ácidos graxos	29
2.4.1.1- Ácidos graxos essenciais (AGE)	30
2.4.1.2- Ácidos graxos insaturados	31
2.4.1.3- Ácidos graxos saturados (AGS)	32
2.4.1.4- Ácidos graxos <i>trans</i> (AGT)	32
2.5- LACTENTES E LIPÍDEOS	34
2.6- MÉTODOS DE ANÁLISE DE LIPÍDEOS	36
2.6.1 Métodos de extração de lipídeos	36
2.6.2- Métodos de esterificação e transesterificação de lipídeos	38
2.6.3- Métodos de análise de ácidos graxos em cromatografia gasosa	40
3- MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1- Amostragem e análise estatística	41
3.2- Material	42
3.3 Métodos	43
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1- Análises de lipídeos totais e perfil de ácidos graxos	49
4.2- Análise de rotulagem dos produtos	56
4.2.1- Avaliação nutricional	56
4.2.2- Análise da ingestão diária	57
5- CONCLUSÃO	74
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1. INTRODUÇÃO

O leite humano é o único alimento consumido pelos recém-nascidos e lactentes capaz de fornecer, em quantidade suficiente, energia, nutrientes e fortalecer a imunidade (SILVA et al., 2007).

Ademais, o ato da amamentação propicia o desenvolvimento adequado da musculatura e ossatura bucal da criança, direcionando o crescimento de estruturas importantes para a fonação e respiração adequadas. Os benefícios para a mãe incluem desde a redução do estresse até a prevenção de anemia, pois a liberação do hormônio ocitocina é potencializada durante a amamentação, gera sensação de bem-estar, reduz o tamanho do útero e, conseqüentemente, o sangramento pós-parto (ANTUNES et al., 2008).

Embora amamentar tenha muitos benefícios, existem vários fatores que interfere esta prática, seja positivamente ou negativamente: nível socioeconômico, grau de escolaridade, idade e trabalho da mãe, urbanização, condições do parto, incentivo do cônjuge e parentes e, também, a intenção da mãe de amamentar ou não (ROCHA et al., 2010).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), existem condições maternas infecciosas que contraindicam o aleitamento materno continuamente, como por exemplo, para lactantes portadoras do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e o vírus linfotrófico humano de células T (HTLV 1 e 2) ou temporariamente, de acordo com as peculiaridades, por exemplo mães que apresentam outras infecções como por exemplo tuberculose e hepatite B. Também há casos de contraindicação para nutrizes que estão em tratamento quimioterápico ou radioterápico, ou que tenham sido expostas a metais pesados (BRASIL, 2005).

Para os casos em que a amamentação não é existente, há a possibilidade de se recorrer aos leites provenientes dos Bancos de Leite Humano (BLH's). Os BLH's, segundo a RDC 171 de 4 de setembro de 2006, são responsáveis por coletar, processar e controlar a qualidade de leite humano para posterior distribuição para recém-nascidos prematuros ou de baixo peso que não suga; recém-nascidos infectados, recém-nascido em nutrição trófica; recém-nascido portador de imunodeficiência; dentre outras (ANVISA, 2006). Mas quando a

amamentação ou a utilização de leite proveniente dos Bancos de Leite Humano não são possíveis, são as fórmulas infantis a alternativa existente (BRASIL, 2004). No Brasil existem três tipos de fórmulas infantis: fórmulas infantis para lactentes; fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância; fórmulas infantis de seguimento para lactente e crianças de primeira infância com necessidades dietoterápicas específicas (ANVISA, 2011).

A introdução precoce de novos alimentos deixa o lactente vulnerável a diarreia, infecções e desnutrição devido à imaturidade de seus intestinos, logo, à incapacidade de digerir e absorver adequadamente alguns nutrientes. Por isso, a alimentação complementar, isto é, ofertar a criança novos alimentos além do leite materno quando este deixa de atender as necessidades nutricionais, se dá, somente, a partir dos seis meses de vida, como indica a Organização Mundial da Saúde (DIAS et al., 2010).

Dentre os nutrientes do leite humano, os lipídeos são responsáveis por 55% das calorias diárias ofertadas aos lactentes e o cérebro, em peso seco, 50% correspondem aos lipídeos (TINOCO et al., 2007). Os ácidos graxos de cadeia longa ARA (ácido araquidônico) e DHA (ácido docosohexaenoico) são os principais componentes das membranas celulares do sistema nervoso central, sendo importantes para o crescimento, funcionamento e completude do cérebro (KUS et al., 2011). Crianças a partir de 6 meses de idade e adultos conseguem sintetizar estes ácidos graxos de cadeia longa a partir de seus precursores: os ácidos graxos essenciais linoleico (LA18:2 - ω 6) e alfa-linolênico (ALA - ω 3). Porém, devido a imaturidade hepática dos recém-nascidos, a capacidade de síntese de DHA e ARA é limitada sendo importante a ingestão destas substâncias por via alimentar (KUS et al., 2011).

A qualidade da nutrição no início da vida pode definir metabolicamente o indivíduo com reflexos na vida adulta, o que enfatiza a importância da adequação alimentar durante a vida intrauterina, lactação e infância (TINOCO, et al., 2007).

Assim, a ingestão de nutrientes de qualidade e em quantidades apropriadas nessa etapa da vida é essencial para o bom desenvolvimento do indivíduo ao longo de sua vida. Neste sentido, a qualidade nutricional das fórmulas infantis, principalmente para menores de seis meses, deve ser rigorosamente adequada, uma vez que estas são a única fonte alimentar dos lactentes.

Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade das fórmulas infantis para lactentes de 0 a 6 meses quanto ao perfil lipídico e adequação da rotulagem.

Os objetivos específicos foram:

- Determinar o teor de lipídeos totais de fórmulas infantis para lactentes de 0 a 6 meses que possuam adição de DHA e ARA, comercializadas no município de Belo Horizonte;
- Caracterizar o perfil de ácidos graxos destas fórmulas;
- Quantificar os ácidos graxos de cadeia longa DHA e ARA.
- Comparar a composição das fórmulas quanto aos ácidos graxos com o leite humano;
- Avaliar a adequação dos rótulos destas fórmulas frente ao previsto na Resolução Colegiada 43/2011 da Anvisa;
- Comparar os resultados quantitativos de lipídeos totais e ácidos graxos com os valores descritos nos rótulos;
- Avaliar a recomendação nutricional diária para os lactentes de 0 a 6 meses com o proposto pelos rótulos das fórmulas estudadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1- Leite materno

Desde o Talmude (coleção de registros das discussões rabínicas) datados de 200 a.C, é possível encontrar práticas e ensinamentos que incentivavam o aleitamento materno até os 2 anos para preservação da vida da criança. Na bíblia, no antigo testamento, Samuel, por exemplo, em 1000 a.c foi levado apenas após seu desmame ao sacerdote Eli. Plutarco, Plínio e Tácito, filósofos do século I e II d.C., já entendiam que o ato de amamentar estreitava os laços de afeto entre mãe e filho evitando problemas futuros (CASTILHO et al., 2010). Assim, pode-se dizer que desde antes de Cristo já era conhecida a importância do aleitamento e do leite materno como alimento para as crianças. Não obstante, sabe-se que amamentar é uma prática cultural e, portanto, mutável no tempo e no espaço.

Por exemplo, a partir da renascença (XIII - XVI) até o século XVIII o colostro, secretado pela nutriz nos primeiros dias do pós-parto, era pouco valorizado e recomendava-se desprezá-lo (ROCHA et al., 2010; CASTILHO et al., 2010). Com o advento da Revolução Industrial, no século XVIII, houveram mudanças abruptas na maneira de se alimentarem os recém-nascidos. A utilização da mão-de-obra de mulheres e crianças por conta de seus baixos salários e a crescente pauperização dos trabalhadores levou muitas mães a trabalharem e, juntamente com isto, surgiram as primeiras formulações para alimentação infantil (CASTILHO et al., 2010).

Entretanto, hoje, já se sabe que o leite materno é o único alimento capaz de fornecer, além de substâncias imunomoduladoras, isto é que aumentam a resposta imunológica do organismo, todos os nutrientes e energia necessários para os recém-nascidos de até 6 meses de idade conforme representa a figura 1 (OMS, 2010).

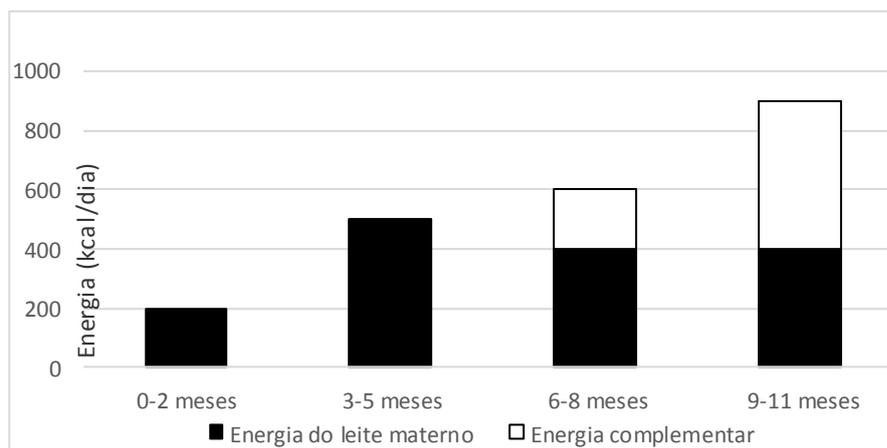


FIGURA 1: Energia requerida de acordo com idade e quantidade oferecida pelo leite materno

Fonte: OMS, 2010.

O principal constituinte desse alimento é a água que corresponde a 87% da composição centesimal, seguido por lactose (carboidrato), lipídeo e proteínas, representado pela tabela 1. Também existem mais de 250 elementos de proteção no leite materno (MACHADO, 2002).

Durante os primeiros dias de pós-parto é secretado pela nutriz o que chamamos de colostro: um fluido amarelado e viscoso que preenche as células alveolares dos seios no último trimestre da gestação (MACHADO, 2002). O colostro é um alimento de alta densidade energética e pequeno volume, que contém menos lactose, gordura e vitaminas hidrossolúveis e mais concentração de proteínas, vitaminas A, D, E e K e minerais (MACHADO, 2002). Esta característica do colostro é muito importante para os recém-nascidos, pois seus rins, ainda imaturos, não conseguem processar grande volume de líquido sem que haja estresse metabólico devido a ineficiência das enzimas (MACHADO, 2002). Ademais, nota-se que o músculo esquelético e o cérebro possuem grande afinidade pelo colostro (FEFERBAUM, 2005).

No leite materno maduro, os lipídeos são responsáveis por fornecer, em média, 50% das calorias necessárias para o desenvolvimento adequado dos bebês. Neste alimento, os lipídeos são compostos por 98% de triacilgliceróis, 1% de fosfolipídeos e 0,5% de esteróis (CHUANG et al., 2013; SILVA et al., 2007). As gorduras do leite materno também são fontes de colesterol, vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais, incluindo DHA (GIL – CAMPOS et al., 2010). Em torno de 60% dos ácidos graxos no leite materno

são insaturados, compostos, principalmente, por oleico e linoleico. Os outros 40% são ácidos graxos saturados, com predominância do ácido palmítico (SILVA et al., 2007).

Todos os macronutrientes sofrem variações de acordo com o estado nutricional da mãe, alimentação e tempo de maturação do leite, contudo, o lipídeo é que mais varia ao longo da amamentação. Segundo Crawford et al. (1976), eles passam de 2 g/mL, quando colostro, para 5 g/mL quando maduro, secretado 15 dias após o parto (MACHADO, 2002; RONA et al. 2008; BALLARD et al., 2013). Além disso, as variações podem ocorrer ao longo de uma única mamada. Em algumas nutrizes a concentração de gorduras no leite aumenta até 5 vezes mais no final da mamada quando comparada a concentração do início da mamada (MACHADO, 2002; RONA et al., 2008).

TABELA 1 Composição nutricional do leite Humano maduro.

Nutriente	Quantidade em 100 mL
Calorias	65 a 70 kcal
Proteínas	0,9 a 1,3 g
Lipídeo	3,2 a 3,6 g
Carboidrato (lactose)	6,7 a 7,8 g

Fonte: Ballard, 2013; OMS, 2010;

No que se refere às proteínas, por volta de 80% delas são compostas por α - lactoalbumina, mas há também uma baixa porção de caseína. A β -lactoglobulina é ausente no leite materno, diferentemente do que ocorre no leite de vaca onde ela corresponde a 3% de sua constituição. A ausência dessa proteína no leite materno possibilita a formação de coalho gástrico mais leve e de mais fácil digestão diminuindo o risco de desenvolvimento de intolerância ao leite humano (SILVA et al., 2007; OMS 2010). Outro benefício deste alimento em comparação ao de vaca como alimento de crianças até 6 meses é que o primeiro fornece maior quantidade de taurina e cistina, aminoácidos essenciais importantes para o desenvolvimento do sistema nervoso central (SILVA et al., 2007).

O leite materno não possui apenas nutrientes, conforme demonstrado na tabela 2. Este alimento é importante contra infecções e outras morbidades

graças aos seus fatores de defesa como as imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM, IgD e IgE), linfócitos, macrófagos, lisozima, lactoferrina, lactoperoxidase, ácidos graxos, proteinases e oligossacarídeos (MACHADO, 2002).

TABELA 2 Composição proteica do leite Humano e do leite de vaca.

Proteínas	Leite humano (mg/ml)	Leite de vaca (mg/ml)
α - lactalbumina	1,6	0,9
β - lactoglobulina	-	3,0
Lactoferrina	1,7	0,012
Lisozima	0,4	0,0001
Soroalbumina	0,4	0,3
<i>Imunoglobulinas:</i>		
IgA	1,4	0,03
IgG	0,01	0,6
IgM	0,01	0,03

Fonte: FEFERBAUM, 2005

Favier et al. (2002) percebeu que a colonização dos intestinos dos recém-nascidos amamentados era semelhante à colonização do leite da própria mãe. Indicando que o leite materno, ao contrário do que se acreditava no século passado, não é um alimento estéril (FERNANDEZ et al., 2013). A colonização adequada dos intestinos dos recém-nascidos através dos micro-organismos provenientes do leite materno é importante para a manutenção e desenvolvimento da saúde da criança. Devido ao seu potencial imunomodulador, à exclusão competitiva de bactérias patogênicas que poderiam causar infecções e à produção de substâncias bioativas como ácidos graxos de cadeia curta, mucinas e vitaminas essa colonização é importante em vários sentidos, além de contribuir para a maturação do sistema imune (BERGMANN, 2014).

Dessa forma, como defende Fernandez et al. (2013), estas bactérias devem ser consideradas componentes da microflora mamária e não apenas contaminantes. A concentração de bactérias nas glândulas mamárias se inicia durante o último trimestre de gravidez, atinge maior complexidade no período de pré-parto, mantem-se estável durante toda lactação e diminui ao desmame,

desaparecendo rapidamente quando não há leite. Dentre as bactérias isoladas no leite humano tem-se as bifidobactérias, estreptococcus e a estafilococcus (FERNANDEZ et al., 2013; BERGMANN, 2014).

Além da importância da amamentação para as finalidades já destacadas, o ato de amamentar ainda traz outros benefícios para a lactante e o lactente. Segundo Antunes et al. (2008) a amamentação estimula os sentidos, além de estar relacionada com o desenvolvimento da personalidade, sucção, deglutição, respiração, musculatura e ossatura bucal e facial da criança.

Similarmente, o ato propicia benefícios para a nutriz como a redução do estresse e mau humor após as mamadas, causado pelo aumento do hormônio ocitocina, liberado em altos níveis ao longo da mamada. Este mesmo hormônio é importante para reduzir o tamanho do útero e dos sangramentos pós-parto, diminuindo o risco de desenvolvimento de anemias (ANTUNES et al., 2008).

Deve-se levar em conta também que a amamentação é uma prática sociocultural e, portanto, sua prática pode ser variável e deve-se respeitar a escolha da mulher. Existem diversos fatores que afetam o ato, estimulando ou desencorajando-o: nível socioeconômico, grau de escolaridade da mãe, idade da mãe, trabalho materno, condições de parto, urbanização, incentivo de parentes e cônjuge, crenças e mitos a respeito da amamentação e do leite materno (ROCHA et al., 2010).

Não obstante é importante ressaltar que também há casos específicos em que a amamentação é desaconselhada. Em 2005 a Anvisa lançou o “Manual Normativo para profissionais da saúde de maternidades - referência para mulheres que não podem amamentar” em que explicita esses casos em que a amamentação é desaconselhada, como por exemplo (i) as nutrizes são portadoras de HIV e (ii) acometidas pelo Vírus linfotrófico humano de células T (HTLV). Ou desaconselhada temporariamente como por exemplo quando (a) as mães estão infectadas por citomegalovírus (CMV) e o recém-nascido é prematuro ou é diagnosticado com imunocompressão; (b) em caso de herpes simples e zoster – contraindica a amamentação apenas nos casos em que as lesões encontram-se nas mamas; (c) mãe infectada por hepatite C – quando há lesões mamilares; (d) hanseníase - até que o tratamento atinja tempo necessário para controle da transmissão; (e) doença de chagas- casos agudos.

Há casos também em que a nutriz não é acometida por doenças infecciosas, mas não se aconselha a amamentação, por exemplo: (f) mulheres em quimioterapia ou radioterapia; (g) nutrizes que estejam expostas à metais pesados; e (h) casos de crianças que nasceram com erros inatos do metabolismo (BRASIL, 2005). Adicionalmente, o manual normativo também explica os casos que necessitam de atenção especial ainda que a amamentação seja mantida.

Aos casos em que as mães não podem amamentar é possível ter acesso aos leites provenientes dos Bancos de Leite Humano (BLH). Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada nº 171 de 2006, tem prioridade de receber leite materno proveniente dos BLHs:

Recém-nascido prematuro ou de baixo peso que não suga; recém-nascido infectado, especialmente com enteroinfecções; recém-nascido em nutrição trófica; recém-nascido portador de imunodeficiência; recém-nascido portador de alergia a proteínas heterológicas; e casos excepcionais, a critério médico.

O primeiro banco de leite humano (BLH) do Brasil foi criado em 1943 no Rio de Janeiro. Durante 40 anos, o principal objetivo era a coleta do leite e, baseado em uma lógica comercial, a nutriz era remunerada de acordo com a quantidade de leite “doada” (NOVAK et al., 2006).

Apesar da preocupação com os cuidados que se deve ter ao manipular o leite desde a ordenha até o consumo, o leite, à época, era distribuído cru, mas a partir dos anos 80 iniciou-se a nova estruturação dos BLHs, expandindo-o por todo país e desenvolvendo novos processamentos e controle de qualidade que foram incorporados gradualmente (NOVAK et al., 2006).

A rede nacional de Bancos de Leite Humano brasileira é a maior e mais bem estruturada de todo o mundo, conta com mais de 180 unidades espalhadas por todo o Brasil (GIUGLIANI, 2002).

Segundo a portaria número 2193 do Ministério da Saúde de 2006, cabe aos Bancos de Leite Humano promover, proteger e apoiar o aleitamento materno; executar as operações de coleta, seleção e classificação, processamento, controle clínico, controle de qualidade e distribuição do Leite Humano Ordenhado.

Na impossibilidade completa de acesso ao leite humano existem no mercado mundial diversos tipos de fórmulas infantis utilizados como substitutos do leite materno.

2.3- Fórmulas infantis

Durante a história, diferentes motivos impediam, por vezes, a amamentação materna. Em alguns casos, recorria-se às amas de leite, comuns até passado relativamente recente. Contudo, a substituição nem sempre se deu dessa maneira. Durante o Império Romano, por exemplo, crianças amamentavam-se diretamente no ubre de animais ou com vinho, mel e leite de vaca (DEL PRIORE, 2013; CASTILHO et al., 2010).

A prática de alimentar bebês além do leite da própria mãe pode ser identificada desde o início da civilização. O código de Hammurabi (1800 a.c) era um conjunto de leis do império Babilônico e possuía regulamentação sobre o desmame e as “amas-de-leite”, que eram contratadas sempre na forma de aluguel (BOSI et al., 2005).

Durante o período colonial no Brasil, os recém-nascidos enjeitados eram alimentados por criadeiras (mães de aluguel contratadas pela câmara ou Santa Casa) e expostos a alimentação artificial que, para os casos especiais, era previsto na legislação portuguesa através de métodos específicos como mel e água, caldo quente, leite de vaca e, até mesmo, água com açúcar (DEL PRIORE, 2013).

Embora já existisse naquela época modernas mamadeiras de vidro, comumente as crianças eram alimentadas através de panos de linho poído ou colheres. Porém, devido às péssimas condições de higiene e assepsia, a saúde das crianças era gravemente comprometida (DEL PRIORI, 2013).

Durante os séculos XVI e XVIII, as mulheres inglesas não amamentavam seus filhos pois acreditavam que este ato as tornava velhas antes do tempo, crença que permeia até os dias atuais. Além disso, era proibido ter relação sexual durante o período da amamentação (18 a 24 meses), pois segundo médicos, poderia enfraquecer o leite ou envenenar a criança se esta fosse amamentada enquanto houvesse outra gestação (BOSI et al., 2005).

Em contrapartida, há relatos que os Tupinambás, durante os séculos XVI e XVII, amamentavam seus filhos até um ano e meio de idade. Assim, os filhos acompanhavam as mães durante seus afazeres (BOSI et al., 2005).

Em 1856 surgiu o leite condensado. Utilizado inicialmente para alimentar soldados logo se tornou uma alternativa para alimentar também as crianças. Em 1857, Leibig desenvolveu uma farinha que adicionada ao leite de vaca gerava um alimento que, segundo ele, era “idêntico” ao leite materno. 20 anos mais tarde, em 1874, já estava disponível a primeira fórmula artificial utilizando leite em pó, farinha de trigo, malte e açúcar. Inúmeras foram as patentes com criação de fórmulas infantis. As mudanças sociais e econômicas e o aumento das campanhas publicitárias para estimular o consumo das fórmulas infantis a partir de 1919 proporcionaram uma queda enorme do número de crianças que eram amamentadas (CASTILHO et al., 2010).

Durante o século XIX iniciaram-se pesquisas para encontrar o substituto para o leite materno. Surge, então, o que se denominou de “cultura da mamadeira”; as indústrias utilizavam marketing para valorização de seus produtos substitutivos do leite materno, supervalorizando-os e evidenciando a semelhança ao leite materno e a facilidade de preparo. Entretanto, devido a variação diária do leite materno, torna-se impossível alcançar a semelhança nutricional por meio de fórmulas infantis (BOSI et al., 2005; EFSA, 2014).

Os maiores avanços da composição das fórmulas infantis ocorreram a partir do século XX com o intuito de se adequar cada vez mais as necessidades nutricionais dos recém-nascidos. Desde então é crescente o conhecimento dos impactos da qualidade da nutrição no início da vida no metabolismo e no desenvolvimento do indivíduo, assim como seus reflexos na vida adulta. Desde então a preocupação da adequação alimentar durante a vida intrauterina, lactação e infância, é cada vez maior. Observa-se que o leite humano é considerado padrão ideal para a criação das fórmulas infantis (CHUANG et al., 2013). Deste modo, considera-se que quando, por quaisquer motivos, a amamentação é impossibilitada o único alimento indicado para a substituição do leite materno são as fórmulas infantis, e, por isso, devem ser constantemente avaliadas (TINOCO et al., 2007; CASTILHO et al., 2010).

A alimentação complementar que corresponde em ofertar à criança novos alimentos além do leite materno quando este deixa de atender as

necessidades nutricionais devido ao desenvolvimento do indivíduo – é indicada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) somente a partir dos seis meses de vida. Há o entendimento de que em idades tenras o intestino das crianças é pouco desenvolvido e, portanto, não totalmente apto a digerir e absorver adequadamente certos nutrientes. O mesmo ocorre com o fígado dos neonatos que não consegue sintetizar certos tipos de ácidos graxos (poli-insaturados de cadeia longa). Devido a isso, a introdução precoce de novos alimentos pode deixar a criança vulnerável a diarreias, infecções e desnutrição (DIAS et al., 2010).

A industrialização crescente gerou novos hábitos alimentares e rotinas, atingindo a amamentação durante o século XX quando a indústria moderna introduziu o leite em pó que foi rapidamente absorvido pela população devido sua praticidade e intensas campanhas de incentivo (ANTUNES et al., 2008).

Existem diversas fórmulas infantis no mercado brasileiro, por exemplo, tem-se as fórmulas infantis para lactentes que devem ser utilizadas de 0 a 6 meses; as fórmulas infantis de seguimento para lactentes e primeira infância que são direcionadas as crianças com 6 meses à 3 anos de idade; as fórmulas infantis especiais: fórmulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância destinadas a necessidades dietoterápicas específicas.

Baseada no *Codex alimentarius*, a RDC número 43 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), dispõe que fórmula infantil para lactentes é o produto, em pó ou líquido, capaz de suprir por si só as necessidades nutricionais dos lactentes saudáveis, isto é, para as crianças de 0 a 6 meses de vida, embora lactentes sejam aquelas entre 0 e 12 meses (ANVISA, 2011).

Ademais, esta RDC determina os padrões de qualidade, composição essencial, requisitos e rotulagem destes produtos conforme demonstrado na tabela 3 e 4.

TABELA 3 Composição opcional de ácidos graxos em fórmulas infantis conforme RDC 43 (ANVISA, 2011).

Ácido graxo	Quantidade (100 mL do produto pronto para consumo)
DHA (ácido docosahexaenóico)	Máximo 0,5% do total de lipídeos.
ARA (ácido araquidônico)	Concentração deve ser pelo menos igual ao DHA.
ECA (ácido eicosapentaenoico)	Não pode exceder o conteúdo de DHA.

TABELA 4 Composição essencial de macronutrientes das fórmulas infantis conforme RDC 43 (ANVISA, 2011).

Nutriente	Quantidade (100 mL do produto pronto para consumo)
Calorias	60 – 70 kcal.
Proteína (do leite de vaca)	1,8 – 3,0 g / 100 kcal.
Proteína (de soja ou mistura desta com leite de vaca)	2,24 – 3,0 g / 100 kcal.
Gorduras totais	4,4- 6,0 g /100 kcal.
<i>Das quais:</i>	Máximo 20% do teor total de ácidos graxos.
Laurico e mirístico	Máximo de 3% do teor total de ácidos graxos.
<i>Trans</i>	Máximo 1% do teor total de ácidos graxos.
Ácido Erúcido	Máximo 1% do teor total de ácidos graxos.
Ácido linoleico	300 – 1400 mg /100 kcal.
Ácido alfa- linolênico	50- 100 mg /100 kcal.
Carboidratos	9,0- 14,0 g /100 kcal.

2.4- Lipídeos

Os lipídeos fazem parte da composição de diversos alimentos e possuem importante papel no desenvolvimento e manutenção da saúde, principalmente das crianças, pois asseguram a ingestão calórica adequada uma vez que fornecem 9 kcal por grama, enquanto os carboidratos e proteínas 4 kcal/ grama (BRASIL, 2005b).

São insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos como metanol, clorofórmio e éter. Recebem o nome de óleo quando são líquidos a temperatura ambiente e de gordura quando são sólidos a esta mesma temperatura (BOBBIO & BOBBIO, 2003; GIOIELLI, 198?)

Embora o excesso de ingestão de gorduras esteja ligado a doenças cardiovasculares, principalmente as gorduras saturadas, elas possuem grande relevância e são indispensáveis ao funcionamento adequado do sistema humano. São precursoras da formação de sais biliares, através do colesterol, que também está envolvido na estabilização das estruturas das membranas celulares, na produção de vitamina D e hormônios (FENNEMA et. al, 2010).

Quando sofrem esterificação, os lipídeos, compostos principalmente por triacilglicerol (ou triglicerídeo) geram de três ácidos graxos e glicerol, conforme representado na figura 2 (GIOIELLI, 198?; FENNEMA et al., 2010).

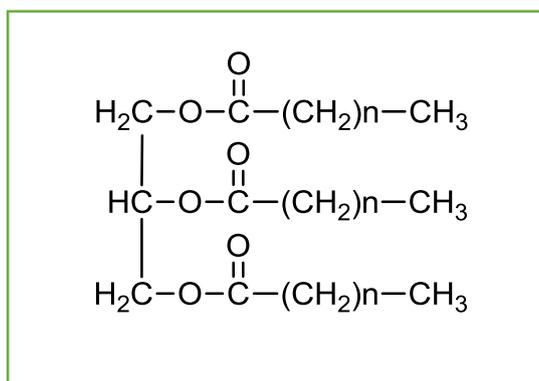


FIGURA 2 Molécula de triglicerídeo

Eles podem ser classificados em simples, compostos ou derivados. Os lipídeos simples são aqueles que, quando sofrem hidrólise total, geram somente ácidos graxos e álcoois. Já os compostos apresentam outras

substâncias em suas moléculas além dos ácidos graxos e dos álcoois como, por exemplo, os fosfolípides (componente das membranas celulares) que possuem ácido fosfórico e composto nitrogenado. Por último há derivados, que são substâncias obtidas pela hidrólise dos lipídeos simples e dos compostos, logo, além dos ácidos graxos e álcoois, encontram-se as vitaminas lipossolúveis e os pigmentos, por exemplo (BOBBIO & BOBBIO, 2003).

2.4.1- Os ácidos graxos

A quantidade de carbonos na cadeia hidrocarbonada dos ácidos graxos define o tamanho da cadeia que pode ser curta, média ou longa.

O tamanho da cadeia, juntamente com o grau de insaturações da molécula determina as propriedades físicas importantes dos ácidos graxos (BOBBIO & BOBBIO, 2003). Por exemplo, conforme representado na figura 3, o azeite de oliva, líquido a temperatura ambiente, possui mais ácidos graxos insaturados de cadeia longa, enquanto a maior proporção de ácidos graxos saturados de cadeia longa na manteiga a torna um sólido mole a temperatura ambiente e, a gordura da carne bovina, que possui ainda mais ácidos graxos saturados de cadeia longa, é um sólido duro a temperatura ambiente (LEHNINGER, 2011).

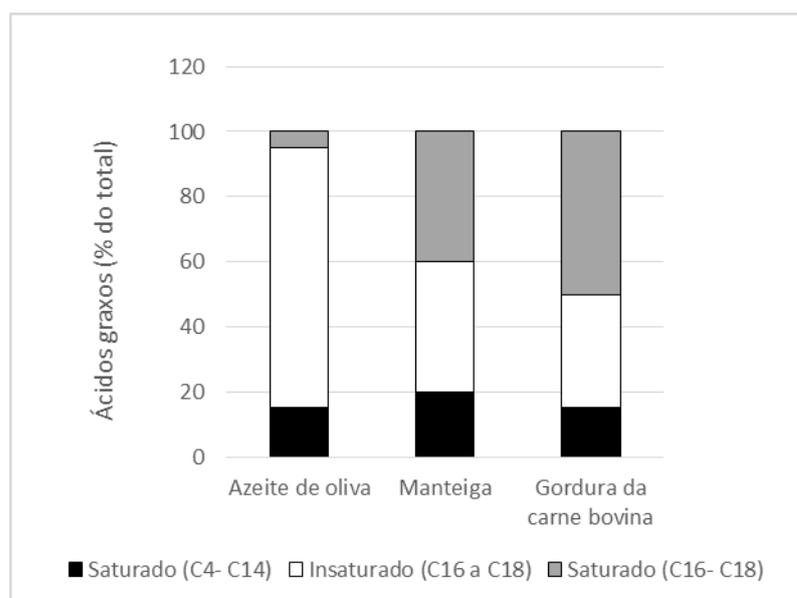


FIGURA 3 Composição de ácidos graxos de três fontes alimentares

Fonte: LEHNINGER, 2011.

2.4.1.1- Ácidos graxos essenciais (AGE)

O corpo humano consegue sintetizar quase todos os ácidos graxos a partir de carboidratos e proteínas, entretanto, os ácidos graxos linoleico e linolênico possuem insaturações antes do carbono 9 as o nosso organismo é incapaz de inserir. Portanto a única fonte desses ácidos graxos se dá através dos alimentos (FEFERBAUM, 2005).

A Organização Mundial da Saúde reconhece como AGE o ácido graxo linoleico, araquidônico, γ -linolênico e α -linolênico. Estes ácidos graxos possuem funções importantes, por exemplo, de transporte e oxidação de colesterol, componentes de fosfolípidos da membrana celular e são precursores dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPI – CL), representado na figura 4 (FERREIRA et al., 2013; FEFERBAUM, 2005).

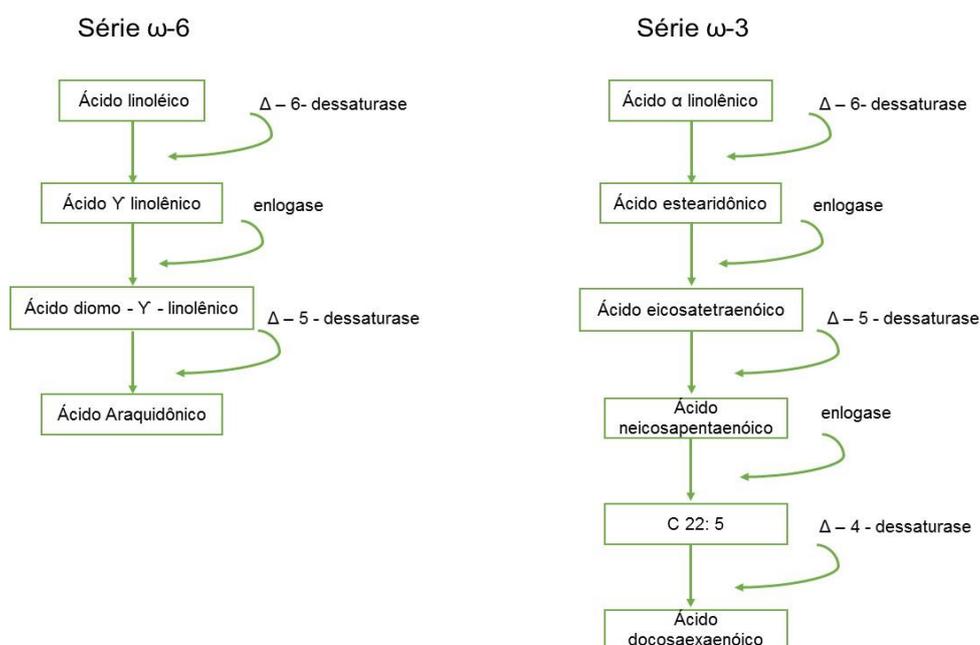


FIGURA 4 Composição de ácidos graxos de três fontes alimentares

Fonte: FEFERBAUM, 2005.

2.4.1.2- Ácidos graxos insaturados

Os ácidos graxos insaturados são classificados de acordo com o número de insaturações na molécula. Quando apresenta apenas uma dupla ligação é chamado de monoinsaturado e quando apresenta mais de duas, é chamado de poli-insaturado, representado na figura 5.

Dentro do grupo dos poli-insaturado tem-se aqueles cujas insaturações encontram-se entre o terceiro e o quarto carbono, conhecidos como ômega-3 (ácido linoleico – ALA).

Pin Su et al. (2015) concluíram que há evidências clínicas sobre os benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados na prevenção de transtornos de humor, ansiedade, distúrbio bipolar, devido aos seus efeitos na neurotransmissão, neuro proteção e anti-inflamação.

Whelan et al. (2015) evidenciam que os ácidos graxos poli-insaturados da série ω -3, podem modificar o antígeno de células B, níveis de citocinas e produção de anticorpos. Estes resultados possuem grande implicações para tratamento de doenças infecciosas.

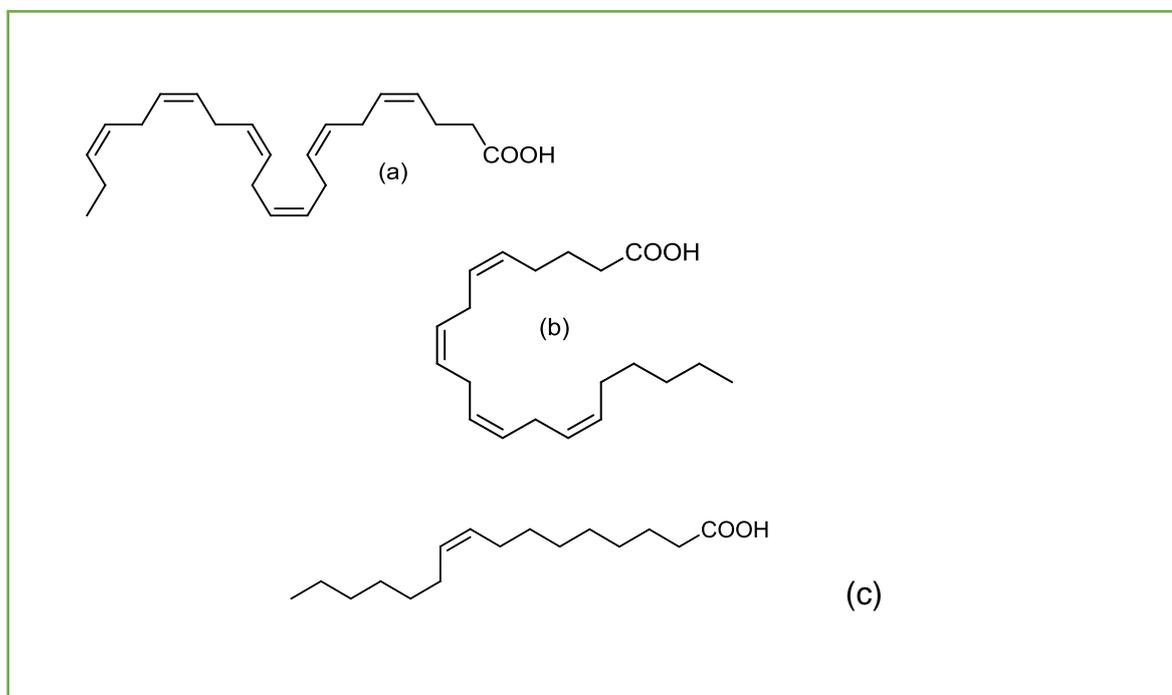


FIGURA 5 Molécula de ácido graxo DHA (a), ARA (b) e palmitoleico (c).

2.4.1.3- Ácidos graxos saturados (AGS)

Os AGS, representados na figura 6, estão presentes naturalmente na dieta. São fontes desse ácido graxo as gorduras de origem animal (carnes, leite e derivados) e, também, algumas gorduras vegetais como coco e cacau (LOTTEMBERG, 2009). Os principais representantes deste grupo, isto é, os mais abundantes na natureza são o láurico, palmítico e esteárico (BOBBIO & BOBBIO, 2003).

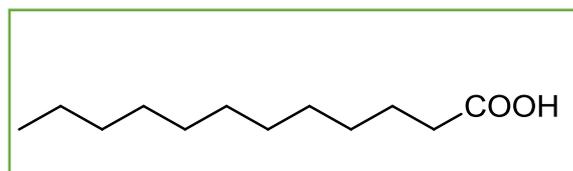


FIGURA 6 Molécula de ácido láurico.

2.4.1.4- Ácidos graxos *trans* (AGT)

Os ácidos graxos *trans* ocorrem naturalmente em animais ruminantes, mas são sintetizados pela indústria alimentícia, através da hidrogenação parcial de óleos vegetais, para aumentar o prazo de validade dos óleos, evitando processos de oxidação e rancificação lipídica, e aumentar a estabilidade à altas temperaturas. (SABARENSE, 2003; LEHNINGER, 2011).

O processo de hidrogenação dos óleos converte muitas ligações duplas de conformação *cis*, em ligações simples para aumentar o ponto de fusão do óleo. Com isso, a molécula muda sua conformação e algumas ligações *cis* se tornam *trans*. Sob ponto de vista nutricional a “nova” gordura, chamada de gordura *trans* aumenta o colesterol LDL e abaixa o colesterol HDL, aumentando a resposta inflamatória do corpo, ocasionando maior incidência de doenças cardiovasculares (LEHNINGER, 2011).

Brouwer et al. (2013) reviram as evidências de estudos sobre a influência dos ácidos graxos *trans* na saúde humana. Todos os AGT têm efeitos prejudiciais e a baixa ingestão reduz o risco de doenças cardiovasculares. Os AGT que ocorrem naturalmente em produtos animais como leite e carne, parecem ter pouca influência no aumento do risco de doenças cardiovasculares. Em contrapartida os AGT industriais têm demonstrado grandes efeitos negativos na saúde ressaltando a importância de se desenvolver produtos alimentícios sem este tipo de ácido graxo.

Há evidências que o consumo excessivo de gorduras *trans* podem diminuir a atividade de algumas enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturase, importante para o metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa como o DHA (MARTIN et al., 2006). A figura 7 representa a estrutura de dois isômeros do ácido oleico, *cis* e *trans*.

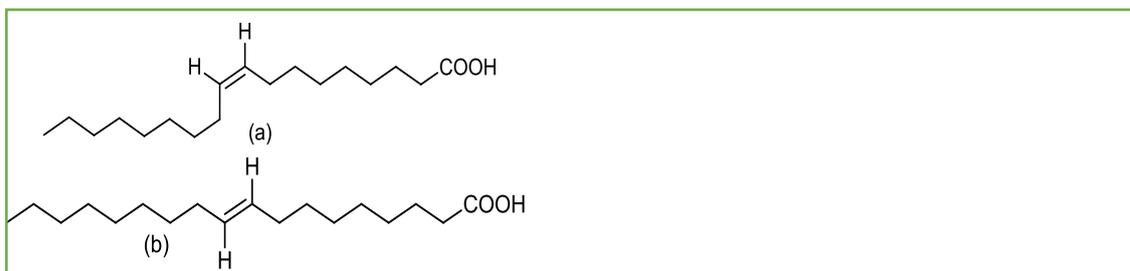


FIGURA 7 Molécula do ácido oleico *cis* (a) e *trans* (b).

A tabela 5 representa os principais ácidos graxos e as características de suas cadeias hidrocarbonadas.

TABELA 5 Classificação e exemplo de ácidos graxos.

Tamanho da cadeia	Saturado	Monoinsaturado	Poli-insaturado
Curta	Propiônico (C 2:0)		
	Butírico (C 4:0)		
	Capróico (C 6:0)		
Média	Caprílico (C 8:0)		
	Láurico (C 12:0)		
Longa	Mirístico (C 14:0)	Oleico (C 18:1 – n9)	Linoleico (C18:2 – n6)
	Palmitico (C 16:0)	Palmitoléico (C 16:1 n7)	Y- Linoleico (C18:2 – n6)
	Esteárico (C 18:0)		α -Linolênico (C18:3 – n3)
	Araquídico (C 20:0)		Eicosaenóico (C 20:1 – n9)
	Lignocérico (C 24:0)		Araquidônico (C 20:4 – n3)
			Docosaexaenóico (C 22:6 – n3)

Fonte: FEFERBAUM, 2005

2.5- LACTENTES E LIPÍDEOS

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPI-CL) têm influência positiva para a saúde do feto e da criança, principalmente no desenvolvimento da visão e neuronal, que ocorre nos primeiros anos de vida (CAMPOY et al., 2010; LOPÉZ et al., 2014).

Os ácidos linoleico (LA) e linolênico (ALA), são precursores dos AGPI-CL ácidos araquidônico (ARA), docosaexaenoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) (KUS et al., 2011). As enzimas responsáveis pela transformação dos AGE em AGPI-CL estão presentes, de forma precoce, no fígado fetal, porém, com baixa atividade. Portanto, a principal captação destes ácidos graxos se faz intrauterina através do transporte placentário e através do leite materno (CAMPOY et al., 2010; KUS et al., 2011).

Os AGPI-CL de origem dietética da mãe, são absorvidos no lúmen intestinal, sofrem reesterificação em triacilgliceróis e entram na corrente sanguínea como quilomícrons, sendo transferidos para as glândulas mamárias pela ação da lipase lipoproteica e, em seguida, fazem parte do leite materno (TINOCO et al., 2011). Todavia, a principal fonte de AGPI-CL materna para o feto, embora a alimentação seja muito importante, se dá através dos estoques corporais da mãe (TINOCO et al., 2011).

O cérebro e retina são os locais em que se encontram maiores concentrações dos AGPI-CL, assim como as membranas celulares, permitindo seu funcionamento adequado de elasticidade e permeabilidade em todos os tecidos do corpo (CAMPOY et al., 2010). Além disto, os ácidos graxos, especialmente o araquidônico, são substratos para formação de eicosanoides que participam ativamente na imunidade, inflamação, pressão arterial e coagulação (CAMPOY et al., 2010).

O DHA participa da neurogênese, sinpatogênese, mielinização e na migração dos neurônios. Também, na retina, permite a transformação visual em sinal elétrico nos fotorreceptores (LOPÉZ et al., 2014).

O período entre o nascimento até os dois anos de idade é crítico para a promoção do crescimento, desenvolvimento e saúde da criança, por este motivo torna-se imprescindível a alimentação adequada em qualidade e quantidade (PESSANHA, 2010).

Durante a digestão, as lipases pancreáticas, que hidrolisam os AGP-CL, encontram-se em baixos níveis nos recém-nascidos e alcança valores iguais aos de adulto a partir dos 6 meses de idade (KODA, 2005). Além disto, os lactentes possuem baixas concentrações de sais biliares, o que poderia ocasionar menor hidrólise dos lipídeos. Entretanto, os lactentes conseguem absorver de 70 a 95% das gorduras, o que pode ser explicado pelas lipases contidas no leite humano (KODA, 2005).

Uma delas, a lipase estimulada pelos sais biliares (BSSL), resiste ao pH ácido do estômago e atua no duodeno, hidrolisando os triglicerídeos do leite, mesmo sob baixas concentrações de sais biliares, formando ácidos graxos livres de fácil absorção pelos enterócitos (KODA, 2005; WHO, 2010).

Na tabela 6 encontra-se a representação da concentração dos ácidos graxos provenientes de diferentes fontes animal e vegetal comumente utilizadas na produção de fórmulas infantis.

TABELA 6 Composição dos ácidos graxos dos principais ingredientes utilizados nas fórmulas infantis em comparação com o leite Humano.

Ácido Graxo	Leite Humano (%)	Leite de Vaca (%)	Leite de Cabra (%)	Óleo de Soja (%)	Óleo de Canola (%)	Óleo de Girassol (%)	Óleo de Palma (%)
AGS ¹	45- 46	53- 84	62-79	16	7	10	49
MUFA ²	35- 40	13- 42	17- 29	23	63	20-45	37
PUFA ³	14-19	2-4	3-6	58	28	40 -66	9
LA ⁴	10 – 15	1 – 2	1,5 - 4	50	18	40 - 66	9
ARA ⁵	0,7 – 1,1	0,1					
ALA ⁶	0,1 – 2,0	0,2- 1,3	0,25- 1,3	7	9	0 – 0,2	0,2
DHA ⁷	0,2- 0,5						

Fonte: EFSA, 2014;

¹Ácido graxo saturado; ²Ácido graxo monoinsaturado; ³ Ácido graxo poli-insaturado; ⁴ Ácido graxo linoleico; ⁵ Araquidônico; ⁶ α- linolênico; ⁷Docosahexaenoico

2.6- MÉTODOS DE ANÁLISE DE LIPÍDEOS

2.6.1 Métodos de extração de lipídeos

A extração de gordura é importante para estudos bioquímicos, fisiológicos, nutricionais e para composição dos alimentos. É essencial que os métodos tenham exatidão e precisão pois, além da rotulagem, são utilizados para avaliar o padrão de identidade e qualidade do produto (NIELSEN, 2010; BRUM et al., 2009).

O impacto que os ácidos graxos possuem na saúde corrobora com a importância de se estudar o perfil das gorduras nos alimentos para todas as faixas etárias da população.

Existem diversos métodos de extração de gorduras, entretanto, sua escolha deve ser baseada na matriz a ser analisada, a composição lipídica existente no alimento e, deve se levar em conta o método oficial. Assim, não existe um método único para extração de todos os tipos de lipídeos presente nas mais variadas fontes alimentares. (NIELSEN, 2010; CECCHI, 2003).

Alimentos complexos, cuja gordura está ligada à outros compostos como proteínas e carboidratos, como no caso das fórmulas infantis e outros produtos lácteos, é importante que haja liberação da gordura por meio de hidrólise ácida ou alcalina (CECCHI, 2003).

A precisão da extração por solventes direta, sem hidrólise, depende da solubilidade dos lipídeos e da capacidade de os solventes separá-los de complexos envolvendo outras macromoléculas, os valores obtidos podem ser questionados por fornecer valores irreais. Por este motivo, recomenda-se o preparo da amostra através de remoção de água, redução do tamanho das partículas e disponibilização do lipídeo para que a extração seja plena (CECCHI, 2003).

A tabela 7 mostra os métodos gravimétricos mais utilizados para análise de lipídeos totais:

TABELA 7 Principais métodos gravimétricos de extração de lipídeos para análise de lipídeos totais.

Método	Reagentes	Característica
Goldfish	Éter etílico	Extração contínua, exige equipamento específico; pode gerar extração incompleta.
Soxhlet	Éter etílico	Método de extração semi- contínua; método oficial para gorduras totais em cereais; pode gerar peróxidos; exige equipamento específico.
Clorofórmio – Metanol (Bleigh & Dyer)	Clorofórmio, metanol e	Extração à frio; utilizada para amostras complexas com baixa proporção de gorduras e alto teor de umidade; reagentes altamente tóxicos.
Babcock	Ácido sulfúrico	Não é aplicável para produtos que tenham chocolate ou açúcar; o ácido sulfúrico digere as proteínas.
Gerber	Ácido sulfúrico; álcool isoamílico;	Método semelhante ao de Babcock, porém mais simples e rápido; utilizado para extração de lipídeos do leite; o álcool isoamílico impede a carbonização dos açúcares, diferente do método original (Babcock).
AOAC (986.25), IDF e ISO (1736: 2008). (Roese Gottlieb)	NH ₄ OH, etanol, éter etílico, éter de petróleo.	Este método é muito semelhante ao Mojonier; Inicialmente foi utilizado para determinar lipídeos em leite; é o método oficial da AOAC para lipídeos em fórmulas infantis; é aplicável para outros alimentos; o NH ₄ OH dissolve proteínas disponibilizando os lipídeos para extração efetiva. É o método oficial para a AOAC, ISO e IDF.

Fonte: KUS et al., 2007; NIELSEN, 2010; ISO 1736, 2008; AOAC 986.25, 2012; BRUM et al., 2009

A proporção entre soluto e solvente deve ser ideal para otimizar a extração e, em geral, os solventes ideais, segundo Nilsen (2010), devem reagir muito com os lipídeos e pouco com proteínas e carboidratos. Estes também devem possuir baixa toxicidade, evaporar rapidamente sem deixar resíduo, ou seja, possuir baixo ponto de ebulição, não ser inflamável e ser barato. É difícil

encontrar um solvente que atenda a todos os requisitos, porém os mais utilizados são éter etílico, éter de petróleo, hexano e pentano.

2.6.2- Métodos de esterificação e transesterificação de lipídeos

A formação dos ésteres de ácido graxo se dá através de dois mecanismos: hidrólise e esterificação ou transesterificação, que são representadas pela figura 8.

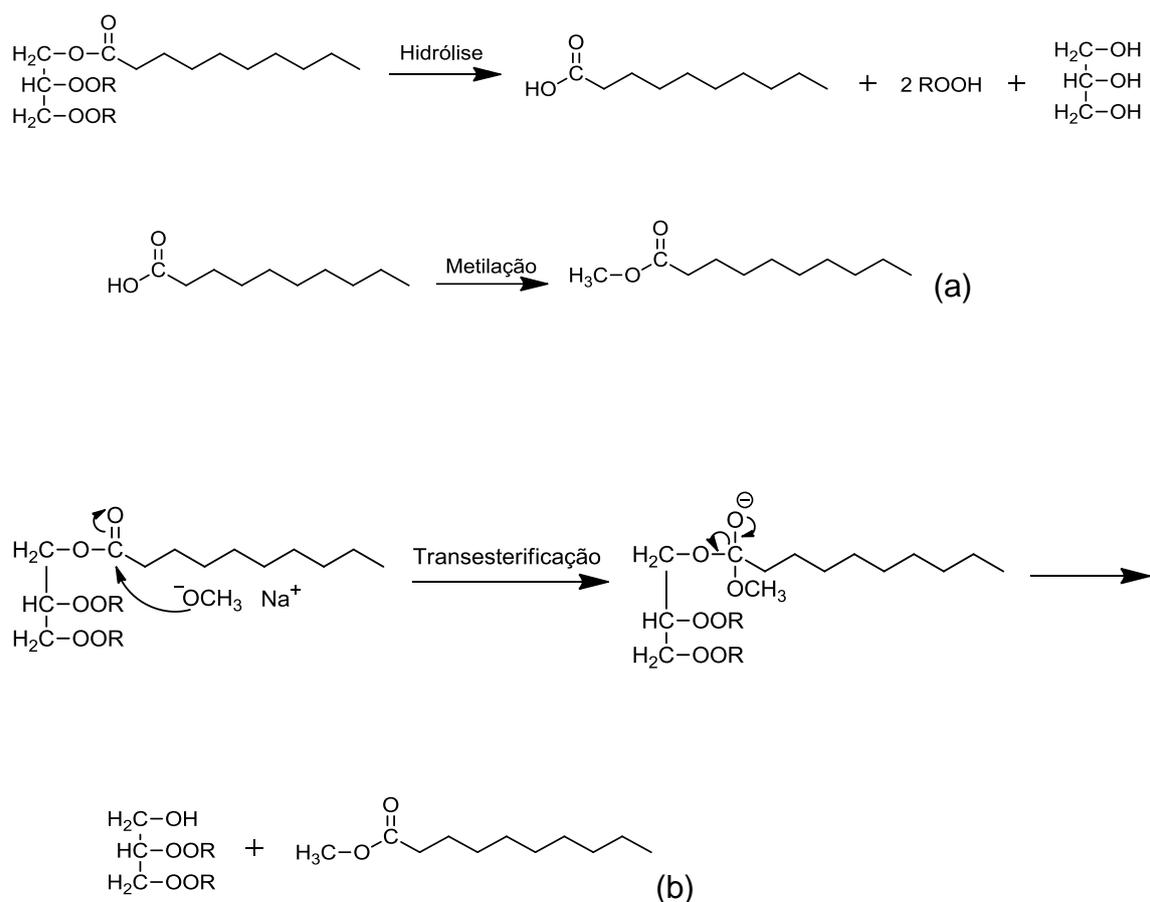


FIGURA 8 Esterificação (a) e transesterificação (b) de ácidos graxos.

A esterificação ocorre através da reação entre o ácido graxo e um álcool, gerando éster e água (BOBBIO & BOBBIO, 2003; AUED-PIMENTEL et al., 2007).

O ponto crítico tanto da transesterificação quanto da esterificação é a escolha do catalizador para que não haja efeitos indesejados. A catálise pode ocorrer em meio ácido ou básico (CHRISTIE, 1993).

Na tabela 8, encontra-se representado os principais métodos de esterificação e transesterificação.

TABELA 8 Métodos de esterificação

Método	Reagentes	Característica
Hartman & Lago	Hidróxido de sódio em metanol, cloreto de amônio em metanol, ácido sulfúrico, éter de petróleo.	Necessita aquecimento o que pode modificar as características dos lipídeos; catálise ácida
AOAC	Trifluoreto de boro em metanol e hidróxido de sódio.	Ocorre em aquecimento; demorado; trifluoreto de boro é muito instável; nem todas as gorduras sofrem esterificação; catálise ácida.
ISO/ Adolfo Lutz	Hidróxido de potássio em metanol, cloreto de sódio, hexano.	Rápida; ocorre à frio; óleos e gorduras de origem animal e vegetal; indicado para amostras com 4 ou mais átomos de carbono;
Adolfo Lutz/ Maia & Rodrigues-Amaya	Hidróxido de sódio em metanol, cloreto de sódio, ácido sulfúrico, cloreto de amônio.	Semelhante ao método de Hartman & Lago; também necessita aquecimento; indicado apenas para amostras com 8 ou mais átomos de carbono.
AOAC/ ISO	Metóxido de sódio, MTBE, hexano,	Método sem necessidade de extração prévia da gordura como os demais métodos; rápido; catálise básica.

Fonte: HARTMAN & LAGO, 1973; GOLAY et al., 2016; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008.

A maior parte dos métodos de esterificação necessita de extração prévia de gordura que delonga muito as análises e são utilizadas grandes quantidades de reagentes que desfavorece o custo da análise e o meio-ambiente. Mas a transesterificação utilizando metóxido de sódio é muito valioso pois a reação ocorre de forma rápida e com baixo volume de reagente (CHRISTIE, 1993).

2.6.3- Métodos de análise de ácidos graxos em cromatografia gasosa

A cromatografia é uma ferramenta para separação de misturas, pode combinar análise quantitativa e qualitativa (CECCHI 2003). Collins (2006) define a cromatografia:

É um método físico-químico de separação de componentes de uma mistura, realizada através da distribuição desses componentes em duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a estacionária, os componentes da mistura são distribuídos pelas duas fases de tal forma que cada um deles é seletivamente retido pela fase estacionária, o que resulta em migrações diferenciais desses componentes.

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica com alto poder de resolução, sendo possível a detecção de muitas substâncias em uma única amostra. Sua alta sensibilidade permite análise quantitativa em baixas concentrações que variam de picograma a miligrama, também é capaz de separar e detectar diversos compostos simultaneamente. Por estes motivos, é muito utilizada por vários laboratórios de pesquisa, principalmente para compostos orgânicos. (BONATO, 2006; CECCHI, 2003).

A CG se baseia na técnica de separação de substâncias voláteis que são determinadas através do tempo de retenção entre uma fase estacionária da coluna cromatográfica e as substâncias das amostras para posterior detecção (VISENTAINER, 2006).

A injeção da amostra exige o uso de temperaturas convenientes para vaporizar as substâncias que serão retidas na fase estacionária de acordo com a polaridade de ambas. A amostra vaporizada é eluída através de um gás de arraste, que deve ser inerte (hélio, hidrogênio ou argônio), ao longo de toda coluna até chegar ao detector que emitirá um sinal que pode ser compilado para formar os cromatogramas (BONATO,2006).

Portanto, é importante que as substâncias a serem analisadas sejam voláteis ou volatilizáveis. Assim, os ácidos graxos devem ser transformados em seus derivados mais voláteis, os ésteres metílicos de ácidos graxos (VISENTAINER, 2006; BONATO, 2006).

A caracterização do perfil dos ácidos graxos é a principal análise para compreensão da composição de lipídeos (VISENTAINER, 2006).

A quantificação dos componentes de uma amostra separada através da cromatografia gasosa pode ser feita através da altura dos picos ou área dos picos. Acoplado ao CG\MS (cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas) há integradores eletrônicos que executam automaticamente este cálculo (CECCHI, 2003).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Amostragem e análise estatística

A amostragem foi composta por fórmulas infantis para lactentes de 0 a 6 meses com adição de DHA e ARA, disponíveis no mercado de Belo Horizonte. Após levantamento de mercado das marcas e produtos disponíveis, escolheu-se, aleatoriamente, um produto de cada marca, totalizando 4 produtos.

As análises para lipídeos totais foram realizadas em triplicata, a partir de três lotes diferentes. Os resultados de cada amostra foram comparados com os valores rotulados pelo teste de t , após a eliminação dos valores dispersos (*outliers*) pelo teste de Grubbs, adotando-se $\alpha = 0,05$ nos testes de hipótese.

Os testes de hipótese foram representados em gráficos do tipo *boxplot*, juntamente com os intervalos com 95% de confiança em torno das médias do teor de lipídeos dos produtos. A figura 9 destaca os parâmetros que foram estimados na análise e o significado de cada item que o compõem o gráfico.

Para o perfil e quantificação dos ácidos graxos, os três lotes foram analisados em duplicata e com duas injeções. Os valores quantificados foram comparados aos valores declarados nos rótulos pelo teste de t , após aplicação do teste de Grubbs para a eliminação de dispersos (GRUBBS, 1969; BURKE, 2005).

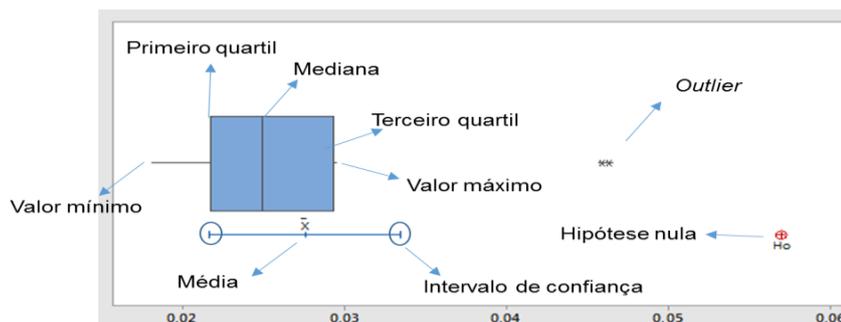


FIGURA 9 Representação gráfica do teste de hipótese por meio de gráfico do tipo Boxplot

3.2- Material

- Balança analítica Shimadzu AUX2230;
- Banho- maria nova ética 314- 8DN;
- Centrífuga universal de Gerber com aquecimento;
- Estufa FANEM 315 SE;
- Agitador de tubos Phoenix AP56
- Frascos de Mojonnier;
- Micropipeta de 200 μL ;
- Pipetas volumétricas de 2; 5 e 10 mL;
- Centrífuga Jouan BR4
- Agitador magnético Fisatom 752

Reagentes:

- Água ultra pura;
- Álcool etílico P.A;
- Éter etílico P.A;
- Éter de petróleo P.A;
- Hidróxido de amônio 25%;
- Vermelho congo;
- Hexano;
- Metóxido de sódio 30% em metanol (5.4 M);
- Citrato de sódio sesquihidratado;
- Cloreto de sódio;
- Éter metil Tert-Butilico (MTBE);
- Padrão interno metil undecanoato (C 11:0);

m) Padrão interno tritridecanoín (C 13:0);

n) Padrão de ésteres metílicos;

3.3 Métodos

Na extração de lipídeos, para avaliar gorduras totais, optou-se pelo método Roese Gottlieb que é demonstrado na figura 10. Trata-se de um método normalizado para fórmulas infantis pela AOAC 986.25 (2012) e ISO 1736 (2008). Neste método, o hidróxido de amônio desnatura a caseína e quebra a emulsão caseína- gordura tornando a extração lipídica mais eficiente. Posteriormente, extraíram-se os lipídeos com éter de petróleo e etílico três vezes.

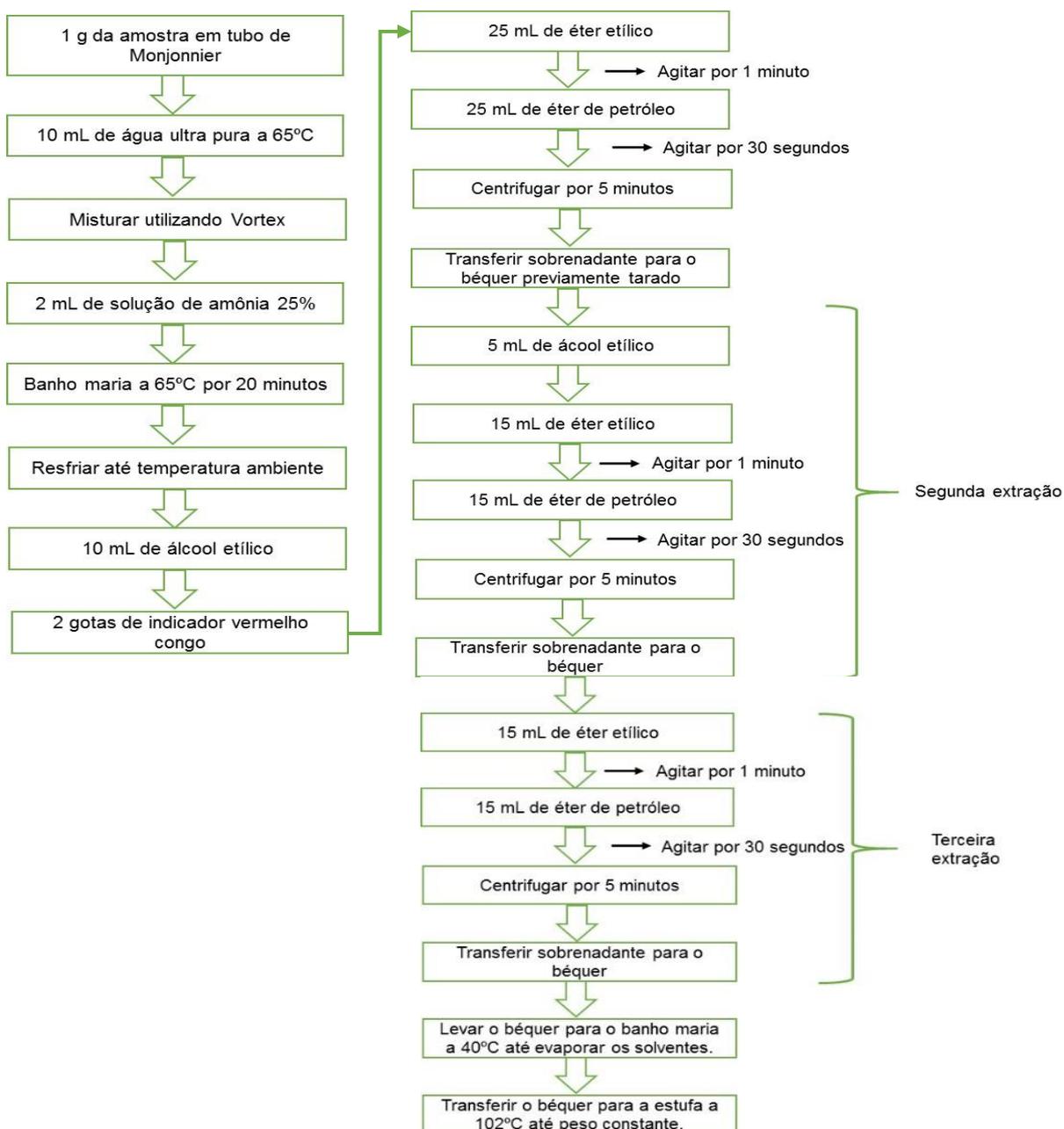


FIGURA 10 Fluxograma do método de extração de lipídeos por Roese Gottlieb.

Após secagem em estufa, o béquer, previamente zerado, deve ser pesado e o percentual de lipídeos se deu através da seguinte fórmula:

$$M_{gordura} = P_{final} - P_{inicial} \quad (1)$$

no qual P_{final} é o peso do béquer após secagem; $P_{inicial}$ é o peso do béquer zerado.

O percentual total de gordura $G(\%)$ presente na amostra foi obtida através da seguinte equação:

$$G(\%) = \frac{M_{gordura}}{M_{amostra}} \quad (2)$$

no qual $M_{amostra}$ é o peso da amostra.

Já a análise do perfil de ácidos graxos utilizou-se o método 2012.13 “*Determination of Labeled Fatty Acids Content in Milk Products and Infant Formula by Capillary Gas Chromatography*”, em que a transesterificação é feita direta, isto é, sem extração prévia da gordura resultando em método rápido e com pouco gasto de reagente, demonstrado na Figura 11. Além disto, é utilizado dois tipos de padrões C11:0 e C13:0 que avaliam, respectivamente, a eficiência da quantificação e a performance do método de esterificação (GOLAY et al., 2016).

Este método foi desenvolvido em parceria entre ISO e AOAC, para possuírem um método único e eficiente para determinação do conteúdo de ácidos graxos em produtos lácteos e fórmulas infantis através de análise em cromatografia gasosa (SULLIVAN, 2013).

O agente de esterificação, metóxido de sódio em metanol, é eficiente, os triacilgliceróis podem ser esterificados de 2 a 5 minutos. Porém sua degradação pode gerar bicarbonato de sódio, em contato oxigênio atmosférico

ou proveniente do metanol, e interferir diretamente na reação e na análise cromatográfica (CHRISTIE, 1993).

Pesou-se 0,193 g de fórmula infantil, que equivale, aproximadamente, a 50 mg de lipídeos, e diluiu-se em 2 mL de água ultrapura. Após 15 minutos adicionou-se 0,10 mg de padrão interno C:11 e de padrão C:13 e os diluiu em 5 mL de MTBE. Depois, adicionou-se metóxido de sódio com concentração de 5% e dá-se início à esterificação. Aos 3 minutos adicionou-se 2 mL de hexano e após 30 segundos, adicionou-se 10 mL de solução de neutralização, composta por 10% de citrato de sódio sesquihidratado e 15% de cloreto de sódio, diluídos em água ultrapura. Todo o processo não deve ultrapassar 4 minutos. Após centrifugar, pipetou-se 100 μ L e diluiu-se em 1 mL de hexano para posterior injeção no CG/MS. Este processo está demonstrado na figura 10.

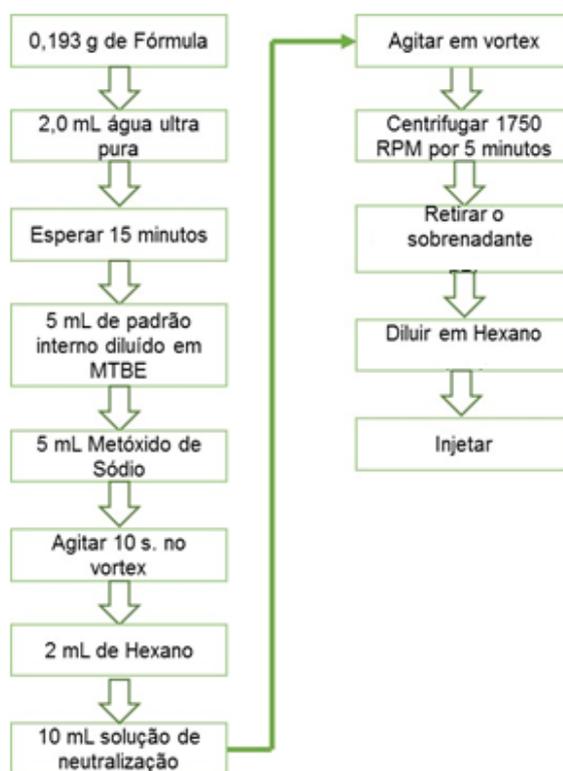


FIGURA 11 Fluxograma do método de transesterificação de lipídeos

As condições cromatográficas, demonstradas na Tabela 9, foram feitas através do método ISO 12966 modificado (ISO, 2015):

TABELA 9 Condições cromatográficas da análise de ácidos graxos

Parâmetro	Condições
Equipamento	CG Agilent
Fase móvel	Gás Hélio
Tipo de injeção	No overlap
Ciclo	GC-liq-054-V3
Seringa	10 µL
Volume de injeção	1 µL
Fluxo	1 mL/ min.
Tipo de injeção	Com divisão 10:1
Pressão	11554 bar.
Detector	MSD
Coluna	CP- 52 CB, 30m x 250µm x 0,25 µm
Evolução da temperatura:	
Temperatura inicial	120°C Tempo de retenção: 1 min. Tempo de corrida: 1 min.
Rampa 1	4°C/ min. até alcançar 240°C. Tempo de retenção: 12 min. Tempo de corrida: 43 min
Aquecedor auxiliar	240°C

A análise quantitativa se deu pela normalização da área corrigida com fator de resposta. O teor dos marcadores definidos foi calculado conforme a equação:

$$g \text{ Ácido graxo} = \frac{(m_D \times A_i \times Rf_i \times Si_{AG} \times 100)}{A_0 \times m} \quad (3)$$

em que g **Ácido graxo** é a quantidade final em gramas de ácidos graxos contidos em 100 gramas do produto; m_0 é a massa em miligramas do padrão interno (C11) adicionada à solução; A_1 área do pico do éster de ácido graxo analisado; Rf_1 fator de resposta; Si_{AG} fator estequiométrico de conversão de éster em ácido graxo, conforme demonstrado na tabela 9; A_0 área do pico do C11; m massa em miligramas da amostra.

TABELA 10 Fator estequiométrico de conversão

Marcador	Grupo/ Nome	Si_{AG}
C18:1	MUFA ω 9	0,953
C18:2	PUFA ω 6 (LA)	0,952
C18:3	PUFA ω 3 (ALA)	0,952
C20:4	PUFA – ARA	0,956
C20:5	PUFA – EPA	0,956
C20:6	PUFA – DHA	0,959

As análises qualitativas dos rótulos, conforme representado na tabela 11, deram-se de duas maneiras: (1) avaliação nutricional do rótulo em relação ao exigido pela RDC número 43 de 2011 e (2) análise da ingestão diária de acordo com a tabela de alimentação (proposta pelos fabricantes que se encontram nos rótulos), de modo comparativo ao que organismos internacionais recomendam como ingestão diária ideal para lactentes de 0 a 6 meses. Além disto, realizou-se análise qualitativa comparativa entre os valores de ácidos graxos das fórmulas infantis, os descritos no rótulo e nas análises gravimétricas, e aqueles presentes no leite humano, de acordo com descrito na literatura.

TABELA 11 Resumo das análises realizadas

Análise	Método utilizado	Análise estatística
Lípídeos totais	Roese Gottlieb.	<i>Outliers</i> e teste de <i>t</i> .
Ácidos graxos	AOAC, 2016 e ISO 12966 (2015).	<i>Outliers</i> e teste de <i>t</i> .
Avaliação nutricional dos rótulos	Comparação entre rótulo e RDC número 43 de 2011.	-
Análise de ingestão diária	Comparação entre as tabelas de alimentação propostas nos rótulos e recomendação internacional (OMS, EFSA e DRI).	-
Análise comparativa qualitativa entre as fórmulas infantis e o leite humano	Comparação entre os resultados obtidos nas análises de lípídeos totais e ácidos graxos das fórmulas infantis e o leite humano.	-

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Análises de lipídeos totais e perfil de ácidos graxos

Na figura 12 estão representados os teores de lipídeos totais (médias \pm desvio padrão). O tratamento estatístico resultou também na retirada de dois *outliers* das amostras F1 e F2.

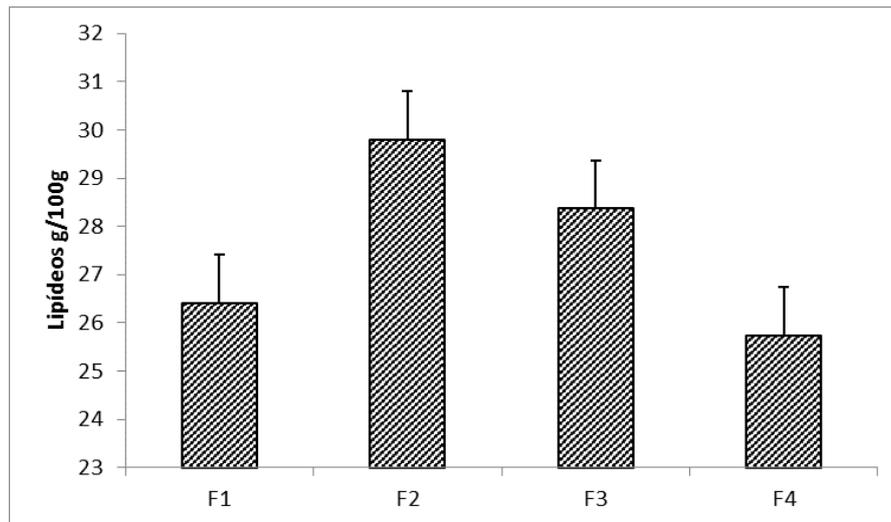


FIGURA 12 Representação dos resultados de lipídeos totais através do método gravimétrico Roese Gottlieb

Ao aplicar o teste de t para comparação das médias dos valores encontrados na análise com os descritos nos rótulos (ver tabela 11), observou-se que apenas na amostra F4 não houve diferença significativa, conforme demonstrado na figura 13.

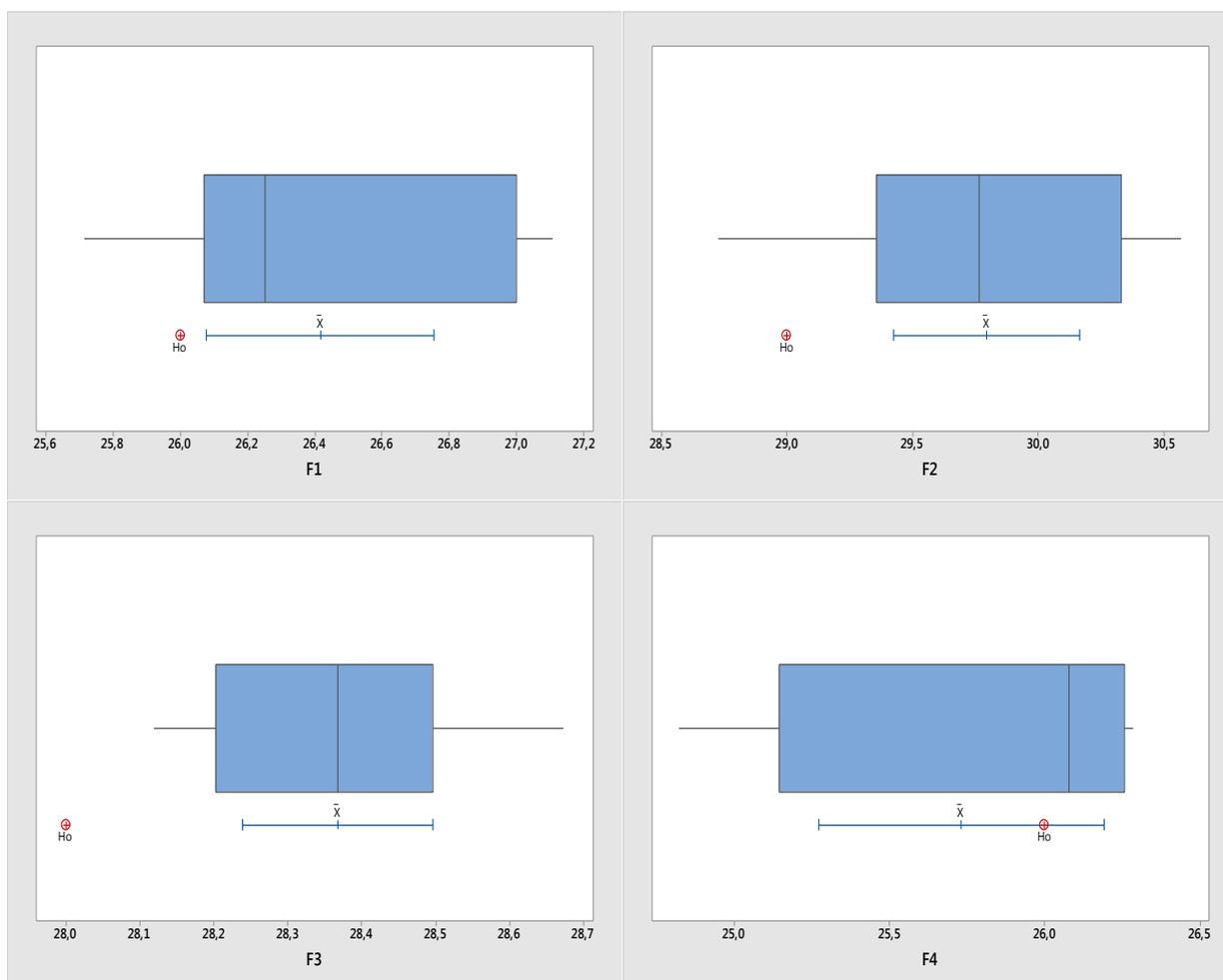


FIGURA 13 Representação do teste de t para análise de lipídeos totais das fórmulas: Fórmula 1 (F1), Fórmula 2 (F2), Fórmula 3 (F3) e Fórmula 4 (F4).

Entretanto, a RDC 360 de 2003, que dispõe sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, admite uma tolerância de 20% do valor nutricional, fazendo com que as fórmulas estejam dentro do limite previsto na legislação (BRASIL, 2003).

Os perfis dos ácidos graxos de cada amostra foram obtidos empregando-se análise instrumental, estão representados nos cromatogramas das Figuras 14, 15, 16 e 17. Nestes, os ácidos graxos C11:0 e C13:0 foram utilizados como padrões. Nota-se que os perfis se assemelham, porém há

variações nas concentrações dos ácidos graxos, conforme representado na tabela 12.

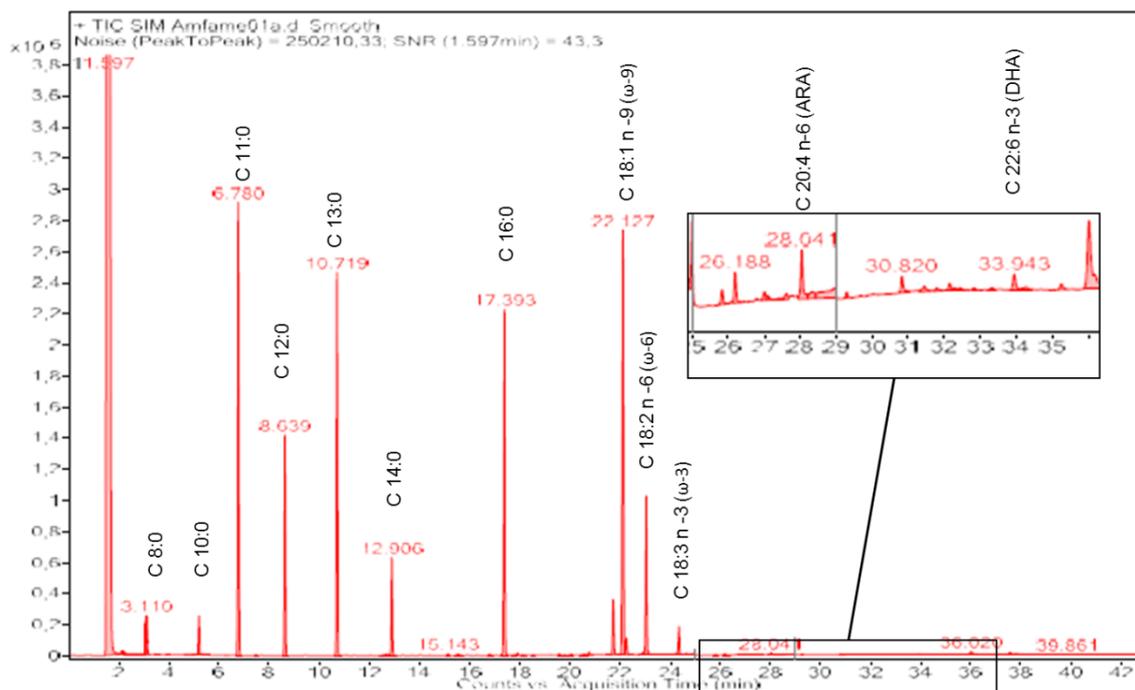


FIGURA 14 Cromatograma fórmula 1

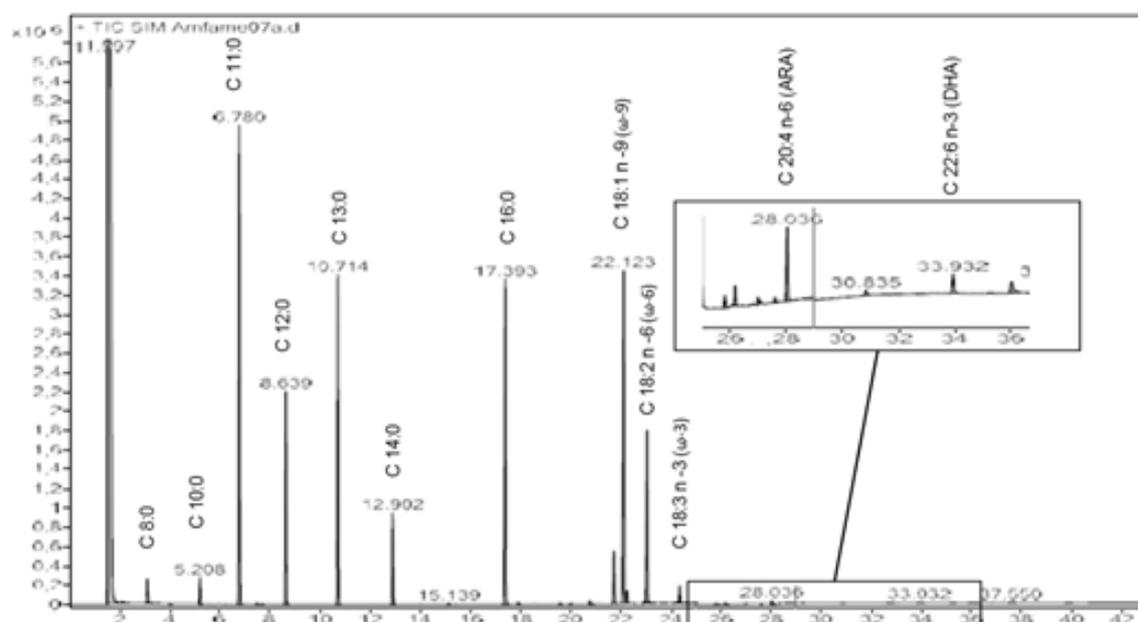


FIGURA 15 Cromatograma fórmula 2

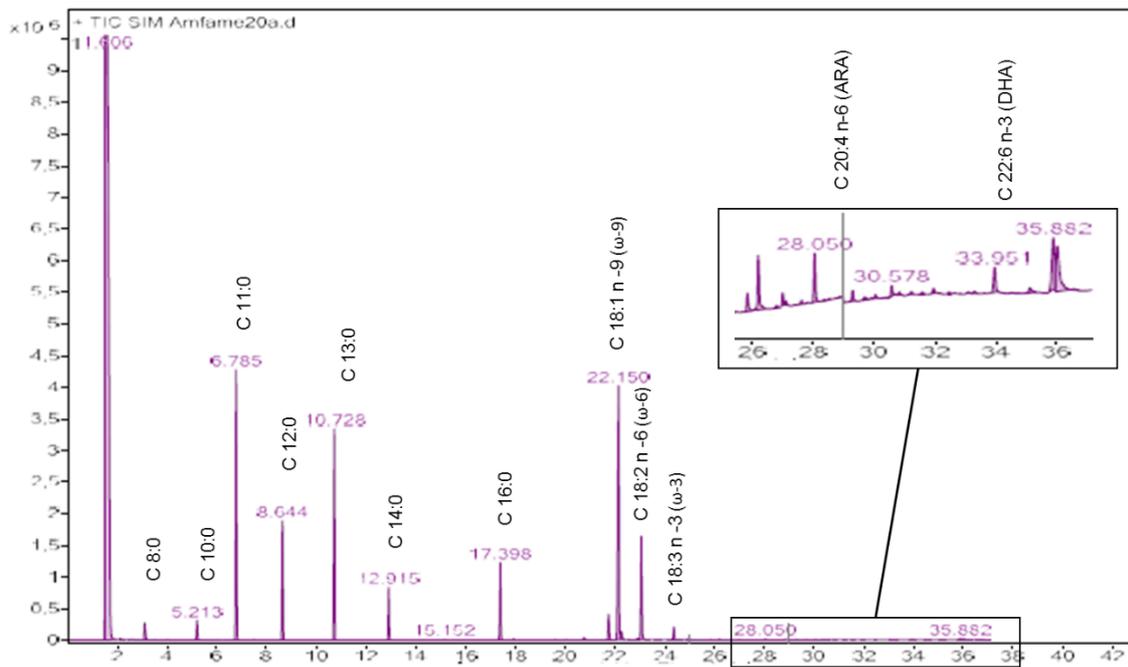


FIGURA 16 Cromatograma fórmula 3

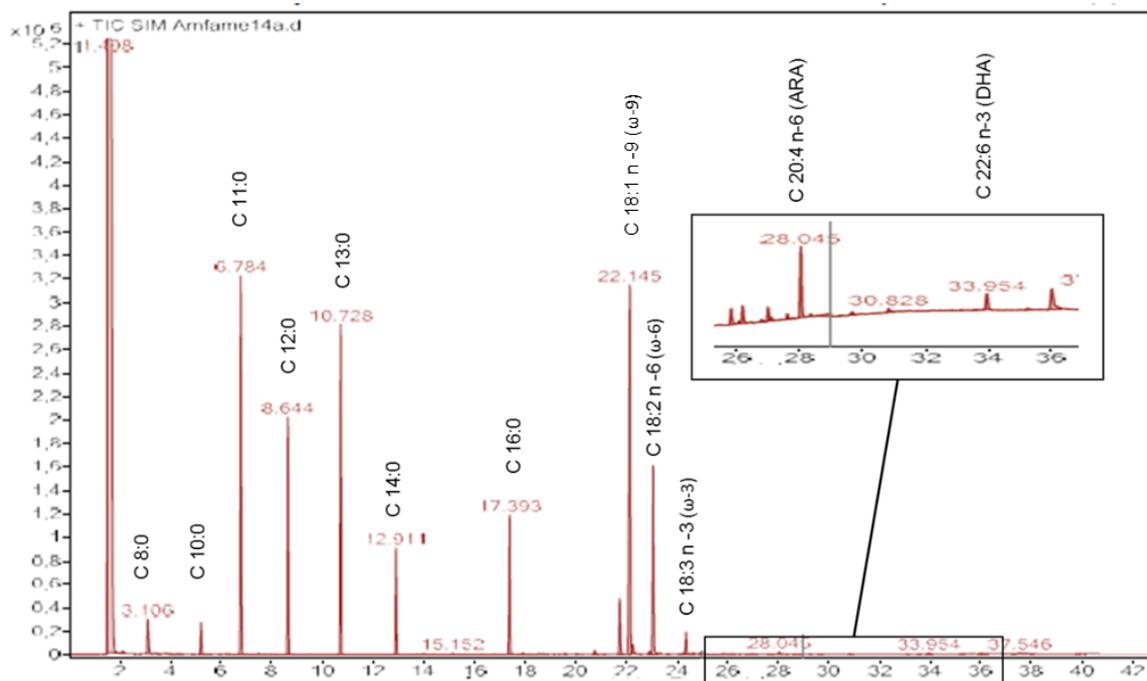


FIGURA 17 Cromatograma fórmula 4

TABELA 12 Concentração dos principais ácidos graxos das fórmulas infantis, leite materno e rótulo dos fabricantes ¹

Ácido Graxo	Leite Humano ²	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
ω 9 (oleico)	26,46	13,24	12,17	12,23	13,90
<i>rótulo</i>	-	*	*	*	*
ω 6 (LA)	20,96	4,72	5,82	6,16	5,81
<i>rótulo</i>	-	4,0	4,7	4,96	4,1
ω 3 (ALA)	1,54	0,84	0,61	0,67	0,61
<i>rótulo</i>	-	0,7	0,382	0,4	0,5
ARA	0,48	0,07	0,16	0,067	0,038
<i>rótulo</i>	-	0,091	0,178	0,107	0,06
DHA	0,09	0,03	0,040	0,028	0,027
<i>rótulo</i>	-	0,052	0,089	0,057	0,06

¹g/100g; ² (NISHIMURA, 2012); ³ (COSTA,2010); *Não declarado no rótulo;

Ao se comparar o teor de ácidos graxos entre o descrito nos rótulos das fórmulas infantis, os valores obtidos nas análises instrumentais e o teor dos mesmos, presentes no leite humano, observa-se diferença entre eles. O leite humano possui maior concentração de todos os ácidos graxos, conforme representado na tabela 12.

As concentrações dos ácidos graxos encontrados através das análises instrumentais, diferenciaram-se significativamente com o descrito no rótulo das fórmulas para os ácidos graxos linoleico (LA), α -linolênico (ALA), ARA e DHA, conforme representado nas figuras 18, 19, 20 e 21. Esta diferença variou, para DHA e ARA respectivamente, de 18% a 37,74% e 46% a 56% a menos do valor declarado no rótulo, conforme indicado na tabela 10. Sabendo-se que a diferença admitida pela RDC 360 de 2003 é de 20%, apenas uma fórmula (F1) está adequada quanto à quantidade de DHA e ARA. O mesmo ocorre em outros estudos, embora tenham utilizado cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas. Kus et al. (2011) encontraram variações de 21% a 513% de ARA e 21% a 36% de DHA foram relatadas e Lopéz et al. (2014) encontraram variações para DHA de 50% e de ARA 51,59%.

Observa-se que para LA e ALA os valores se diferenciaram para mais em relação ao declarado, porém apenas a fórmula F1 apresentou valor dentro da diferença de 20% prevista em lei, o que se mostrou diferente em outros estudos. Kus et al. (2011), encontraram alterações de LA e ALA de 27% a 50% e 26% a 82%, respectivamente, inferiores ao declarado nas informações nutricionais do fabricante. López et al. (2014), e também encontraram diferença de 75% a menos ao declarado no rótulo. O *boxplot* encontrou *outliers* que não foram considerados, pois não há justificativa para isto uma vez que para esta estatística utilizou-se o método de Grubbs.

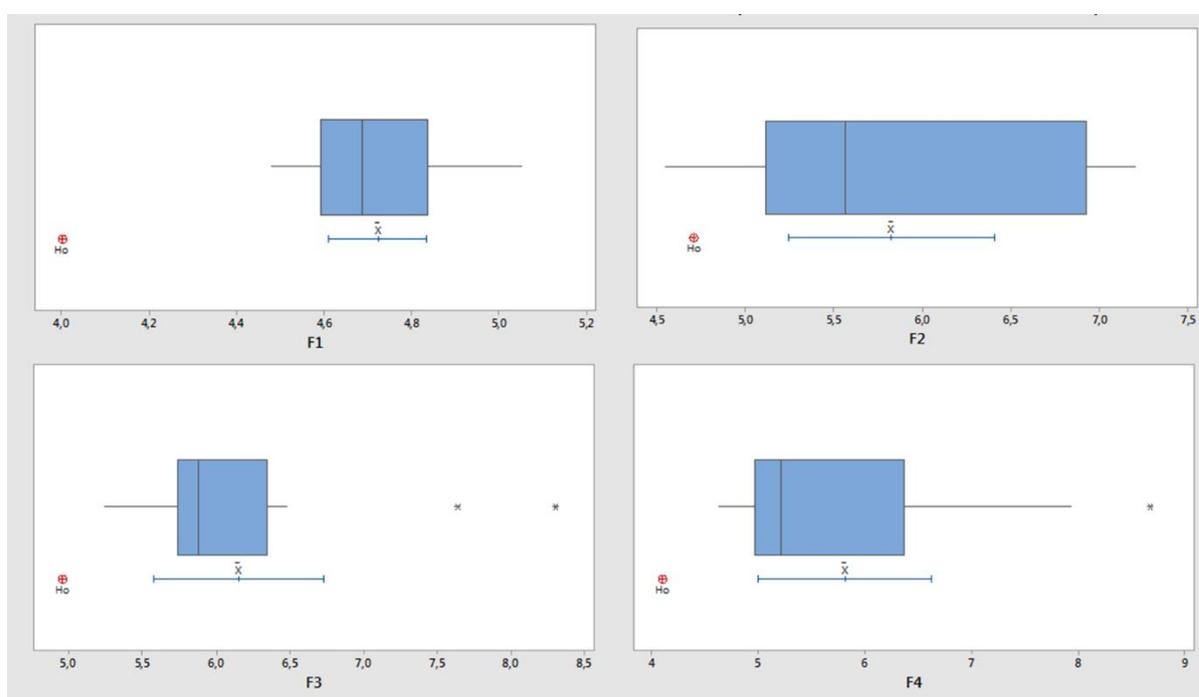
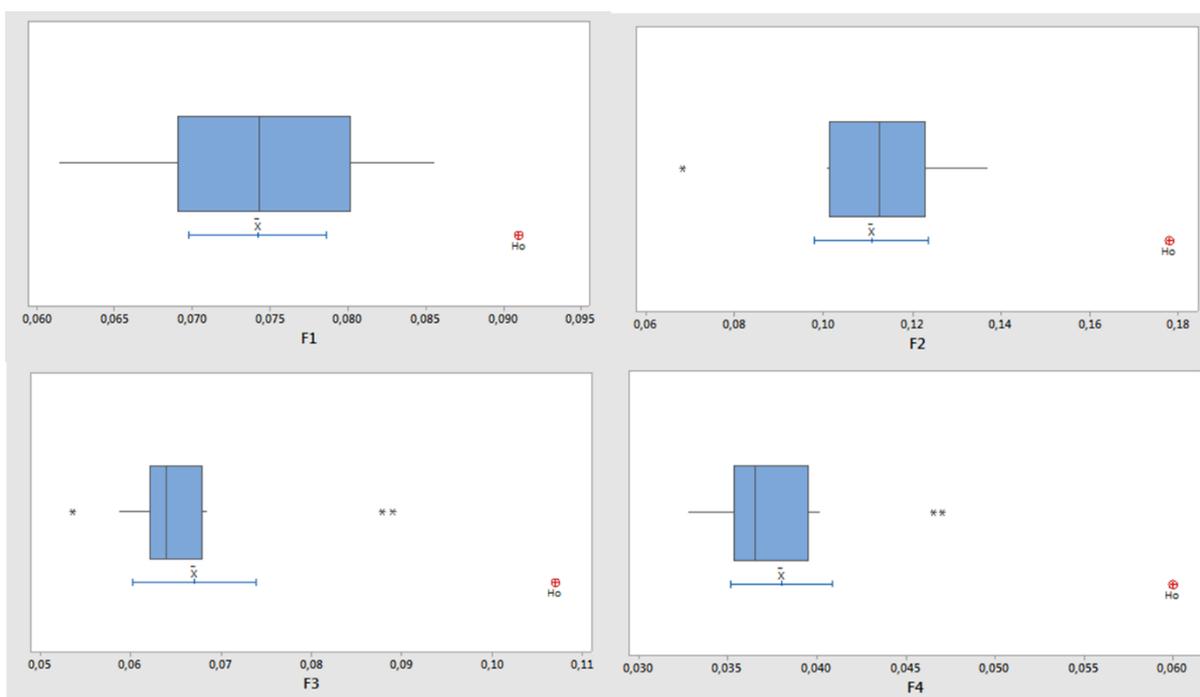
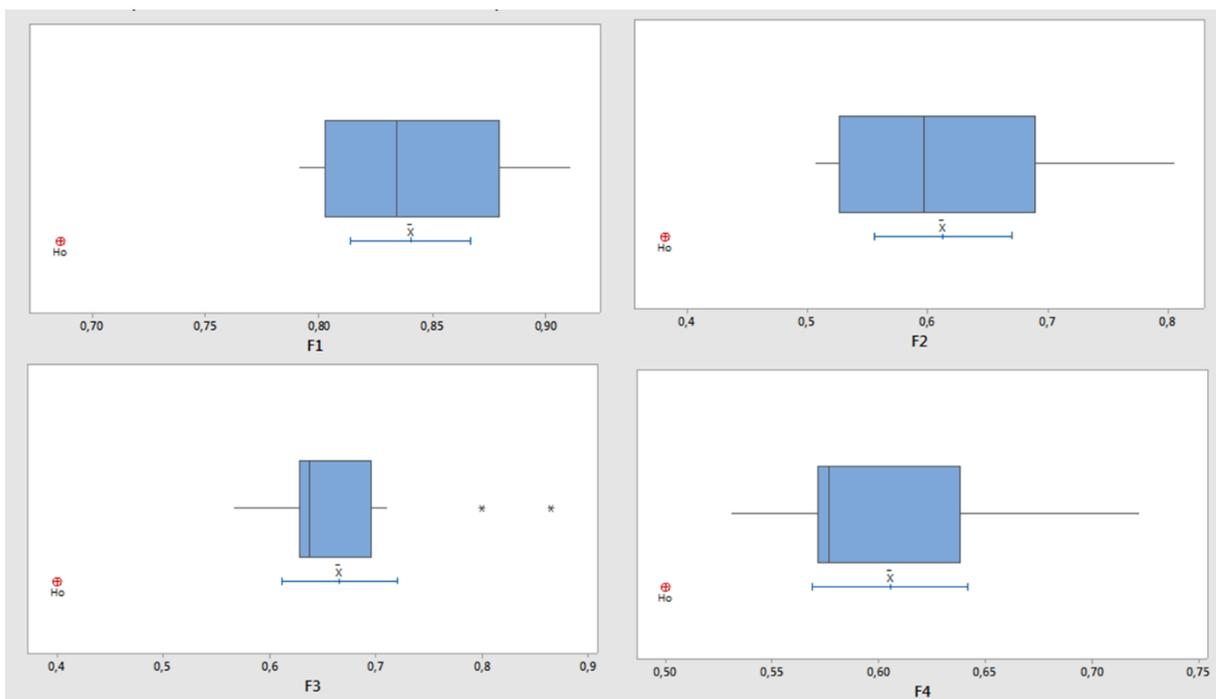


FIGURA 18 Representação do teste de t para análise de ácido graxo ω 6



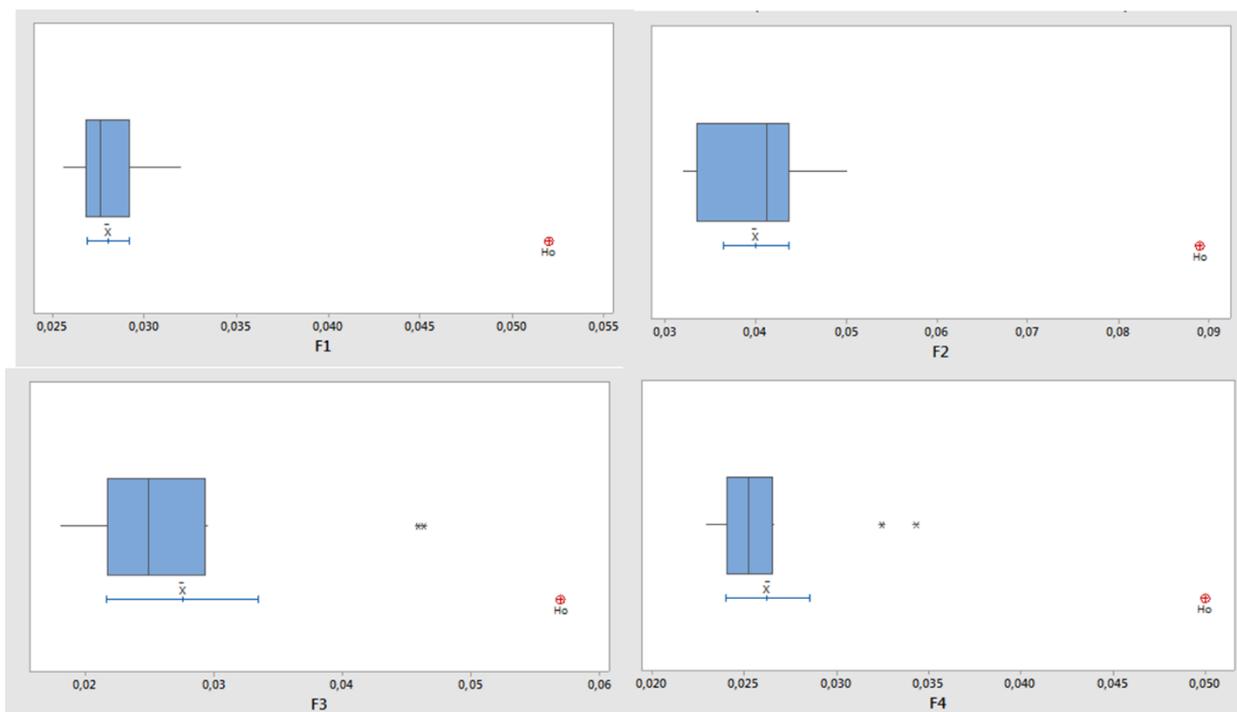


FIGURA 21 Representação do teste de t para análise de ácido graxo DHA

4.2- Análise de rotulagem dos produtos

4.2.1- Avaliação nutricional

A avaliação nutricional dos rótulos foi feita comparando-se os rótulos das fórmulas infantis do presente estudo com o definido pela legislação brasileira (RDC nº43).

Pode-se constatar através da tabela 13 que as calorias estão adequadas, de acordo com o estabelecido em lei, assim como todos os macronutrientes (carboidrato, lipídeos e proteína) e micronutrientes (minerais e vitaminas) que estão entre o valor máximo e mínimo e não ultrapassam o limite máximo aparentemente seguro (UI).

O intenso desenvolvimento e crescimento durante o primeiro ano de vida da criança requer grande disponibilidade de nutrientes e energia quando comparada, proporcionalmente, ao adulto (EUCLYDES, 2005). Segundo OMS, 1997, a necessidade de energia e nutrientes no primeiro mês de vida são o triplo das necessidades do adulto por quilo de peso, por isso é importante a ingestão adequada de calorias.

A estimativa da necessidade energética da criança varia de acordo com sexo, idade, metabolismo basal, velocidade de crescimento, clima, dieta e eventual doença do lactente (FEFERBAUM, 2005).

4.2.2- Análise da ingestão diária

Embora os valores dos nutrientes da rotulagem estejam adequados em relação a RDC 43 de 2011, não é clara a adequação das fórmulas infantis de acordo com a ingestão diária de nutrientes e energia. Quando se calcula esta ingestão a partir das denominadas tabelas de alimentação que estão nos rótulos como modo de uso, nota-se que há inadequação, quando se compara tais informações com as recomendações nutricionais para lactentes de 0 a 6 meses definidas pelos organismos internacionais como a *European Food Safety Authority* (EFSA, 2013), Organização Mundial da Saúde (OMS, 1997; 2010) e *Dietary Reference Intake* (DRI), adotada pelos Estados Unidos e Canadá (IOM, 2005).

TABELA 13 Comparação da composição nutricional das fórmulas infantis para lactentes de acordo com a RDC 43, 2011¹.

Nutriente	Unid.	RDC 43 (min-max)	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Energia	kcal	60- 70	66	67	69	67
Carboidratos	g	9,0 - 14,0	11,06	10,45	10,72	11,79
Proteínas	g	1,8 - 3,0	1,97	2,09	2,03	1,94
Gorduras totais	g	4,4 - 6,0	5,30	5,52	5,36	5,07
Gorduras saturadas	g	*	2,27	2,24	1,74	1,49
Gordura <i>trans</i>	g	Máximo de 3% do total dos lipídeos.	0,00	0,00	0	0
Mono	g	*	**	1,94	2,17	**
Poli	g	*	**	1,04	1,16	**
Ácido linoleico	mg	300 – 1400	757,58	900,00	942,03	746,27
Ácido α -linolênico	mg	Mínimo 50	139,39	73,13	72,46	98,51
DHA***	mg	Máximo de 0,5% do total de lipídeos.	10,61	16,42	10,87	11,79
ARA***	mg	ARA pelo menos igual ao DHA	18,18	34,33	20,29	11,79
Colesterol	mg	*	**	3,43	**	**
Fibra Alimentar	g	*	0,8	0,00	0,00	0,00
FOS***	g		0,12	0,00	0,00	0,00
GOS***	g	0,8, sendo 90% GOS e 10% FOS	1,09	0,00	0,00	0,00
Sódio	mg	20 - 60	27,27	25,37	26,09	38,81
Cálcio	mg	50 - 140 (UI)	84,85	67,16	76,81	70,15
Ferro	mg	0,45 - 1,3	1,26	1,00	1,04	1,07
Potássio	mg	60 - 180	101,52	110,45	120,29	110,45
Cloreto	mg	50,0 - 160	71,21	70,15	63,77	74,63
Fósforo	mg	25 - 100 (UI)	42,42	43,28	40,58	37,31

Nutriente	Unid.	RDC 43 (min-max)	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Magnésio	mg	5 - 15 (UI)	7,12	8,06	7,39	10,00
Zinco	Mg	0,5 - 1,5 (UI)	0,83	1,00	0,72	1,01
Manganês	ug	1,0 - 100 (UI)	15,15	14,93	18,84	19,40
Cobre	ug	35 - 120	60,61	43,28	72,46	89,55
Selênio	ug	1 - 9,0 (UI)	2,27	2,54	1,59	3,13
Iodo	ug	10 - 60 (UI)	18,18	12,54	18,84	34,33
Vitamina A	ug	60 - 180 (UI)	93,94	79,10	82,61	129,85
Vitamina D	ug	1,0 - 2,5	1,82	1,25	1,25	1,33
Vitamina E	mg	0,5 - 5	1,67	0,63	2,75	1,94
Vitamina K	ug	4 - 27 (UI)	6,82	8,06	9,71	8,66
Vitamina B1	ug	60,0 - 300 (UI)	75,76	89,55	115,94	104,48
Vitamina B2	mg		136,36	0,10	202,90	0,25
Vitamina B6	mg	35 - 175 (UI)	60,61	44,78	57,97	74,63
Vitamina B12	ug	0,1 - 1,5 (UI)	0,27	0,19	0,28	0,21
Vitamina C	mg	10 - 30 (UI)	14,39	12,54	14,49	20,90
Niacina	ug	300,0 - 1500 (UI)	636,36	985,07	1028,99	1089,55
Ácido Pantotênico	ug	400 - 2000 (UI)	500,00	492,54	579,71	940,30
Ácido fólico	ug	10,0 - 50 (UI)	18,18	12,54	13,77	14,93
Biotina	ug	1,5 - 10 (UI)	2,27	2,99	3,62	6,72
Taurina***	mg	Máximo 12	7,88	5,97	6,52	5,52
L- Carnitina	Mg	1,2	1,67	1,94	1,59	1,94
Colina	Mg	7 - 50,0 (UI)	18,18	16,42	9,86	10,15
Inositol	Mg	4 - 40,0 (UI)	6,67	4,93	5,80	6,72
Nucleotídeos***	Mg	Máximo 5	4,85	4,18	4,35	2,99
Luteína	ug				11,45	

¹Energia dada em 100g do produto e demais nutrientes em 100 kcal do produto; UI=Limite máximo aparentemente seguro, não deve ser alcançado;

*Não especificado; **Não relatado no rótulo; ***Ingrediente opcional segundo RDC 43.

Primeiramente nota-se que não há nos rótulos distinção entre os sexos, embora as necessidades variem entre eles (OMS, 1997; CARDOSO et al., 2005; EFSA, 2013). Tampouco existe padronização nas divisões etárias, há fórmulas que dividem a faixa etária de 0 a 6 meses em 3 frações e outras em 6 frações. É importante salientar que este quesito não está previsto em lei, portanto não é obrigatório e, conseqüentemente, padronizado.

A ingestão calórica para meninos está demonstrada na figura 22. Nota-se que as fórmulas excedem o estabelecido pela EFSA em todas as faixas etárias a partir da primeira. A fórmula 3 excede as recomendações da EFSA e OMS principalmente a partir dos 2 e 3 meses de idade em que a fórmula atinge, em média, 300 kcal/dia e 200 kcal/dia a mais que o recomendado pela EFSA e OMS, respectivamente. O mesmo ocorre com a recomendação energética para meninas, demonstrado na figura 23, em que todas as fórmulas excedem o recomendado pela EFSA e a fórmula 3 excede em até 300 kcal/dia as recomendações tanto da OMS quanto da EFSA.

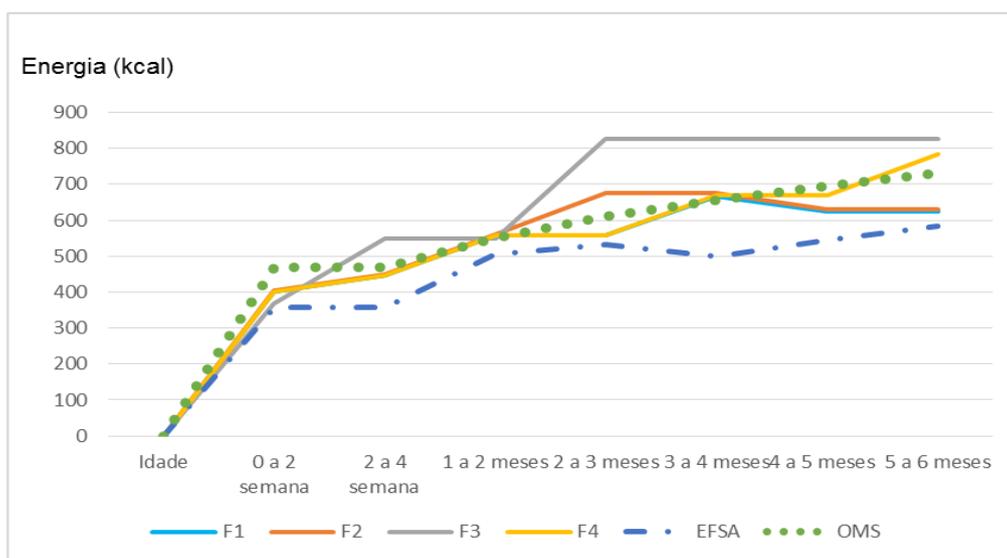


FIGURA 22 Representação da ingestão diária e recomendações de energia para meninos, expresso em kcal diária

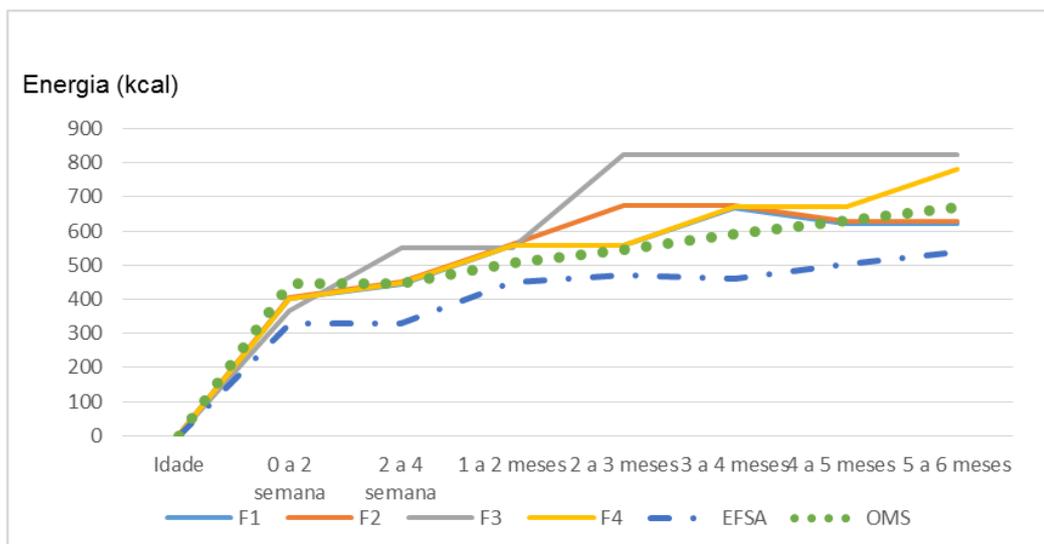


FIGURA 23 Representação da ingestão diária e recomendações de energia para meninas, expresso em kcal diária.

A energia requerida pelos recém-nascidos é utilizada para manutenção do corpo, mas é, principalmente, para a síntese adequada de tecidos. Órgãos nobres como coração, rins, fígado e cérebro são responsáveis por requererem maior contingente energético em relação aos demais tecidos do corpo. Entre o nascimento e o terceiro mês há duplicação do peso corporal (EFSA,2013).

É significativa a diferença do ganho de peso em crianças que são alimentadas com fórmulas infantis em relação as que são amamentadas, nota-se que aquelas que amamentam o peso é menor (KREBS et al., 2014; EFSA, 2013).

O excesso de energia pode ocasionar maior taxa de ganho de peso, principalmente no primeiro ano de vida, e tem grande influência sobre a trajetória da obesidade na infância e na idade adulta, somando-se aumentado risco para diabetes e pressão arterial elevada. Além disso, a alta velocidade de crescimento durante os primeiros meses de vida também está relacionada ao risco aumentado de desenvolver doenças não transmissíveis quando adultos (KREBS et al., 2014; KOLETZKO et al., 2009; ESPGHAN, 2009).

Avaliando-se as recomendações hídricas nota-se que, em relação à recomendação da DRI de 650 mL/dia, todas as fórmulas a excedem. Mas, em relação a recomendação da EFSA de 650 mL/dia a 1000 mL/dia, as fórmulas conseguem alcançar, pelo menos, a necessidade mínima diária, com exceção da F3 (cerca de 1100 mL/dia) que excede ambas as recomendações a partir do 2 mês, como é representado na figura 24.

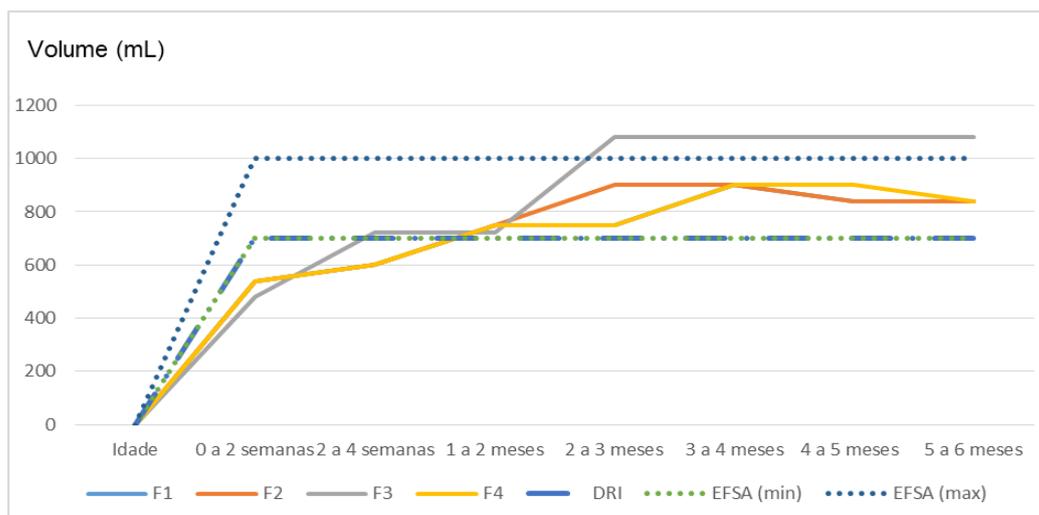


FIGURA 24 Representação da ingestão diária e recomendações hídricas para meninos e meninas, expresso em mililitros.

Bergman et al. (2013) discutem que o processo de regurgitação ou golfada dos recém-nascidos pode estar relacionado com grande quantidade de alimento oferecida à pequena capacidade gástrica dos bebês. Cólica, definido também como distensão de qualquer víscera oca, é um desconforto que ocorre em recém-nascidos alimentados com grandes volumes entre 60 a 80 mL, valor ainda menor do que o proposto pelas fórmulas infantis, que no primeiro mês podem chegar a 120 mL por preparação de mamadeira. Portanto, grande volume de leite fornecida em longos intervalos pode ser estressante para neonatos gerando regurgitação, refluxo e até mesmo hipoglicemia.

Ao comparar as recomendações de carboidratos diários definidas pela DRI e EFSA, depreende-se que no primeiro mês, tanto para meninos quanto para meninas, todas as fórmulas excedem os valores máximos recomendado pela EFSA, mas não atingiram a recomendação da OMS, conforme demonstrado nas figuras 25 e 26. Mas, todas as fórmulas excedem todas as recomendações a partir do segundo mês e a fórmula 3 atinge 90 gramas de carboidrato diários, enquanto as recomendações máximas da EFSA e da OMS correspondem a 60 g/dia.

A recomendação proposta pela EFSA é estabelecida através de faixa de ingestão de 40% a 45% da ingestão calórica diária. Entretanto, nas figuras 26 e 27 os valores estão expressos em gramas de carboidratos diários, feito por

cálculos em que foi considerada a recomendação energética diária da mesma instituição e considerando que um grama de carboidrato fornece quatro quilocalorias (NETO, 2003)

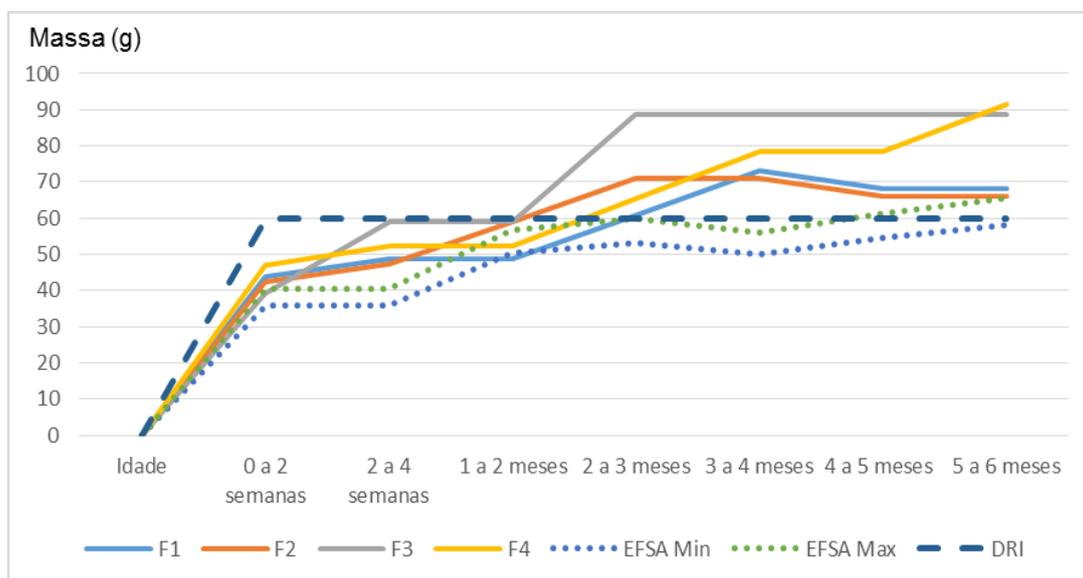


FIGURA 25 Representação da ingestão diária e recomendações de carboidrato para meninos, expresso em grama diário

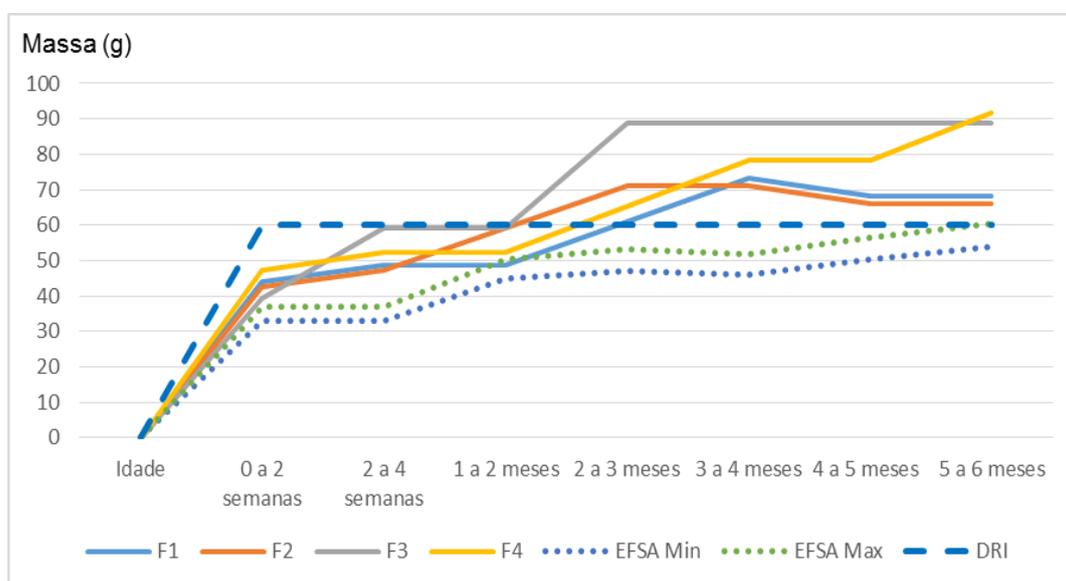


FIGURA 26 Representação da ingestão diária e recomendações de carboidrato para meninas, expresso em grama diário

A recomendação de carboidratos se baseia, minimamente, pelo gasto cerebral da glicose, pois este órgão no lactente é grande em relação ao tamanho do corpo e utiliza cerca de 60% da energia total ingerida. Contudo, leva-se em conta as necessidades dos outros macronutrientes para evitar a

gliconeogênese através da proteína e a cetogênese através dos lipídeos (EUCLYDES, 2005).

Com exceção do primeiro ano de vida, o carboidrato é a principal fonte de energia para o ser humano. Neste início da vida sua maior contribuição é economizar proteína para que ela possa ser utilizada de maneira austera para garantir o crescimento da criança. Entretanto, mesmo nessa idade, o cérebro ainda tem preferência energética pelos carboidratos, assim como as hemácias, leucócitos, pulmões, rins e músculo cardíaco (EUCLYDES, 2005). O excesso deste nutriente pode contribuir para a ingestão excessiva de caloria.

Nota-se através dos gráficos 27 e 28 que todas as fórmulas infantis possuem excesso de proteína em relação ao recomendado para ambos os sexos. A fórmula 3 ultrapassa, quase, 2 vezes mais o valor recomendado pela EFSA (8 g/dia) e DRI (9 g/dia), enquanto as demais fórmulas, a partir do terceiro mês, excedem 1,4 vezes mais que o recomendado.

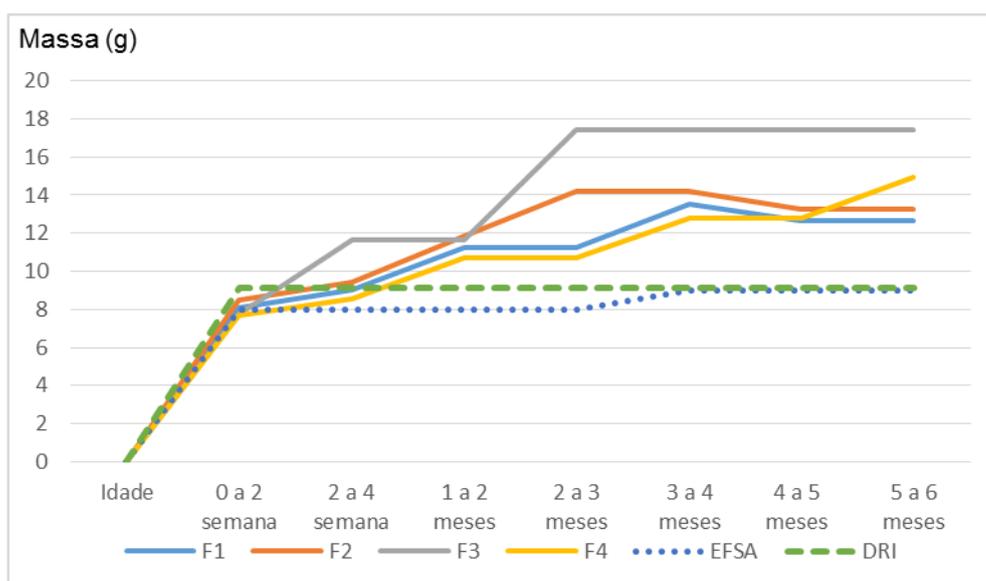


FIGURA 27 Representação da ingestão diária e recomendações de proteína para meninos, expresso em grama diário

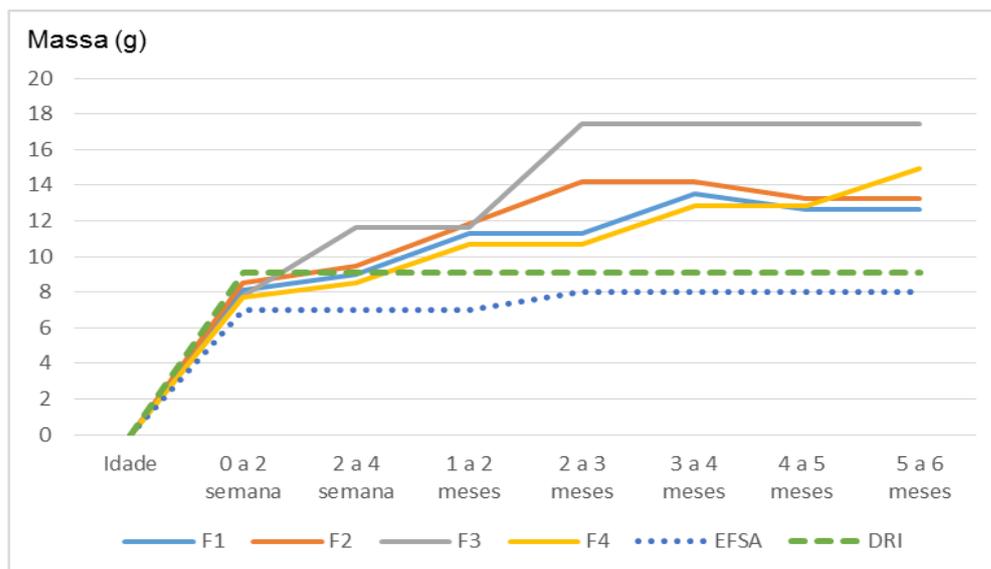


FIGURA 28 Representação da ingestão diária e recomendações de proteína para meninas, expresso em grama diário

Em relação a proteína, esta deve ser adequada pois sua deficiência pode comprometer o crescimento e desenvolvimento infantil pois participa de muitos processos fisiológicos como síntese de hormônios, enzimas, transporte de substâncias como por exemplo a hemoglobina e mioglobina (que transporta oxigênio), estrutura celular (EUCLYDES, 2005).

A estimativa de necessidade diária se baseia no consumo mínimo de nitrogênio que seja positivo a ponto de permitir o crescimento em indivíduos que possuam crescimento normal e moderadamente ativos fisicamente (EFSA, 2013).

O excesso de proteína pode ocasionar sobrecarga renal, excreção excessiva de cálcio, distúrbios metabólicos e, até mesmo, doenças crônicas na idade adulta como a obesidade. Há evidências de que este excesso se relaciona, também, com maior ganho de peso do recém-nascido alimentado com fórmula infantil, pois há maior estímulo do fator de crescimento IGF-1 que se assemelha à insulina, aumentando a adipogênese e diferenciação dos adipócitos. Também pode ocorrer redução da lipólise devido ao aumento deste fator de crescimento (EUCLYDES, 2005; FEFERBAUM, 2005; KOLETZKO et al., 2009; KREBS et al., 2014).

É importante ressaltar que ao longo da lactação a concentração de proteína no leite materno diminui enquanto a fórmula permanece imutável ou, como visto nos gráficos acima, aumenta-se com o passar das semanas

(KREBS et al., 2014). Devido as variações que ocorrem no leite materno ao longo do dia é impossível assemelhar nutricionalmente as fórmulas infantis.

Segundo a RDC 43, é obrigatório que haja todos os aminoácidos essenciais e semi-essenciais nas fórmulas infantis, baseando-se no leite materno, porém em nenhuma das amostras estudadas possuem informação da composição de aminoácidos no rótulo, pois esta informação também não é exigida nos rótulos pela legislação.

Os recém-nascidos do sexo masculino que se alimentam através de fórmulas infantis ingerem de maneira variada os lipídeos. Durante as quatro primeiras semanas todas as fórmulas apresentam excesso de lipídeos quanto à recomendação da EFSA e, por outro lado, privação de gorduras em relação à DRI. Já no segundo e terceiro mês de vida, a fórmula 4 segue abaixo das recomendações enquanto as demais apresentam quantidades adequada (F1) e excessivas (F2 e F3). A partir do terceiro até o sexto mês, todas as fórmulas apresentam-se excessivas no teor de lipídeos, sendo a F3 a que apresenta maior quantidade, mesmo a partir do 2 mês, conforme demonstrado na figura 29.

Ao se comparar a ingestão diária proposta e a recomendação para meninas, percebe-se que também há variações ao longo das faixas etárias, entretanto em nenhum caso há privação da quantidade de lipídeos em relação ao recomendado pela EFSA (20 g/dia), embora haja até os 3 meses privação de algumas fórmulas em relação ao recomendado pela DRI (30 g/dia). A partir dos três meses, entretanto, observa-se excesso de gorduras em todas as fórmulas e a F3 apresenta maior índice (45 g/dia), de acordo com a figura 30.

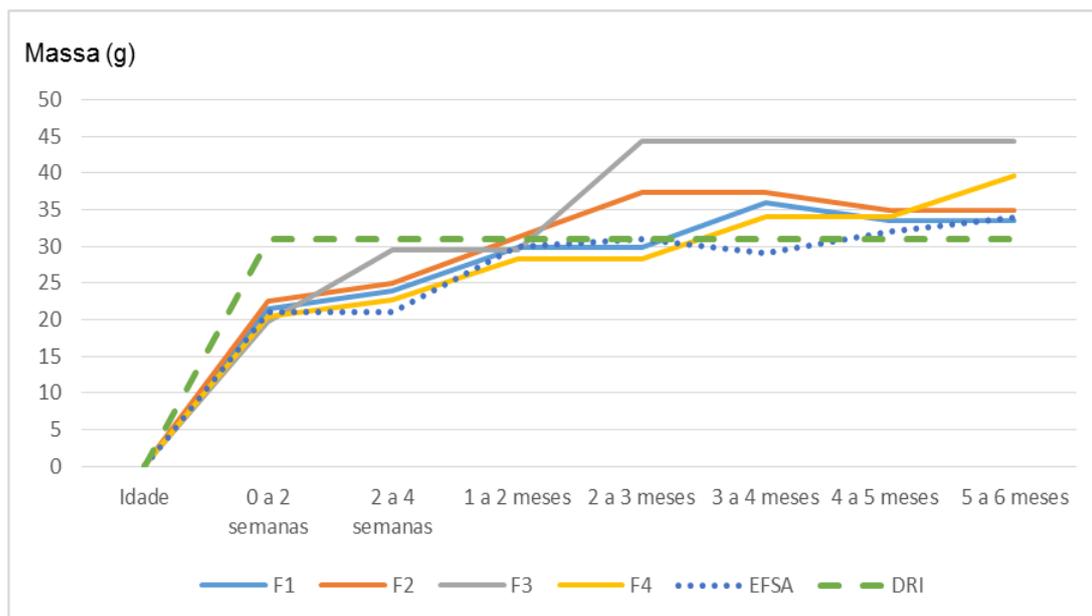


FIGURA 29 Representação da ingestão diária e recomendações de lipídeos para meninos, expresso em grama diário

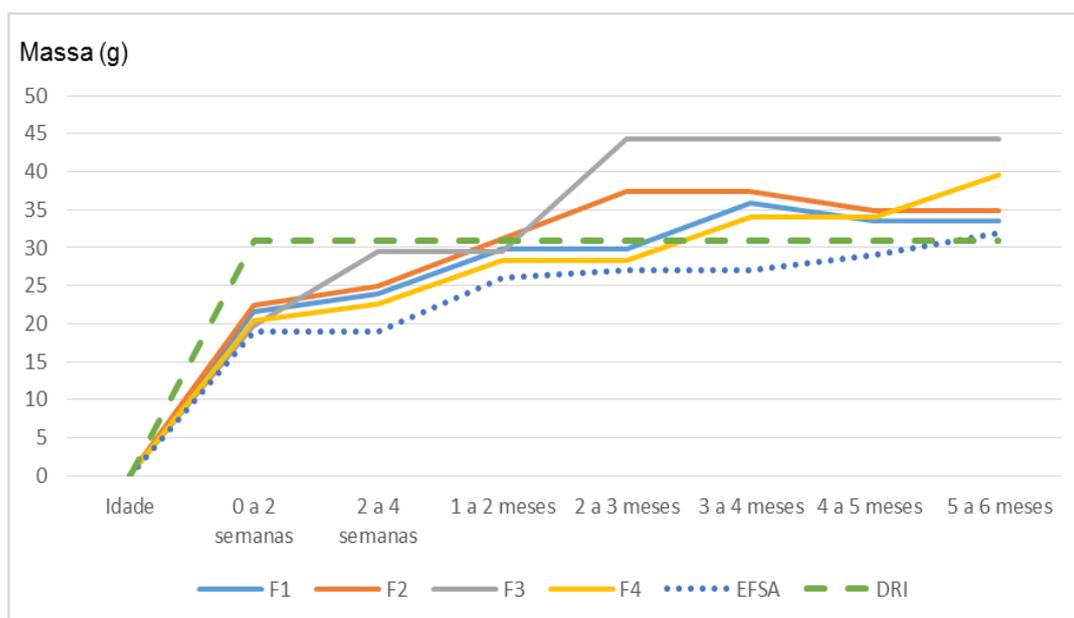


FIGURA 30 Representação da ingestão diária e recomendações de lipídeos para meninos, expresso em grama diário

Os lipídeos são responsáveis por fornecer 50% das calorias diárias do lactente, portanto sua deficiência está diretamente relacionada com o comprometimento do crescimento e desenvolvimento da criança e, também, com a deficiência de vitaminas lipossolúveis. Além disto, pode haver deficiência neuronal pois cerca de 60% do cérebro é composto por lipídeos que são

incorporados, principalmente, no último trimestre da gestação até o primeiro ano de vida através da alimentação da criança (EUCLYDES, 2005).

A lei dispõe que os ácidos linoleico (LA) e linolênico (ALA), expressos em 100 kcal do produto cuja proporção entre eles deve ser 5:1 à 15:1 (tabela 14).

TABELA 14 Proporção dos ácidos graxos

Nutriente	RDC 43	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Razão entre linoleico e α -linolênico	5:1 a 15:1.	5,4:1	12,30:1	13:1	7,6:1

A proporção entre estes ácidos graxos poli-insaturados é importante pois, o aumento da ingestão de ω -6 ou a baixa ingestão de ω -3 está relacionado com a incidência de alergias alimentares e outras doenças atópicas (TINOCO et al., 2011; TAI et al., 2013).

Além disto, o ω -3 compete com o ω -6 pelas enzimas dessaturase e alongase, afetando a formação de DHA, EPA e ARA endógenos (NETO, 2003; MARTIN et al., 2006).

Dos órgãos internacionais apenas a EFSA diferencia as necessidades de ω -3 e ω -6 para meninos e meninas (figuras 31 a 34).

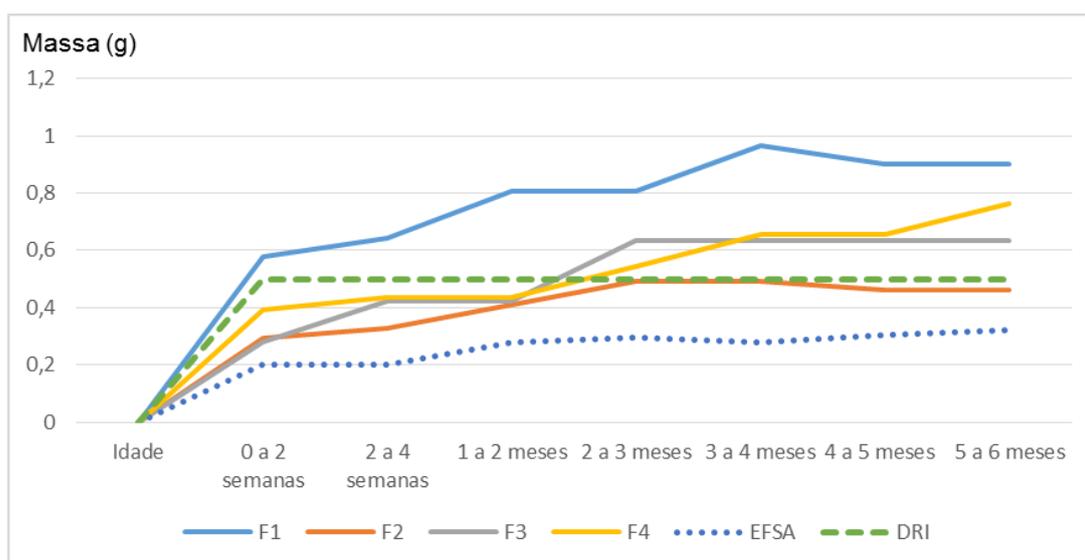


FIGURA 31 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninos, expresso em grama diário.

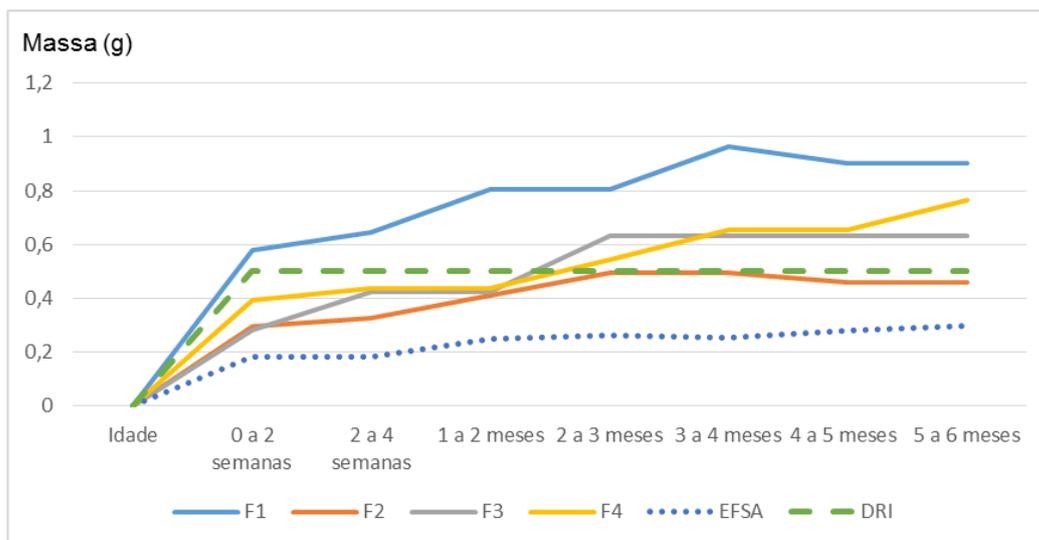


FIGURA 32 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninas, expresso em grama diário.

Ao se avaliar a ingestão de ácido graxo alfa linolênico (ω -3), percebe-se que tanto para meninos quanto para meninas a ingestão está acima do recomendado pela EFSA (em torno de 0,2 g/dia para meninas e 0,3 para meninos). Ao observarmos a F2 para meninas e para meninos constata-se que apenas do segundo ao terceiro mês a ingestão encontra-se suficiente em relação à DRI, sendo os demais meses insuficiente. Já a F1 excede quase o dobro das necessidades de acordo com a DRI tanto para meninos quanto para meninas.

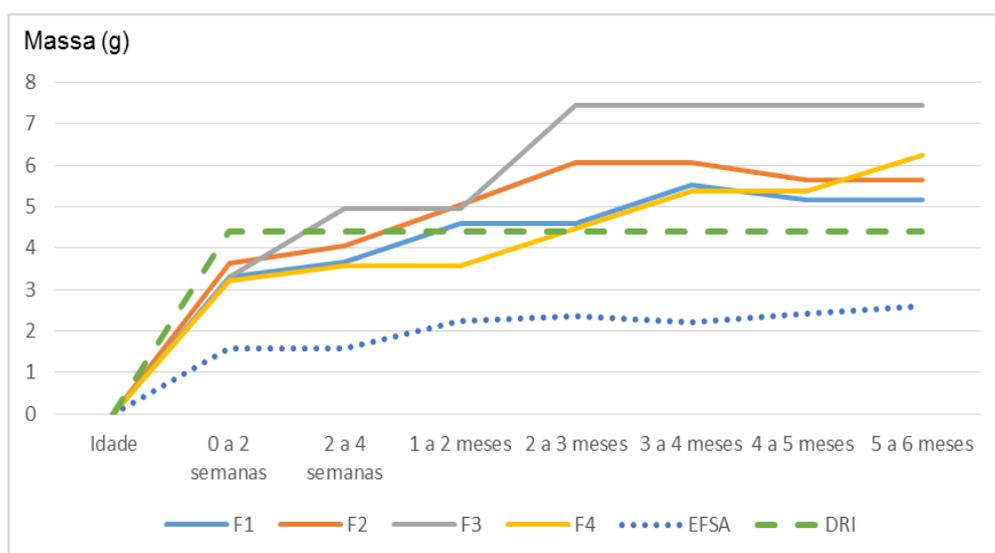


FIGURA 33 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo Alfa linolênico (ALA- ω 3) para meninos, expresso em grama diário

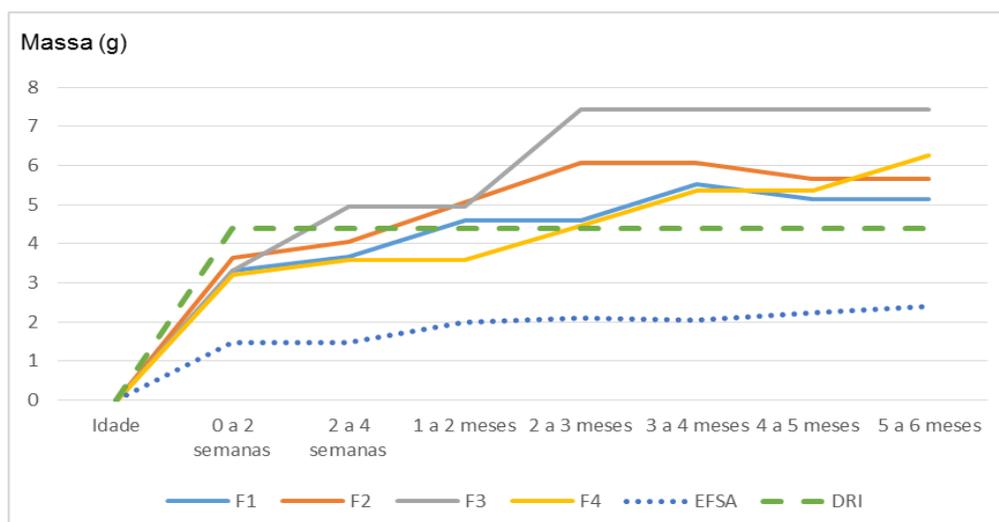


FIGURA 34 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo linoleico (LA- ω 6) para meninas, expresso em grama diário

Pode-se observar nos gráficos 33 e 34 que a ingestão de ácido graxo linoleico (ω -6) proposta pela EFSA foi plenamente alcançada e, também excedida, por todas as fórmulas infantis. A fórmula 3 alcança um valor quase 4 vezes maior (7,5 g/dia) do recomendado (2 g/dia). Mas em relação à DRI a fórmula F4 torna-se adequada apenas após o segundo mês de vida da criança.

Como já dito, os ácidos graxos linoleico e alfa linolênico são ácidos graxos essenciais, precursores dos ácidos graxos de cadeia longa (DHA e ARA) e estão envolvidos na regulação de diversos processos metabólicos de transporte e excreção (TINOCO et al., 2011).

Já é sabido a importância dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa como o DHA e ARA para o desenvolvimento cerebral, visual e cognitivo das crianças, principalmente nos primeiros anos de vida (GIL-CAMPOS et al., 2010). Os ácidos graxos de cadeia longa reduzem a incidência de alergias na infância, mas a deficiência de DHA afeta a neurotransmissão de dopamina e serotonina, reforça o crescimento de neurônios, a capacidade de união entre enzimas e substratos nas membranas celulares, a atividade dos canais iônicos e, até mesmo a expressão gênica. Também estão ligados à modulação imunológica, o que lhes confere papel protetor em alergias ou outras doenças inflamatórias pois inibem moléculas inflamatórias e atuam na produção de

células T. (FOILES et al., 2016; GIL-CAMPOS et al., 2010; TINOCO et al., 2011; HEATON et al., 2011).

O DHA e ARA são um tipo de ω -3 encontrado, principalmente, em óleo de peixe (NETO, 2003). Entretanto os adicionados nas fórmulas são provenientes de *C. Cohnii* (microalga) e *M. alpina* (fungo filamentosos), respectivamente, que não se pode presumir que o DHA e ARA proveniente de diferentes fontes e processos tenha os mesmos efeitos sobre a saúde como o disponível no leite materno (KENT, 2014).

O DHA, de acordo com a RDC 43, só pode ser declarado no rótulo se a quantidade for maior ou igual a 0,2% de ácidos graxos, o que está adequado (tabela 15). Assim como a quantidade de ARA adicionada, que deve ser pelo menos igual à quantidade adicionada de DHA (ver tabela 13), o que se encontra adequado pois, fornecer altas quantidades de DHA sem ARA tem sido associada com efeitos adversos sobre o crescimento (KOLETZKO et al., 2015).

TABELA 15 Quantidade de DHA previsto na RDC 43/2011 e nas fórmulas infantis expresso em porcentagem de lipídeos.

Nutriente	RDC 43	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
DHA	0,2% a 0,5% do total de lipídeos.	0,20%	0,29%	0,20%	0,23%

Ao calcular a ingestão diária de DHA e ARA, proposta pelas fórmulas infantis e comparar com a recomendação internacional, nota-se que apenas uma fórmula atingiu a necessidade diária de DHA (0,1 g/dia) a partir do segundo mês (figura 35). Entretanto, em relação ao ARA, duas fórmulas atingiram a necessidade diária (0,14 g/dia) enquanto as demais não (figura 36). Deveras as fórmulas infantis podem fornecer quantidade inadequada de DHA e ARA pois estes não são nutrientes obrigatórios em muitos países (HEATON et al., 2011).

A descoberta dos derivados do ARA, que são capazes controlar o fluxo de sangue e a função imunológica, rendeu aos seus pesquisadores um prêmio Nobel de Medicina em 1982, mas apesar de toda esta evidência e avanço científico, este nutriente não é considerado item fundamental pelos organismos

internacionais como o *Codex Alimentarius* e, até mesmo, pelos órgãos reguladores de fórmulas infantis no Brasil (CRAWFORD et al., 2015).

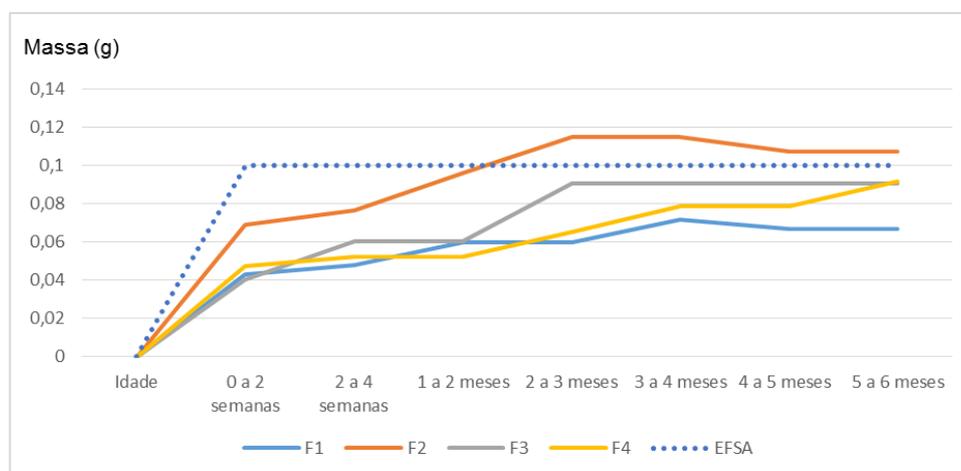


FIGURA 35 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo DHA para ambos os sexos, expresso em gramas diários

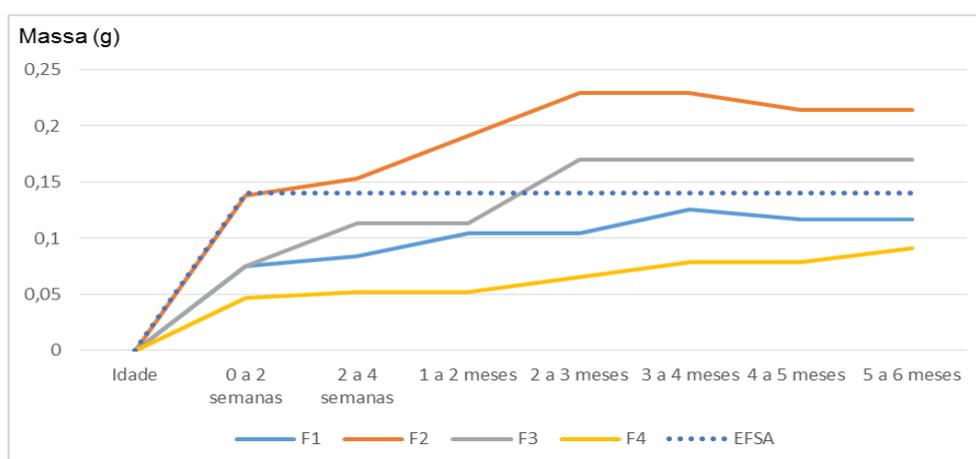


FIGURA 36 Representação da ingestão diária e recomendações de ácido graxo ARA para ambos os sexos, expresso em grama diário

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) (2010), o DHA e o ARA deveriam ser considerados condicionalmente essenciais durante o desenvolvimento e crescimento nas primeiras etapas da vida, pois embora possam ser sintetizados através de seus precursores linoleico e alfa linolênico, esta taxa é muito baixa (1-5%) e a sua função é essencial para o desenvolvimento normal do cérebro e retina.

De fato, se o DHA é realmente importante não deveria ser colocado apenas como item opcional, fazendo com que exclusivamente algumas crianças socioeconomicamente favorecidas estejam fora de risco nutricional, isto é, partindo do pressuposto que as fórmulas possuem efetivamente o valor mínimo declarado e que este seja o valor nutricional adequado.

Vê-se que quanto mais itens adicionados às fórmulas, maior o seu valor comercial, por isso deve-se ponderar sobre o que realmente é importante e benéfico para o desenvolvimento adequado dos recém-nascidos e quais serão os impactos sobre a vida adulta.

Há dificuldade em se avaliar o desenvolvimento das crianças pois existem variações pessoais e não há um método único para se avaliar. Beyerlein e colaboradores (2010) constataram que a suplementação de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa não tiveram efeito sobre o desenvolvimento infantil, avaliado através do índice de Bayley, em crianças com 18 meses (KENT, 2014). Em contrapartida, a EFSA (2014) destaca diversos estudos que avaliaram o desempenho mental e psicomotor pelo índice de Bayley de desenvolvimento infantil, os quais obtiveram diferenças estatísticas positivas entre crianças que eram suplementadas ou não com DHA e ARA aos 3 meses e 18 meses de idade, porém o mesmo não pode ser visto em crianças maiores de 6 anos.

A EFSA (2014) propõe que o DHA e ARA sejam adicionadas às fórmulas infantis devido à importância estrutural destes ácidos graxos para o cérebro e retina pois é irrefutável, até o presente momento, a necessidade do cérebro, que está em desenvolvimento, acumular grandes quantidades de DHA nos dois primeiros dois anos de vida.

Nota-se, em razão das grandes variações entre o proposto pelo rótulo e a recomendação nutricional diária, as variações de cada idade, a individualidade de cada criança, é inegável a importância da orientação nutricional adequada, principalmente para aqueles bebês cuja única fonte alimentar são as fórmulas infantis.

5- CONCLUSÃO

O teor de lipídeos totais das fórmulas analisadas diferenciaram significativamente daquele descrito no rótulo em todas as fórmulas, exceto a fórmula 4. Devido à tolerância de 20% da RDC 360 de 2003, todas as fórmulas estavam adequadas em relação ao valor declarado no rótulo.

Os teores dos ácidos graxos ALA, LA, DHA e ARA contido nas fórmulas estão diferentes em relação ao leite materno. Houve diferença significativa entre o descrito no rótulo e o encontrado no presente estudo. O teor de DHA variou de 18% a 37,4% a menos, assim como o ARA, cuja variação foi de 46% a 56% a menos. Os teores dos ácidos graxos ALA e LA estavam maiores do que o descrito no rótulo. A fórmula 1 se mostrou adequada tanto para DHA e ARA quanto para ALA e LA, de acordo com a RDC 360 de 2003.

De acordo com a RDC 43 de 2011, os rótulos das fórmulas infantis analisadas encontram-se adequados quanto à informação nutricional.

As fórmulas infantis do presente estudo não estão nutricionalmente balanceadas para lactentes de 0 a 6 meses de acordo com as recomendações internacionais.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil) - ANVISA. **Resolução RDC 43 de 19 de setembro de 2011**: Regulamento técnico para fórmulas infantis para lactentes.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil)- ANVISA. **Resolução RDC 171 de 4 de setembro de 2006**: Regulamento técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil)- ANVISA. **Resolução RDC 360 de 23 de dezembro de 2003**. Regulamento técnico para Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional.

ANTUNES, L.S.A; ANTUNES, L.A.A; CORVINO, M.P.F; MAIA, L.C. Amamentação natural como fonte de prevenção em saúde. **Ciência e Saúde coletiva**. v.13, n.1, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC 986.25. **Official Method of analysis**. 19 ed. Washington. 2012.

AUED-PIMENTEL, S; **Avaliação de procedimentos analíticos para a determinação**. 2007. 231 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. São Paulo, SP, 2007.

BALLARD, O; MORROW, A.L; Human Milk Composition: Nutrients and bioactive Factors. **Pediatric Clinics of North America**. United States of America. v. 60. 2013.

BERGMANN, H; RODRIGUEZ, J.M; SALMINEN, S; SZAJEWSKA, H; Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. **British Journal of Nutrition**. v. 112. 2014.

BERGMAN, N. J; Neonatal stomach volume and physiology suggest feeding at 1-h intervals. **Acta Paediatrica**. v. 102, 2013.

BOBBIO, F.O; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3 ed. São Paulo. Editora Varela. p. 238. 2003.

BONATO, P. S. Cromatografia Gasosa. In: COLLINS, C. H. **Fundamentos de Cromatografia**. 1 ed. Campinas, SP. Editora UNICAMP, 2006. p. 204- 272.

BOSI, M. L. M; MACHADO, M. T; Amamentação: um resgate histórico. **Cadernos Esp. Escola de Saúde Pública do Ceará**. Ceará, v. 1, n.1, 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia prático de preparo de alimentos para crianças menores de 12 meses que não podem ser amamentadas**. Brasília, 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual Normativo para Profissionais de Saúde de Maternidades- referência para mulheres que não podem amamentar**. Brasília, 2005a.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual de Orientação às Indústrias de Alimentos**. Brasília, 2005b.

BROUWER, I.A; KATAN, M.B. *Trans fatty acids and cardiovascular health: research completed?* **European Journal of Clinical Nutrition**. v. 63, 2013.

BRUM, A.A.S; ARRUDA, L.F; REGITANO-D'ARCE, M.A.B; Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem animal, vegetal e animal. **Quim. Nova**. v. 32, n. 4; 2009.

BURKE, S. Missing values, outliers, robust statistics & non-parametric methods. **LC•GC Europe Online Supplement**, January, p. 19-24, 2001.

CAMPOY, C; CABERO, L; SANJURJO, P; SERRA-MAJEM, L; ANADÓN, A; MORÁN, J; FRAGA, J. M. Actualización, recomendaciones y consenso sobre el papel de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga em la gestación, lactancia y primer año de vida. **Med. Clinica**. v. 135, n. 2, 2010.

CASTILHO, S. D.; FILHO, A. A. B; The history of infant nutrition: Alimentos utilizados ao longo da história para nutrir lactentes. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v. 86. n. 3. 2010.

CECCHI, H.M; **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Ed. UNICAMP, 2. Ed. Campinas, p. 86-96, 2003.

CHRISTIE, W. W; Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. **Advances in Lipid Methodology**. Ed. W. W. Christie, Oily Press, Dundee. 1993.

CHUANG, C.K; YEUNG, C.Y; JIM, W.T; LIN, S.P; WANG, T.J; HUANG, S.F; LIU, H.L. Comparison of free fatty acids content of human milk from Taiwanese mothers and infant formula. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology**. Taiwan. v. 52. 2013.

COLLINS, C. H. **Princípios básicos de cromatografia**. In: __ Fundamentos de Cromatografia. 1 e.d. Campinas, SP. Editora UNICAMP, 2006. p. 17- 45.

CRAWFORD, M.A; WANG, Y; FORYTH, S; BRENNAN, J.T. The European Food Safety Authority recommendation for polyunsaturated fatty acid composition of infant formula overrules breast mil, puts infants at risk, and should be revised. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. 2015.

DEL PRIORE, M. **História das mulheres no Brasil**. 10 ed. São Paulo. Editora Contexto, 2013. p. 72.

DIAS, M. C. A. P.; FREIRE, L. M. S.; FRANSCSCHINI, S. C. C.; Recomendações para alimentação complementar de crianças menores de dois anos. **Rev. Nutr.**, Campinas. v. 23, n.3. 2010.

EUCLYDES, M.P; **Nutrição do Lactente**: base científica para uma alimentação adequada. 3 ed. Viçosa. 2005. p. 548.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. Scientific Opinion on nutrient requirements and dietary intakes of infants and young children in the European Union. **EFSA Journal**. Parma, Italy. v.11, n. 10. 2013

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. **EFSA Journal**. Parma, Italy. v.12, n. 7. 2014.

FEFERBAUM, R; FALCÃO, M.C. **Nutrição do Recém-Nascido**. 2. Ed. São Paulo. Editora Atheneu, 2005. p. 602.

FENNEMA, O.R; DAMODARAN, S; PARKIN, L.K; **Química de Alimentos**. 4 ed. Porto Alegre. Editora Artmed. p. 900, 2010.

FERNANDEZ, L; LANGA, S; MARTÍN, V; MALDONADO, A; JIMENEZ, E; MARTIN, R; RODRIGUEZ, J. M; The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. **Pharmacological Research**. v. 69. 2013.

FOILES, A.M; KERLING, E.H; WICK, J.A; SCALABRIN, D.M.F; COLOMBO, J; CARLSON, S. Formula with long-chain polyunsaturated fatty acids reduces incidence of allergy in early childhood. **Pediatric Allergy and Immunology**. v. 27. 2016.

GIL-CAMPOS, M; SERRA, D. J; Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pedriatria. Importancia del ácido docosahexaenoico (DHA): funciones y recomendaciones para su ingesta en la infância. **Anales de Pedriatria**. España. v. 73, n. 3. 2010

GIOIELLI, L. A. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia. Revista Brasileira de Farmacognosia. São Paulo- SP. [198-?].

GIUGLIANI, E.R.J; Rede Nacional de Bancos de Leite Humano do Brasil: Tecnologia para exportar. **Jornal de Pedriatria**. v. 78, n. 3, 2002.

GOLAY, P.A; MOULIN, J. Determination of labeled Fatty Acids Content in Milk Products, Infant Formula, and Adult/ Pediatric Nutritional Formula by Capillary Gas Chromatography. Final Action 2012.13. **Journal of AOAC International**. v. 99, n. 1. 2016.

GRUBBS, F. Procedures for detecting outlying observations in samples. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 1-21, 1969.

HARTMAN, L; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. London. 1973.

HEATON, A. E; MELDRUM, S.J; FOSTER, J. K; PRESCOTT, S.L; SIMMER, K. Does docosahexaenoic acid supplementation in term infants enhance neurocognitive function in infancy? **Frontiers in Human Neuroscience**. v. 7. 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE – IOM. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Washington – DC. **National Academy Press**. 2005. p. 5.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2008. p. 819 – 877.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO 1736 de 2008. **Dried milk and dried milk products: determination of fatty content**. Bureau of Indian Standards. New Delhi, 2013

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO 12966 de 2015. **Animal and vegetable fats and oils -- Gas chromatography of fatty acid methyl esters**. Part 4: Determination by capillary gas chromatography. 2015

KENT, G; Regulation fatty acids in infant formula: critical assessment of U.S policies and practices. **International Breastfeeding Journal**. v.9, n.2, 2014.

KODA, Y.K.L. **Fisiologia Digestiva. Desenvolvimento da digestão e absorção de proteínas, lipídeos e carboidratos no recém-nascido**. In: FEFERBAUM, R; FALCÃO, M.C. **Nutrição do recém-nascido**. 2.ed. São Paulo. Editora Atheneu, 2003. p. 33-44.

KOLETZO, B; KRIES, R.V; MONASTEROLO, R. C; SUBIAS, J. E; SCAGLIONI, S; GIOVANINNI, M; BEYER, J; DEMMELMAIR, H; ANTON, B; GRUSZFELD, D; DOBRZANSKA, A; SENGIER, A; LANGHENDRIES, J.P; CACHERA, M.F.R; GROTE, V. Can infant feeding choices modulate later obesity risk? **American Journal of Clinical Nutrition**. v.89, 2009.

KREBS, N. F; TANG, M. High protein intake from meat as complementary food increases growth but not adiposity in breastfed infants: a randomized trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**. United States of America. v. 100. 2014.

KUS, M. M. M; SILVA, S. A; AUED-PIMENTEL, S; MANCINI-FILHO, J; Informação nutricional de fórmulas infantis comercializadas no Estado de São Paulo: avaliação dos teores de lipídeos e ácidos graxos. **Rev. Nutr. Campinas**, v. 24, n.3. 2011.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 5 ed. Porto Alegre. Editora Artmed. p. 1273. 2011.

LOPÉZ, B.E; CADENAS, D.L.S; QUINTERO- LAVERDE, J.N; Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la alimentación del lactente: cuantificación de éstos en algunas fórmulas lácteas para bebés de 0 a 6 meses, comercializadas em la ciudad de Medellín, 2012. **Rev. Fac. Nac. Salud Publica.** v. 32; n. 3. 2014.

LOTTENBERG, A.M.P; Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 53, n. 5; 2009.

MACHADO, M.M.T; Fatores de proteção do leite Humano. **Revista de Pediatria do Ceará.** v.3, n. 2, 2002.

MARTIN, C.A; ALMEIDA, V.V; RUIZ, M.R; VISENTAINER; J.E.L; MATSHISHITA M; SOUZA, N.E; VISENTAINER J. V. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega 6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr. Campinas.** v. 19; n. 6; 2006.

NETO, F.T; **Nutrição Clínica.** Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2003. p. 519.

NIELSEN, S.S; **Food Analysis.** 40. Ed. West Lafayette, United States of America. Editora Springer. 2010. p. 585.

NOVAK, F.R; MAIA, P.R.S; ALMEIDA, J.A.G; SILVA, D.A. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano: gênese e evolução. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil.** Recife, PE. v.6, n. 3. 2006.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA – FAO. **Grasas y ácidos grasos em nutrición humana: Consulta de expertos.** 1. Ed. Genebra, Italia. p. 204, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE- OMS. **Alimentação Infantil: Bases Fisiológicas.** 2. Ed. Genebra, Suíça. 1997. p. 102

ORGANIZACIÓN MUDIAL DE LA SALUD - OMS. **La alimentación del lactente y del niño pequeño: Capítulo Modelo para libros de texto dirigidos a estudiantes de medicina y otras ciencias de la salud.** Washignton, D.C. 2010.

PESSANHA, A; CERVATO- MANCUSO, A.M; SILVA, M.E.M.P; Elementos protetores do leite materno na prevenção de doenças gastrintestinais e respiratórias. **Rev. Bras. Cresc e Desenv. Hum.** v. 20, n. 2; 2010.

PIN SU, K; MATSUOKA, Y; PAE, C.U; Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Prevention of Mood and Anxiety Disorders. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience.** v. 13, n. 2, 2015.

ROCHA, N. B et al. O ato de amamentar: um estudo qualitativo. **Physis – Revista de Saúde Coletiva,** Rio de Janeiro. v. 20, n. 4. 2010.

RONA, M.S.S; NOVAK, F.R; PORTILHO, M; PELISSARI, F.M; MARTINS A.B.T; MATIOLI,G. Efeito do tempo e da temperatura de estocagem nas determinações de acidez, cálcio, proteínas e lipídeos de leite humano de doadoras de bancos de leite humano. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. Recife, PE. v.8, n.3, 2008.

SABARENSE, C. M; **Avaliação do efeito dos ácidos graxos trans sobre o perfil dos lipídios teciduais de ratos que consumiram diferentes teores de ácidos graxos essenciais**. 2003. 139 f. Tese (Doutorado Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Uiversidade de São Paulo, São Paulo, 2003

SILVA, R.C; ESCOBEDO, J.P; GOIOELLI, L.A; QUINTAL, V.S; IBIDI, S.M; ALBUQUERQUE, E.M. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. **Química nova**. São Paulo, SP, v. 30, n. 7, 2007.

SULLIVAN, D. AOAC Expert Review Panel Approves Official Methods SM for Iodine, Pantothenic Acid, Carnitine, Fatty Acids, Vitamins C and E, and Choline and Additional Methods for Vitamins A and D and Inositol. **Journal of AOAC International**. v.96, n. 3. 2013.

TAI, E.K.K; WANG, X.B; CHEN, Z.Y. Na update on adding docosahexaenoic acid and arachidonic acid to baby formula. **The Royal Society of Chemistry**. v. 4, 2013.

THE EUROPEAN SOCIETY FOR PAEDIATRIC GASTROENTEROLOGY HEPATOLOGY AND NUTRITION – ESPGHAN. Breast- feeding: A commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. v.19. 2009.

TINOCO, S. M. B; STCHERT, R; MOURA, A. S; DO CARMO, M. G. T; Importância dos ácidos graxos essenciais e os efeitos dos ácidos graxos trans do leite materno para o desenvolvimento fetal e neonatal. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro. v.23, n. 3. 2007

VISENTAINER, J.V; **Ácidos graxos em óleos e gorduras**: identificação e quantificação. São Paulo. Editora Varela, 2006. p. 120.

WHELAN, J; GOWDY, K.M; SHAIKH, S.R; N-3 polyunsaturated fatty acids modulate B cell activity in pre – clinical models: Implications for the immune response to infections. **European Journal of Pharmacology**. UK. v. 785. 2015.

