



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

ESCOLA DE NUTRIÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

JOSENI FRANÇA OLIVEIRA LIMA

**COMPOSIÇÃO MINERAL DO LEITE HUMANO EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO**

Salvador
2009

JOSENI FRANÇA OLIVEIRA LIMA

**COMPOSIÇÃO MINERAL DO LEITE HUMANO EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO**

Trabalho de conclusão apresentado, sob a forma de artigo científico, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Nutricional

Orientadora: Profa. Dra. Dalva Maria da Nóbrega Furtunato
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Salvador
2009

Ficha Catalográfica

L 732

Lima, Joseni França Oliveira

Composição mineral do leite humano em diferentes estágios de lactação / Joseni França Oliveira Lima. – Salvador, 2009.

100 f.: il.

Orientadora: Prof^a Dra. Dalva Maria da Nóbrega Furtunato

Co-orientadora: Prof^a Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Dissertação (Mestrado) Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, 2009.

1. Leite humano - composição mineral - lactação. 2. Cálcio - magnésio - potássio - ferro - zinco. 3. Espectrometria de Emissão Óptica; I. Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição. II Furtunato, Dalva Maria da Nóbrega. III. Título.

CDU: 612.664

TERMO DE APROVAÇÃO**JOSENI FRANÇA OLIVEIRA LIMA****COMPOSIÇÃO MINERAL DO LEITE HUMANO EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO**

Trabalho aprovado como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição – UFBA, pela seguinte banca examinadora:

**Prof. Dra. Dalva Maria da Nóbrega Furtunato – Orientadora _____
Doutora em Química Analítica, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Escola de Nutrição /Universidade Federal da Bahia – UFBA**

**Prof. Dra. Maria das Graças Andrade Korn - Co-Orientadora _____
Doutora em Química Analítica, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Instituto de Química /Universidade Federal da Bahia – UFBA**

**Prof. Dra. Ana Marlúcia Oliveira Assis _____
Doutora em Saúde Pública, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Escola de Nutrição / Universidade Federal da Bahia – UFBA**

**Prof. Dra. Maria da Pureza Spinola Miranda _____
Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Faculdade de Farmácia / Universidade Federal da Bahia – UFBA**

Salvador, 29 de janeiro de 2009

“Recomece tantas vezes quantas forem necessárias”
Augusto Cury

Dedicatória

Ao meu amor, Elias, pela total cumplicidade.
À minha filha, Ana, motivação para todas as minhas lutas.

Aos meus pais, Josué e Ignez, por despertarem em mim
o prazer de estudar e me incentivarem para persistir sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Pai e Criador, pelo encontro e abraço de todas as manhãs.

A minha orientadora Professora Doutora Dalva Maria da Nóbrega Furtunato pela compreensão, paciência e apoio constantes.

A minha co-orientadora Professora Doutora Maria das Graças Andrade Korn (Gal) pelo encorajamento e conhecimento técnico indispensável.

A Professora Doutora Ana MarluCIA Oliveira Assis pelas valiosas contribuições.

Aos professores da PPGANS especialmente Sandra Maria Chaves dos Santos, Deusdélia Teixeira de Almeida e Ryzia de Cássia Vieira Cardoso por todas as orientações preciosas.

Aos colegas de turma por estes dois anos de convívio e aperfeiçoamento.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa em Química Analítica do Instituto de Química, pelo aprendizado, e, principalmente, pela companhia alegre, especialmente de Elane.

Às colegas Valéria Camilo, Andrea Oliveira, Judelita, Cristiane, Rose Feliciano e Núbia, pelo incentivo no início desta jornada.

Aos amigos, especialmente, Lázaro, Carmem, Marita e Pedreira pelas palavras de carinho.

Aos colaboradores da ENUFBA, Ana Cristina e José Carlos, pela amizade e companheirismo.

As estagiárias Bruna e Fernanda por partilharem comigo os momentos agradáveis de análise no laboratório.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio concedido.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

PARTE I - ARTIGO CIENTÍFICO 1: Revisão crítica da composição mineral do leite humano em diferentes estágios da lactação	1
RESUMO	3
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	4
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
CONSIDERAÇÕES FINAIS	16
REFERÊNCIAS	17
PARTE I - ARTIGO CIENTÍFICO 2: Concentrações de Ca, Mg, K, Fe e Zn no leite humano em diferentes estágios de lactação	21
RESUMO	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS	30
DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
PARTE II - PROJETO DE PESQUISA: Composição mineral do leite humano em diferentes estágios de lactação	41
1. INTRODUÇÃO	46
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	49
2.1 Leite humano	49
2.1.1 Classificação do leite humano	52
2.2 Composição Centesimal do Leite Humano	54
2.2.1 Proteínas	54
2.2.2 Carboidratos	55
2.2.3 Lipídios.....	56
2.3 Composição Mineral	58
2.3.1 Cálcio	61
2.3.2 Magnésio	62
2.3.3 Potássio.....	64
2.3.4 Ferro	64
2.3.5 Zinco.....	66
2.4 Metodologias para determinação da composição mineral do leite humano	68
2.4.1 Vantagens do ICP OES	69
2.4.2 Desvantagens.....	69
2.4.3 Preparo da amostra	69
3. OBJETIVOS	73
3.1 Geral	73
3.2 Específicos	73
4. MATERIAL E MÉTODOS	74
4.1 População	74
4.2 Aspectos éticos	74
4.3 Coleta do leite humano	74
4.3.1 Protocolo de coleta	74
4.3.2 Estocagem	75
4.4 Informações maternas	75

4.5 Parte experimental	75
4.5.1 Vidraria.....	76
4.5.2 Material permanente.....	76
4.5.3 Reagentes	76
4.5.4 Procedimento para digestão das amostras	77
4.5.5 Determinação dos minerais	78
4.6 Validação do Método	79
4.7 Análise de Dados e Análise Estatística	80
5. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	81
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
7. ANEXOS	92

PARTE I

ARTIGO CIENTÍFICO 1:

**“Revisão Crítica da composição mineral do leite humano em
diferentes estágios da lactação”**

“Revisão crítica da composição mineral do leite humano em diferentes estágios da lactação”

Joseni França Oliveira Lima ¹

¹ Nutricionista e aluna do Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

jonutri_2006@yahoo.com.br

Artigo enviado para apreciação na revista Arquivos Latinoamericanos de Nutrição em novembro 2008.

RESUMO

O leite humano constitui-se em alimento rico em nutrientes e fatores de proteção para a criança desde o seu nascimento. A composição do leite humano apresenta variações quanto à proteínas, carboidratos, ácidos graxos, vitaminas e sais minerais ao longo da lactação. Algumas pesquisas registraram as variações da composição mineral do leite humano. O presente trabalho teve por objetivo apresentar uma revisão bibliográfica sobre a avaliação da composição mineral do leite humano em diferentes estágios de lactação, a partir da década de 1980 até os dias atuais. Os resultados apresentados indicam que a composição mineral do leite humano modifica-se à medida que o aleitamento materno se prolonga e que os minerais ferro e zinco são os que apresentam as maiores variações.

Palavras-chave: composição mineral, leite humano, lactação.

ABSTRACT

Critical revision of mineral composition of human milk in different lactations stages.

Human milk represents a food rich in nutrients and protecting factors for the children until his born. Human milk composition presents variations in regard proteins, carbohydrates, fatty acid, vitamins and minerals during lactation. Some researches asses the variations of the mineral composition in human milk. This study has the goal to present a bibliographic review about researches of human milk mineral composition assessment in different lactations stages, from the 1980 until the present day. The findings showed that the mineral composition of human milk changes as the breastfeeding is extended and that the minerals iron and zinc showing greater variations

Key words: mineral composition, human milk, lactation.

INTRODUÇÃO

O leite humano pode ser definido como o produto das glândulas mamárias produzido pela mulher a partir do final da gestação com o objetivo de suprir as necessidades nutricionais da criança (COSTA, 2002).

O consumo do leite humano nos primeiros dois anos de vida tem repercussão para a saúde durante toda a vida. Pela sua complexidade biológica é uma substância viva, ativamente protetora e imunomoduladora, proporcionando proteção contra infecções e alergias, estimulando o desenvolvimento adequado do sistema imunológico. Vários estudos indicam que o leite humano atua prevenindo a desnutrição e as doenças infecciosas, principalmente as diarreias e infecções respiratórias, causas de morbimortalidade infantil. E, resultados de meta-análises compararam a incidência de dermatites atópicas na infância e encontraram efeito protetor na amamentação exclusiva até os três meses, com evidências do risco do surgimento de doenças alérgicas quando os alimentos sólidos são introduzidos na dieta da criança antes dos 4 meses de idade (PICCIANO, 2001; VIEIRA et al, 2003; OLIVEIRA et al, 2005; LAMOUNIER & LEAO, 2008; GREER et al, 2008).

Por ser um alimento completo, o leite humano deve ser fornecido exclusivamente desde o nascimento até os primeiros seis meses e sua continuidade com alimentos complementares é recomendada até dois anos de vida ou mais. Para as crianças dos países subdesenvolvidos, a adoção da prática do aleitamento materno, pode alterar positivamente o padrão do crescimento na infância (WHO, 2007).

No Brasil, trabalhos relativos à composição mineral do leite humano são escassos e geralmente realizados com nutrizas dos estados da região Sudeste. Na região Nordeste até então, não se tem conhecimento de estudos referentes a composição mineral do leite humano.

O presente trabalho visa revisar a literatura sobre a avaliação da composição mineral do leite humano ao longo da lactação, no período de 1980 a 2008. A bibliografia consultada

foram as identificadas nas bases de dados SCIELO, LILACS E MEDLINE, complementadas com publicações oficiais da OMS (Organização Mundial da Saúde) e do MS (Ministério da Saúde).

As palavras-chave, com respectivos termos em inglês ou espanhol, utilizados para a revisão compreenderam: leite humano (*human milk/ leche materno*), composição mineral (*mineral composition/ composición mineral*), leite de peito (*breast milk/ leche pecho*), lactação (*lactation, lactación*).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Classificação do leite humano

A concentração de muitos dos nutrientes do leite materno varia com a progressão da lactação. Para uma mesma mulher, são registradas variações na concentração de macro e micronutrientes ao longo do dia, durante a mesma mamada, e em períodos diferentes da mesma mamada (OLIVEIRA, 2003; MASTROENI et al, 2006).

Nos primeiros dias após o parto, as glândulas mamárias produzem um líquido viscoso denominado colostro. Esta primeira secreção elaborada para suprir as necessidades nutricionais do lactente na primeira semana de vida, possui teores mais elevados de proteínas, lactoferrina, carotenóides (em especial o β -caroteno) o que lhe confere a coloração amarelada e, minerais, especialmente sódio, potássio e cloro, bem como menor teor de gorduras e carboidratos em comparação aos leites de transição e maduro (OLIVEIRA, 2003; MASTROENI et al, 2006).

A produção do colostro varia de 10 a 100 mL/dia com uma média de 30 mL/dia. Entre 30 e 40 horas após o parto acontecem rápidas mudanças na composição do leite, com aumento do volume e maior concentração de lactose (LAMOUNIER & LEO, 2008).

Em um período intermediário entre a produção do colostro e do leite maduro, as glândulas mamárias produzem o leite chamado de transição, cuja composição varia progressivamente com o decorrer do tempo. Alguns autores consideram que a partir do 7º até o 14º dia o leite pode ser considerado de transição, passando a leite maduro após a segunda semana do parto, quando sua composição torna-se mais estável (EUCLYDES, 2005).

Composição mineral do leite humano

Os minerais ocorrem no organismo humano e nos alimentos, principalmente na sua forma iônica, representando de 4 a 5% do peso corpóreo. Desempenham muitas funções essenciais, alguns como íons dissolvidos nos fluidos corpóreos e outras, como constituintes de compostos essenciais. O equilíbrio de íons minerais nos fluídos corpóreos regula a atividade de muitas enzimas, a produção de sucos digestivos, mantêm o equilíbrio ácido-básico, facilitam o transporte de compostos essenciais nas membranas e possuem funções específicas (BELITZ & GROSCH, 2000).

Os sais minerais são nutrientes importantes para o desenvolvimento e manutenção dos tecidos corporais, essenciais ao crescimento e desenvolvimento normal das crianças. No caso do recém-nascido, a necessidade de minerais é maior do que em crianças e adultos devido ao rápido crescimento corporal e também ao elevado nível de atividades dos caminhos metabólicos envolvidos no crescimento, atividades físicas e combates a infecções, dentre outros (AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000; MORGANO et al, 2005).

Os estudos dos minerais em alimentos tiveram um grande avanço a partir da década de 70, com o desenvolvimento de técnicas analíticas sensíveis e precisas, permitindo a sua quantificação. Portanto, daquela época até os dias atuais, os pesquisadores têm se preocupado em quantificar estes elementos nas dietas de grupos populacionais, visando avaliar a composição dos mesmos e correlacionar estes achados com o estado nutricional dos indivíduos (DOMELLOF et al, 2004).

Lactentes dependem de um suprimento adequado de macrominerais e elementos traço para o crescimento e desenvolvimento normais. Para a maioria destes elementos, a glândula mamária parece ter desenvolvido mecanismos para regular suas concentrações, mesmo em situações em que a dieta materna varia de modo considerável, ou condições maternas são afetadas por exigências adversas. Para alguns elementos, entretanto, parece haver pouca ou nenhuma alteração em seus teores (LONNERDAL, 2000; DOMELLOF et al, 2004).

Principais estudos sobre a composição mineral do leite humano

Devido a importância de macro e micro minerais no desenvolvimento físico dos lactentes, suas possíveis mudanças de concentrações durante a lactação têm sido registradas em diversos estudos.

Pesquisadores determinaram por Espectrometria de Absorção Atômica (FAAS) os teores de cálcio, fósforo, magnésio, sódio e zinco no leite humano maduro entre a segunda e a décima segunda semana em estudo longitudinal realizado com 21 mulheres em Houston, Estados Unidos (EUA), em 1984. Os teores de cálcio e magnésio se mantiveram estáveis ao longo do período estudado, mas para o zinco encontraram variação de $4,1 \text{ mg L}^{-1}$ à $1,6 \text{ mg L}^{-1}$ da 2ª para a 12ª semana (BUTTE et al, 1984).

Na Nigéria, o relato da análise de 380 amostras de leite humano sendo 96 colostro e 284 de leite maduro de 240 mulheres lactantes durante 9 meses de lactação indicou que as concentrações de zinco, cobre, ferro, cálcio e magnésio quantificadas por FAAS declinaram ao longo do seguimento, sendo que o conteúdo de zinco no nono mês correspondia a 13% do total apresentado nos resultados obtidos no colostro. As variações para os minerais cobre, ferro, cálcio e magnésio foram 49%, 60%, 34%, e 74%, respectivamente (MBOFUNG et al, 1984). Os resultados encontrados para o mineral cálcio no leite maduro foram superiores ao do estudo realizado em Houston. Para o zinco e o magnésio os resultados foram semelhantes entre os estudos.

Ainda em 1984, Fransson & Lonnerdal realizaram estudo a fim de verificar o teor de cálcio, magnésio, cobre, ferro e zinco que permaneciam ligados a fração lipídica. Para tanto utilizaram leite maduro de 2 a 3 semanas de lactação. As análises foram determinadas por Espectrometria de Emissão Ótica (ICP) e os resultados demonstraram que 31% do ferro, 15% do cobre, 12% do zinco, 10% do cálcio e apenas 2% do magnésio permanecia ligado a fração lipídica. Os teores encontrados foram 232,4 mg L⁻¹ para cálcio; 34,2 mg L⁻¹ para magnésio; 0,39 mg L⁻¹ para ferro e 1,51 mg L⁻¹ para zinco (FRANSSON & LONNERDAL, 1984). Estes resultados indicam a importância do processo adequado de mineralização para correta quantificação do conteúdo mineral no leite humano.

Uma equipe de pesquisadores realizou estudo longitudinal em Denver, EUA, acompanhando 11 mães durante o 1º mês de lactação, através de coletas diárias de leite e determinaram os teores de zinco, cobre, cromo e manganês (CASEY et al, 1985). Os teores de zinco num total de 259 amostras foram determinados por FAAS e demais elementos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os resultados mostraram variações para zinco de 11,5 ± 4,7 mg L⁻¹ no 2º dia (colostro) para 4,74 ± 1,02 mg L⁻¹ no 8º dia (leite de transição) e 2,98 ± 0,78 mg L⁻¹ no 28º dia (leite maduro). Foi possível observar de forma mais precisa o declínio acentuado que ocorre no teor de zinco do estágio de colostro até leite maduro.

Outro estudo longitudinal com 45 mulheres em Houston, EUA, foi realizado em 1987, durante quatro meses (BUTTE et al, 1987). Neste realizaram-se coletas mensais para avaliar os teores de cálcio, fósforo, potássio, sódio, ferro, cobre e zinco no leite humano maduro. Os teores determinados para cálcio foram mais elevados do que no estudo anterior coordenado pelo mesmo pesquisador (FRANSSON & LONNERDAL, 1984), enquanto os valores para magnésio e zinco foram menores para os mesmos estágios de lactação. Os resultados para o potássio e ferro no quarto mês correspondiam a 89% e 66% respectivamente, em relação ao

conteúdo inicial. Nos dois estudos, a determinação dos minerais foi feita por FAAS, contudo o grupo de mulheres deste estudo foi maior do que no estudo anterior.

Um segundo estudo longitudinal foi realizado em Denver, EUA, pelo mesmo grupo de pesquisadores do estudo anterior (CASEY et al, 1985). Este estudo com duração de 18 meses, envolveu 13 mães, e foram determinados os teores de zinco, cobre e manganês por Espectrometria de Absorção Atômica FAAS. Foram encontradas variações para zinco de $7,19 \pm 1,83 \text{ mg L}^{-1}$ aos 7 dias; $4,43 \pm 1,07 \text{ mg L}^{-1}$ no primeiro mês e $0,754 \pm 0,459 \text{ mg L}^{-1}$ aos 12 meses (CASEY et al, 1989). Este estudo permitiu o acompanhamento do declínio acentuado deste mineral por um período mais prolongado.

De origem sul-americana, investigação realizada com amostras de leite de 45 mães lactantes venezuelanas, analisou amostras de colostro (48 horas) e de leite maduro nos estágios de 1, 3 e 6 meses para determinação de cálcio, ferro, zinco, cobre, magnésio e fósforo. As mulheres deste estudo pertenciam a baixo estrato socioeconômico e residiam em áreas com deficientes condições sanitárias. Observou-se em relação ao conteúdo de minerais: variações de cálcio e ferro; diminuição de zinco no decorrer do período; aumento de potássio e magnésio em relação ao colostro e estabilização entre os 3 e 6 meses de lactação, bem como aumento de cobre no primeiro mês, diminuindo em níveis semelhantes ao colostro e mantendo-se constante até os seis meses (CARIAS et al, 1997). Os resultados foram concordantes apenas para magnésio com aqueles encontrados nos estudos anteriores. Os minerais cálcio e ferro apresentaram valores mais elevados do que nos estudos norte-americanos para os mesmos estágios de lactação. Quando comparado com outros estudos, o conteúdo de zinco foi inferior para a fase de colostro, mas com valores semelhantes para o leite maduro. Os estudos utilizaram processos analíticos semelhantes e a técnica empregada para leitura dos minerais foi Espectrometria de Absorção Atômica .

Também realizado na Venezuela, estudo analisou os teores de cálcio, fósforo, magnésio, cobre, ferro e zinco aos 3 dias (colostro), 7 dias (leite de transição) e 21 dias (leite maduro) de 72 doadoras residentes na cidade de Caracas. Os valores para cálcio aumentaram do colostro para o leite de transição e diminuíram para o leite maduro. O teor de zinco reduziu do colostro para o leite maduro ($7,1 \pm 2,5 \text{ mg L}^{-1}$ para $2,8 \pm 2,7 \text{ mg L}^{-1}$). Houve uma pequena redução dos teores de magnésio ($33,3 \pm 7,5 \text{ mg L}^{-1}$ para $25,2 \pm 3,3 \text{ mg L}^{-1}$) e ferro ($0,49 \pm 0,14 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,36 \pm 0,09 \text{ mg L}^{-1}$) do colostro para o leite maduro (ITRAGO et al, 1997). Todos os resultados encontrados foram semelhantes àqueles encontrados pelos pesquisadores norte-americanos.

Dórea (2000) em artigo de revisão cita que a maior parte dos valores encontrados para o magnésio em leite humano está abaixo da mediana de 31 mg L^{-1} . São reportados valores oscilando entre 20 e 40 mg L^{-1} . Variações observadas na concentração de magnésio nos estudos não parecem ser moduladas por fatores constitucionais ou ambientais. A ingestão de magnésio na dieta materna não apresenta efeito sobre o magnésio no leite humano. O magnésio no leite humano é bem absorvido e não há registro de limitações em prover o adequado aporte de magnésio para a criança exclusivamente alimentada no peito.

Em estudo comparativo realizado no Kuwait, pesquisadores determinaram a concentração de proteína e o teor de zinco, cobre, ferro e manganês do leite e do plasma em estudo comparativo entre mulheres árabes e não árabes residentes no Kuwait. A leitura dos minerais foi feita por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) no colostro e leite maduro aos 6 e 12 meses de lactação. A concentração de todos os elementos diminuiu ao longo da lactação, exceto o ferro que se manteve constante. No leite das mulheres do Kuwait os teores se apresentaram significativamente mais elevados ($0,43 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$ e $3,2 \pm 0,12 \text{ mg L}^{-1}$) do que das mulheres estrangeiras ($0,33 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$ e $2,4 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$) para os elementos zinco e ferro respectivamente. Estes resultados foram

atribuídos ao estilo de vida e hábitos alimentares diferenciados entre os grupos. Os pesquisadores relatam que as diferenças na concentração do zinco e ferro encontrada no leite entre os grupos pode ter sido influenciada pelo conteúdo protéico (AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000).

Na Espanha, Silvestre e colaboradores (2000) analisaram 10 amostras de leite humano coletadas na maternidade do Hospital Clínico de Valencia, de cada estágio: colostro, leite de transição, leite maduro de 30 dias, de 60 dias e de 90 dias. cobre, zinco e ferro foram quantificados por FAAS e os valores diminuíram com a progressão da lactação. Os teores de ferro diminuíram de $0,52 \pm 0,14 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,38 \pm 0,12 \text{ mg L}^{-1}$ e para o elemento zinco de $8,60 \pm 1,82 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,89 \pm 0,27 \text{ mg L}^{-1}$. O conteúdo de zinco no terceiro mês correspondia a 10% do total apresentado no colostro e as porcentagens para cobre e ferro foram 53% e 73%, respectivamente. Apesar da amostragem ser menor do que nos estudos anteriores, os valores encontrados para os estágios analisados foram concordantes com os estudos realizados com leite de mulheres norte-americanas.

Investigadores portugueses coletaram 55 amostras de leite nos estágios de 2 semanas a 5 meses coletadas de 11 doadoras canarianas, em Tenerife, e quantificaram as concentrações de cálcio, magnésio, sódio e potássio utilizando ICP OES. Os resultados apresentaram um progressivo decréscimo na concentração de cálcio, potássio e sódio, contudo a idade materna, paridade e sexo das crianças não influenciaram os resultados significativamente. A média dos valores encontrados para cálcio, magnésio e potássio foram $313,3 \pm 52,9 \text{ mg L}^{-1}$; $40,11 \pm 9,75 \text{ mg L}^{-1}$ e $602,7 \pm 118,5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (RODRIGUEZ et al, 2002). Os valores determinados para o potássio foram bem superiores aos encontrados pelos pesquisadores em lactantes brasileiras, concordantes apenas com os valores encontrados em leite maduro em mulheres japonesas com um mês de lactação.

No Brasil, estudo comparativo realizado no Rio de Janeiro não encontrou diferenças significativas em relação aos níveis de ferro no colostro de mães de recém-nascidos a termo e pré-termo (COSTA, 2002). Entretanto a concentração média do cobre foi significativamente maior no colostro de mães de recém-nascidos pré-termo ($0,67 \pm 0,28 \text{ mg L}^{-1}$) quando comparado com colostro de mães de recém-nascidos a termo ($0,54 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$). O teor de zinco foi maior no colostro de mães de recém-nascidos a termo ($6,97 \pm 2,82 \text{ mg L}^{-1}$) em relação ao colostro de mães de recém-nascidos pré-termo ($5,55 \pm 2,71 \text{ mg L}^{-1}$).

Oliveira (2003) coletou e analisou o leite de 46 mães doadoras internadas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Minas Gerais, sendo 28 amostras de colostro (7º dia), 39 de leite de transição (15º dia) e 41 de leite maduro coletado nos estágios de 30 e 120 dias. Os teores de minerais foram determinados por ICP OES. Neste estudo os valores de macroelementos encontrados estão de acordo com os achados da literatura, exceto para o potássio que apresentou teor de $529,6 \pm 120,3 \text{ mg L}^{-1}$ no colostro, valor médio superior quando comparado ao de outras investigações. O teor de cálcio decresceu de $255,1 \pm 60,1$ para $227,5 \pm 30,5 \text{ mg L}^{-1}$, diferindo de alguns estudos (9,29) que encontraram aumento deste mineral do colostro para o leite maduro em suas investigações. O conteúdo de magnésio apresentou discreto aumento de $28,5 \pm 4,7$ para $30,9 \pm 5,8 \text{ mg L}^{-1}$ do colostro para o leite maduro. Para os elementos-traço, como zinco os teores médios detectados no colostro ($4,24 \pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$) foram maiores quando comparados ao leite maduro em média de $1,27 \pm 0,7 \text{ mg L}^{-1}$, concordando com a literatura. Contudo o ferro se manteve estável do apresentando pequena variação do colostro ($0,4 \pm 0,3 \text{ mg L}^{-1}$) para o leite maduro ($0,3 \pm 0,1 \text{ mg L}^{-1}$).

Estudo realizado em dois bancos de leite humano no Paraná, Brasil, pesquisadores analisaram 46 amostras de leite humano pasteurizado, sendo 26 de leite maduro, 10 de colostro e 10 amostras procedentes de mães de prematuros. Os minerais determinados foram os seguintes: cálcio, magnésio, potássio, fósforo, sódio e zinco. A composição variou tanto

entre os diferentes tipos de leite quanto entre doadoras do mesmo tipo de leite (BORTOLOZZO et al, 2004). O valor encontrado para cálcio foi de $178,8 \pm 55,6 \text{ mg L}^{-1}$, inferior aos de outros pesquisadores para leite maduro. Sabe-se que um percentual de conteúdo de cálcio no leite pode permanecer ligado a fração lipídica e os processos de congelamento e descongelamento antes e após a pasteurização, acarretam o rompimento das membranas dos glóbulos de gordura, facilitando sua aderência às paredes dos frascos de armazenamento (CASEY et al, 1985; SILVA, 2007) Deste modo, o valor determinado nas amostras descongeladas pode resultar em baixos valores para alguns minerais, a exemplo do cálcio e do ferro.

Um estudo longitudinal realizado no Japão por Yamawaki e colaboradores (2005) com aproximadamente 4000 (quatro mil) mulheres entre dezembro de 1998 e setembro de 1999 de várias regiões do Japão, coletaram 4056 amostras de leite em diferentes estágios de lactação. Deste total, 1197 amostras foram submetidas a análise para macro e micronutrientes. Entre o 1º e o 6º mês de lactação, cálcio e magnésio se mantiveram estáveis, enquanto ferro, potássio e zinco sofreram redução em seus valores. O zinco decresceu de forma mais significativa de $4,75 \pm 2,48 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,67 \pm 0,80 \text{ mg L}^{-1}$. Entre o 6º e o 12º mês de lactação os elementos permaneceram estáveis, exceto o ferro cujo valor aumentou de $0,52 \pm 1,43 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,85 \pm 0,66 \text{ mg L}^{-1}$.

Um estudo transversal realizado com amostras de leite maduro (25 a 35 dias após parto) de 151 doadoras de bancos de leite da cidade de Marília, São Paulo, Brasil encontrou resultados coerentes aos de outros pesquisadores para elementos como cálcio ($263,55 \pm 64,73 \text{ mg L}^{-1}$), ferro ($0,35 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$), potássio ($489,76 \pm 132,2 \text{ mg L}^{-1}$), magnésio ($26,53 \pm 6,84 \text{ mg L}^{-1}$) e zinco ($2,85 \pm 1,10 \text{ mg L}^{-1}$). Neste estudo as maiores variações na composição mineral foram observadas para o elemento ferro (MORGANO et al, 2005).

Pesquisadores realizaram estudo longitudinal envolvendo 43 doadoras realizado na cidade de Jundiaí, Brasil, entre agosto e outubro de 1999, do segundo dia ao segundo mês de lactação (MASTROENI et al, 2006). Encontraram redução para potássio, ferro e zinco ($9,3 \pm 3,6 \text{ mg L}^{-1}$ para $1,5 \pm 0,6 \text{ mg L}^{-1}$) do colostro para o leite maduro. A maior concentração do elemento zinco determinada para o colostro e o declínio acentuado para leite maduro está de acordo com os achados da literatura. O valor do magnésio permaneceu estável ($28,6 \pm 7 \text{ mg L}^{-1}$ para $29,9 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$) e o teor de cálcio aumentou de ($214 \pm 58 \text{ mg L}^{-1}$ para $250 \pm 31 \text{ mg L}^{-1}$).

Almeida e colaboradores determinaram a concentração de diversos elementos traços como manganês, chumbo, cobre, zinco e selênio em amostras de leite humano coletadas de um grupo de 44 mulheres portuguesas lactantes, sendo 34 doadoras de colostro (2º dia de lactação) e 19 doadoras de leite maduro (1 mês pós parto). Todos os elementos analisados apresentaram decréscimo de concentração durante o primeiro mês de lactação, concordando com resultados relatados por outros autores. O teor de zinco decresceu 23% em relação à concentração do colostro. Amostras de sangue também foram coletadas nos mesmos períodos e nenhuma correlação foi observada entre os níveis de elementos traço do sangue e do colostro (ALMEIDA et al, 2008)..

Os resultados apresentados mostram que existe uma variação nos teores dos minerais analisados tanto no que se refere ao colostro quanto ao leite maduro. A Tabela 1 apresenta a composição mineral do leite humano em diferentes estágios de lactação em mg L^{-1} obtida por diferentes pesquisadores.

Tabela 1 - COMPOSIÇÃO MINERAL DO LEITE HUMANO EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO (mg L⁻¹) OBTIDA POR DIFERENTES PESQUISADORES

Pesquisador/ ano/ país	Tipo de leite	Coletas	Cálcio	Magnésio	Potássio	Ferro	Zinco
Butte et al, 1984 EUA	Leite maduro	2 a 12 ^o . semana	255 ± 48	33 ± 8			3,4 ± 0,8
			254 ± 52	31 ± 8			2,9 ± 0,9
			267 ± 24	35 ± 9			2,1 ± 0,9
			258 ± 22	36 ± 9			1,9 ± 0,6
			270 ± 25	38 ± 9			1,8 ± 1,0
			260 ± 26	39 ± 10			1,4 ± 0,7
Fransson & Lonerdal,1984	Leite maduro	2 ^a a 4 ^a semana	232,4 ± 46,1	34,2±12,8		0,39±0,15	1,51±1,08
Casey et al., 1985 EUA	Colostro Transição leite maduro	2dias					11,5±4,7
		8dias					4,74±1,02
		28dias					2,98±0,78
Butte et al, 1987 EUA	Leite maduro	1 mês	297 ± 37	27 ± 4	466 ± 62	0,242 ± 0,111	2,3 ± 0,8
		2 mês	301 ± 35	30 ± 5	451 ± 60	0,203 ± 0,083	1,5 ± 0,6
		3 mês	292 ± 35	32 ± 6	437 ± 54	0,182 ± 0,077	1,1 ± 0,5
		4 mes	285 ± 31	34 ± 6	416 ± 45	0,160 ± 0,069	1,0 ± 0,5
Casey et al., 1989 EUA	Colostro Leite maduro	1a semana					7,19 ± 1,83
		1 mes					4,43 ± 1,07
		12 meses					0,754 ± 0,459
Carias et al, 1997 Venezuela	Colostro Leite maduro	Colostro	425,4 ± 122,8	25,34 ± 5,71		0,82 ± 0,23	2,56 ± 0,57
		1 mês	438,9 ± 67,8	25,60 ± 5,29		0,84 ± 0,29	1,93 ± 0,58
		3 meses	416,8 ± 53,5	31,13 ± 4,37		0,74 ± 0,20	1,52 ± 0,52
		6 meses	391,5 ± 42,2	30,70 ± 4,45		0,68 ± 0,18	1,31±0,62
Itriago et al, 1997 Venezuela	Colostro. Transição leite maduro	3dias	214 ± 62	33,3 ± 7,5		0,49 ± 0,14	7,1 ± 2,5
		7dias	292 ± 62	30,4± 5,2		0,38 ± 0,08	4,0 ± 1,0
		21dias	244 ± 49	25,2± 3,3		0,36 ± 0,09	2,8 ± 2,7
Silvestre et al, 2000 Espanha	Colostro Transição Leite maduro	Colostro				0,52 ± 0,14	8,60 ± 1,82
		Transição				0,48 ± 0,13	3,45 ± 0,58
		1 mes				0,43 ± 0,13	1,97 ± 0,25
		2 meses				0,42 ± 0,12	1,24 ± 0,33
		3 meses				0,38 ± 0,12	0,89 ± 0,27
Al-Awadi & Srikumar, 2000 Kuwait	Leite maduro	6meses				0,43 ± 0,04	3,2 ± 0,12
		6meses				0,33 ± 0,03	2,4 ± 0,06
		12meses				0,38 ± 0,05	2,4 ± 0,14
		12meses				0,27±0,02	1,9 ± 0,05
Costa, 2002 Brasil	Colostro	1 ^a semana				1,71 ± 1,01	6,97 ± 2,82
Rodriguez, 2002 Tenerife	Leite maduro	2 ^a semana ao 5 ^o mês	313,3 ± 52,9	40,11 ± 9,75	602,7 ± 118,5		
Oliveira, 2003 Brasil	Colostro Transição Leite maduro	7 ^o dia	255,1 ± 60,1	28,5 ± 4,7	529,6 ± 120,3	0,4 ± 0,3	4,24 ± 1,3
		15 ^o dia	231,9 ± 50,9	26,4 ± 5,0	487,0 ± 97,3	0,4 ± 0,2	3,63 ± 1,2
		1 mês	244,0 ± 60,2	26,1 ± 6,1	439,4 ± 88,5	0,5 ± 0,4	2,67± 1,0
		4 meses	227,5 ± 30,5	30,9 ± 5,8	400,5 ± 58,5	0,3 ± 0,1	1,27±0,7
Bortolozzo et al, 2004 Brasil	Colostro Leite maduro	Indefinido	178,8 ± 55,6	21,5 ± 3,9	355,3 ± 75,4		4,6 ± 2,6
			227,5 ± 102,4	26,4 ± 6,7	437,5 ± 143,2		7,5 ± 2,5
			220,3 ± 93,9	21,6 ± 2,6	443,7 ± 128,3		7,2 ± 2,6
Yamawaki et al., 2004 Japão	Colostro Transição Leite maduro	1-5; 6-10; 11-20; 21-89; 90-180; 181-365dias	293 ± 72	32 ± 5	723 ± 127	1,10 ± 0,54	4,75 ± 2,48
			310 ± 97	30 ± 9	709 ± 228	0,96 ± 0,7	3,84 ± 1,39
			304 ± 41	29 ± 6	639 ± 104	1,36 ± 0,83	3,37 ± 0,89
			257 ± 63	25 ± 7	466 ± 83	1,80 ± 3,27	1,77 ± 1,08
			230 ± 74	27 ± 11	434 ± 103	0,52 ± 1,43	0,67 ± 0,80
			260 ± 54	33±7	432 ± 70	0,85 ± 0,66	0,65 ± 0,43
Morgano et al, 2005 Brasil	Leite maduro	1 mês	263,55 ± 64,73	26,53 ± 6,84	489,76 ± 132,20	0,35 ± 0,33	2,85 ± 1,10

Mastroeni et al, 2006 Brasil	Colostro Leite maduro	2º dia 2 meses	214 ± 58 250 ± 31	28,6 ± 7 29,9 ± 5	628 ± 115 462 ± 8,4	1,2 ± 0,8 0,9 ± 0,5	9,3 ± 3,6 1,5 ± 0,6
Almeida et al. 2008 Portugal	Colostro Leite maduro	2º dia 1º mês					12,1 ± 4,7 2,8 ± 1,2

A Tabela 2 a seguir apresenta de forma abrangente a variação dos resultados descritos nesta revisão de literatura.

Tabela 2 - VARIAÇÃO NOS TEORES DE Ca, MG, K, Fe e Zn NO COLOSTRO E LEITE MADURO POR DIFERENTES PESQUISADORES (mg L⁻¹)

	Cálcio	Magnésio	Potássio	Ferro	Zinco
Colostro	178,8 ± 56,6 à 425,4 ± 122,8	21,5 ± 3,9 à 33,3 ± 7,5	355,3 ± 75,5 à 723,0 ± 127,0	0,40 ± 0,3 à 1,71 ± 1,01	2,56 ± 0,57 à 12,1 ± 4,7
Leite maduro	227,5 ± 30,5 à 438,9 ± 67,8	25,2 ± 3,3 à 40,11 à 9,75	400,5 ± 58,5 à 639,0 ± 104,0	0,160 ± 0,069 à 1,80 ± 3,27	0,65 ± 0,43 à 7,5 ± 2,5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do estudo de revisão bibliográfica realizado, algumas considerações podem ser feitas. Os estudos investigativos demonstram que as concentrações de sais minerais, sofrem alterações na composição total do leite, à medida que o aleitamento materno se prolonga.

O estágio de lactação do leite humano menos estudado foi na fase de transição e o período mais estudado é representado pelo leite maduro. Existe grande variabilidade de resultados para todos os minerais apresentados nas fases de leite maduro e colostro, sendo que a fase de transição é a que apresenta menor variação nos resultados.

Nas investigações estudadas verificou-se que o ferro foi o elemento que apresentou maiores variações, independente do procedimento metodológico utilizado. O zinco foi o mineral que apresentou maior declínio ao longo da lactação em todos os estudos, concordando com os registros da literatura.

A comparação entre os dados fica limitada, pois os pesquisadores geralmente se utilizam de bancos de leite e nem sempre apresentam um estudo bem definido sobre a população. Além disto, os procedimentos de preparação não são uniformizados, bem como os métodos analíticos e instrumentos de análise e em alguns casos a estocagem das amostras ocorre em diferentes temperaturas.

REFERÊNCIAS

AL-AWADI FM, SRIKUMAR TS. Trace elements status milk and plasma of Kwait and non-Kwait lactating mothers. *Nutrition* 2000; 16:1069-1073.

ALMEIDA AA, LOPES CMPV, SILVA AMS, BARRADO E. Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, in press. 2008.

BELITZ HD, GROSCH W. *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 2000.

BORTOLOZZO EAFQ, TIBONI EB, CÂNDIDO LMB. Padrão Microbiológico e Sanitário do Leite Humano Processado em Banco de leite, *Revista Higiene Alimentar* 2004; 18:85-88.

BUTTE NF, GARZA C, JOHNSON CA, SMITH EOB, NICHOLS BL. Longitudinal changes in milk composition mothers delivering preterm and term infants. *Early Human Development* 1984; 9: 153-162.

BUTTE NF, GARZA C, SMITH EOB, WILLS C, NOCHOLS BL. Macro and trace mineral intakes of exclusively breast-fed infant. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 45:42-48.

CARIAS D, VELÁSQUEZ G, CIOCCIA AM, PIÑERO D, INCIARTE H, HEVIA P. The effect of lactation on the macronutrient and mineral composition of milk from Venezuelan women. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1997; 47: 110-117.

CASEY CE, HAMBIDGE KM, NEVILLE MC. Studies in human lactation: zinc, copper, manganese and chromium in human milk in the first month of lactation. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1985; 41:1193-1200.

CASEY CE, NEVILLE MC, HAMBIDGE KM. Studies in human lactation: secretion of zinc, copper and manganese in human milk. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1989; 49: 773-785.

COSTA RSS, Níveis de Ferro, Cobre e Zinco em colostro de puérperas adultas de recém-nascidos a termo e pré-termo, segundo variáveis maternas e socioeconômicas. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil* 2002; 2: 43-50.

DOMELLOF M, LONNERDAL B, DEWEY KG, COHEN RJ, HERNELL O. Iron, Zinc and copper concentrations in breast milk are independent of maternal status. *American Journal of Clinical Nutrition* 2004; 79: 111-115.

DOREA JG. Magnesium in human Milk. *Journal of the American College of Nutrition* 2000; 19: 210-219
EUCLYDES MP. *Nutrição do Lactente: Base científica para uma alimentação saudável*. Viçosa; 2005.

FRANSSON GB & LONNERDAL B. Iron, Copper, zinc, calcium and magnesium in human milk fat. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1984; 39: 185-189.

GREER FR, SICHERER SH, BURKS AW. Effects of Early Nutritional Interventions on the Development of Atopic Disease in Infants and Children: The Role of Maternal Dietary Restriction, Breastfeeding, Timing of Introduction of Complementary Foods, and Hydrolyzed Formulas. *Pediatrics* 2008;121:183-191.

ITRAGO A, CARRIÓN N, FERNÁNDEZ A, PUIG M, DINI E. Zinc, copper, iron, calcium, phosphorus and magnesium content of maternal milk during the first 3 weeks of lactation. *Arquivos Latinoamericanos de Nutrição* 1997; 47: 14-22.

LAMOUNIER JA, LEO E. Nutrição na infância. In: *Ciências Nutricionais*. J. E. Dutra de Oliveira e J. Marchini. São Paulo: Savier; 2008. p. 216-237

LONNERDAL B. Regulation of Mineral and Trace Elements in Human Milk: Exogenous and Endogenous Factors. *Nutrition Reviews* 2000; 58: 223-229.

MASTROENI, SBS; OKADA, I A; RONDÓ, PHC; DURAN, MC; PAIVA AA; NETO, JM. Concentrations of Fe, K, Na, Ca, P, Zn and Mg in Maternal Colostrum and mature Milk. *Journal of Tropical Pediatrics* 2006; 52: 272-275.

MBOFUNG CM, ATINMO T, OMOLOLU A. Mineral content of colostrum and mature milk of lactating Nigerian women as influenced by stage of lactation. *Nutritional Reports International* 1984; 30: 1137-1146.

MORGANO MA, SOUZA LA, NETO JM, RONDÖ PHC. Composição mineral do leite materno de bancos de leite. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2005; 5: 1-6.

OLIVEIRA MCC. Práticas de Amamentação, Teores de Minerais e Vitamina A no Leite Humano em Diferentes Fases de Lactação segundo Variáveis Maternas [dissertação mestrado]. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais; 2003.

OLIVEIRA LPM, ASSIS AMO, PRADO GSSMS, BARRETO M. Duração do aleitamento, regime alimentar e fatores associados segundo condições de vida em Salvador, Bahia, Brasil. *Caderno de Saúde Pública* 2005; 21:1519-1530.

PICCIANO MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatric Clinics of North America* 2001; 48:53-67.

RODRIGUEZ EMR, ALAEJOS MS, ROMERO CD. Concentraciones de calcio, magnesio, sodio y potasio en leche materna y fórmulas de inicio. *Arquivos Latinoamericanos de Nutrição* 2002; 52: 406-412.

SILVA RC, Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura, *Química Nova* 2007; 30: 1535-1538.

SILVESTRE MD, LAGARDA MJ, FARRE R, MARTNEZ-COSTA C, BRINES J. Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion. *Food Chemistry* 2000; 68: 95-99.

VIEIRA GO, SILVA LR, VIEIRA TO. Alimentação infantil e morbidade por diarreia. *Jornal de Pediatria* 2003; 79: 449-454.

WHO. Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic review and meta-analyses, Geneva: World Health Organization, 2007.

YAMAWAKI N, YAMADA M, KAN-NO T, KOJIMA T, KANEKO T, YONEKUBO A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2005; 9: 171-181.

PARTE I

ARTIGO CIENTÍFICO 2: Concentrações de Ca, Mg, K, Fe e Zn no leite humano em diferentes estágios de lactação

ARTIGO CIENTÍFICO 2:

“Concentrações de Ca, Mg, K, Fe e Zn no leite humano em diferentes estágios de lactação”

“Concentrações de Ca, Mg, K, Fe e Zn no leite humano em diferentes estágios de lactação”

Joseni França Oliveira Lima ¹

¹ Nutricionista e aluna do Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

jonutri_2006@yahoo.com.br

RESUMO

O leite humano é um alimento completo, capaz de suprir todas as necessidades fisiológicas e nutricionais da criança. Vários estudos destacam a importância do aleitamento materno para a saúde e nutrição do lactente, em especial pela sua proteção contra doenças e pelo valor nutricional, contudo poucas investigações abordam seu conteúdo mineral. O objetivo deste estudo foi quantificar os elementos minerais cálcio, magnésio, potássio, ferro e zinco em 102 amostras de leite humano coletadas de doadoras de cidades do Vale do Jiquiriçá, Bahia em diferentes estágios: 1, 6 e 12 meses de lactação bem como estudar a relação entre os minerais e as variáveis maternas. Para o tratamento das amostras foi utilizado um procedimento de decomposição por via úmida com uma mistura composta de HNO_3 , H_2SO_4 e H_2O_2 . A determinação dos minerais foi realizada empregando um espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES). Os valores médios obtidos para os elementos estudados no 1º. mês de lactação foram: Ca ($204,11 \pm 49,15 \text{ mg L}^{-1}$); Mg ($25,17 \pm 6,58 \text{ mg L}^{-1}$); K ($497,26 \pm 103,09 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0,48 \pm 0,27 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($2,56 \pm 0,90 \text{ mg L}^{-1}$). Para os 6 meses, com exceção do Mg ($26,99 \pm 9,64 \text{ mg L}^{-1}$) observou-se um ligeiro declínio nas concentrações médias do Ca ($177,70 \pm 48,60 \text{ mg L}^{-1}$); K ($403,61 \pm 106,31 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0,26 \pm 0,16 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($1,14 \pm 0,63 \text{ mg L}^{-1}$). Para os 12 meses de lactação as médias declinaram mais ainda, identificando as seguintes concentrações Ca ($169,54 \pm 43,18 \text{ mg L}^{-1}$); K ($362,53 \pm 88,64 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0,38 \pm 0,25 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($0,92 \pm 0,66 \text{ mg L}^{-1}$), exceto para Mg ($25,17 \pm 6,43 \text{ mg L}^{-1}$). Quando analisadas por pareamento (teste t) o declínio foi significativo para o Ca ($\rho=0,029$); K ($\rho=0,001$); Fe ($\rho=0,006$) e Zn ($\rho<0,001$) no intervalo de 1/6 meses. Contudo, no intervalo de 6/12 meses, apenas o teor de Ca manteve diferença estatisticamente significativa no declínio ao longo de tempo ($\rho=0,01$). As concentrações obtidas para Mg não apresentam variação média significativa ao longo da lactação. Os resultados apresentados demonstram que a composição mineral do leite humano modifica-se à medida que o aleitamento materno se prolonga e que o Fe é o mineral que apresenta maior variabilidade. Observou-se, através da comparação de médias, influência significativa do tipo de parto para os resultados obtidos para Mg no 6º mês de lactação ($\rho=0,028$) e do estado nutricional materno para Ca no 12º mês de lactação ($\rho=0,04$) a 5% de probabilidade.

Palavras-chave: Leite humano, composição mineral, cálcio, magnésio, potássio, ferro, zinco, ICP OES

ABSTRACT

Human milk is a complete food, enough to supply all physiology and nutritional child necessity. Several resources highlight the importance of maternal lactation to child health and nutrition, especially because of protection against diseases and the nutritional value, although few investigations contemplate mineral content. The objective of this study is to quantify calcium, magnesium, potassium, iron and zinc in 102 human milk samples collected from Jiquiriçá's Valley women, Bahia, in different stages: 1, 6 and 12 month of lactation and the influence between the minerals and maternal variables. For sample treatment was utilized a decomposition procedure using a mixture of HNO_3 , H_2SO_4 and H_2O_2 . The minerals determination was made employing Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The media values determined for first month of lactation were: Ca ($204.11 \pm 49.15 \text{ mg L}^{-1}$); Mg ($25.17 \pm 6.58 \text{ mg L}^{-1}$); K ($497.26 \pm 103.09 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0.48 \pm 0.27 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($2.56 \pm 0.90 \text{ mg L}^{-1}$). For sixth month, values decreased for Ca ($177.70 \pm 48.60 \text{ mg L}^{-1}$); K ($403.61 \pm 106.31 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0.26 \pm 0.16 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($1.14 \pm 0.63 \text{ mg L}^{-1}$), with exception of Mg ($26.99 \pm 9.64 \text{ mg L}^{-1}$). In the 12th of lactation, concentrations decreased for Ca ($169.54 \pm 43.18 \text{ mg L}^{-1}$); K ($362.53 \pm 88.64 \text{ mg L}^{-1}$); Fe ($0.38 \pm 0.25 \text{ mg L}^{-1}$); Zn ($0.92 \pm 0.66 \text{ mg L}^{-1}$), except for Mg ($25.17 \pm 6.43 \text{ mg L}^{-1}$). When the results were analyzed by paired test t, the declination was significant to Ca ($\rho=0.029$); K ($\rho=0.001$); Fe ($\rho=0.006$) and Zn ($\rho<0,001$) in 1/6 month interval. However, for 6/12 month interval only Ca maintain statistically significant difference between medias during lactation ($\rho=0.01$). The Mg concentrations don't present significant media variation during lactation. Results show that mineral composition human milk modified during lactation and Fe is the mineral that shows more variability. It was observed significant influence by parturition type for Mg in 6th month of lactation ($\rho= 0.028$) and maternal nutritional status for Ca in 12th lactation ($\rho= 0.04$) with 5% of probability.

Key words: Human Milk, Mineral composition, calcium, magnesium, potassium, iron, zinc, ICP OES

INTRODUÇÃO

O leite humano é um fluido extremamente complexo que contém não apenas nutrientes em quantidades ajustadas às necessidades nutricionais e à capacidade digestiva e metabólica da criança, como também fatores protetores e substâncias bioativas que garantem sua saúde e desenvolvimento pleno. Ele é capaz de exercer certo grau de controle sobre o metabolismo, que se estende da sutileza das divisões celulares até o comportamento da criança, assim como o desenvolvimento e manutenção da função mamária (AKRÉ, 1994; EUCLYDES, 2005).

Vários estudos indicam que o leite humano atua prevenindo a desnutrição e as doenças infecciosas, principalmente as diarreias e infecções respiratórias, causas de morbimortalidade infantil (PICCIANO, 2001; VIEIRA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), por ser um alimento completo, o leite humano deve ser fornecido exclusivamente desde o nascimento até os primeiros seis meses de vida e sua continuidade com alimentos complementares é recomendada até pelo menos os dois anos de idade da criança (WHO, 2007).

Nos primeiros dias após o parto, as glândulas mamárias produzem um líquido de coloração amarelada mais viscoso que o leite maduro, denominado colostro. Em um período intermediário entre a produção do colostro e do leite maduro, as glândulas mamárias produzem o leite chamado de transição, cuja composição varia progressivamente com o decorrer do tempo. Alguns autores consideram que só a partir do 7º dia até o 14º dia do parto, o leite pode ser considerado de transição, passando a leite maduro após a segunda semana, quando sua composição torna-se mais estável (AKRÉ 1994; EUCLYDES, 2005; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

A concentração de muitos nutrientes varia com a progressão da lactação, com grandes mudanças na primeira semana pós-parto, e mesmo durante a mesma mamada. Para uma mesma mulher, são registradas variações no decorrer da lactação, ao longo do dia e durante a mesma mamada, havendo diferenças do início ao final da mamada, com alterações na concentração de macro e micro nutrientes, inclusive os minerais (AKRÉ, 1994; OLIVEIRA, 2003; EUCLYDES, 2005; MASTROENI et al., 2006).

Os minerais são essenciais para o metabolismo humano, exercendo funções importantes para a vida, como crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde de tecidos corporais. No caso da criança, a necessidade de minerais é maior do que em adultos devido ao rápido crescimento corporal e também ao elevado nível de atividades metabólicas

envolvidas no crescimento, atividades físicas e combates a infecções. O atendimento a essa demanda é feito pelo leite materno, até que chegue a época de maturação funcional pelos órgãos e sistemas da criança (WHO, 2007).

No Brasil, trabalhos relativos à composição mineral do leite humano são escassos e geralmente realizados com nutrizes dos estados da região Sudeste. Na região Nordeste até então, não se tem conhecimento de estudos referentes à composição mineral do leite humano.

Este estudo objetivou avaliar as mudanças na composição mineral do leite humano produzido em diferentes estágios de lactação, bem como a relação entre as variáveis maternas, tais como: idade materna, peso, tipo de parto e idade gestacional e os teores encontrados de cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), ferro (Fe) e zinco (Zn).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 102 amostras de leite de 49 mães dos municípios baianos de Mutuípe e Laje, Vale do Jiquiriçá, coletadas entre setembro de 2005 e setembro 2006. Este estudo faz parte de uma investigação mais abrangente realizada em cidades situadas no Vale do Jiquiriçá, Bahia denominada “Amamentação e alimentação complementar no desmame - estado de nutrição e saúde nos dois primeiros anos de vida – Um estudo de coorte¹”. Integrou a este projeto uma coorte dinâmica de 538 nascimentos, seguidos até agosto 2008, quando o último integrante da pesquisa completou dois anos de idade, período de acompanhamento total da coorte.

Esta investigação foi submetida ao Comitê de Ética da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia (UFBA), que atestou pertinência ética de sua realização conforme determina a Resolução 196/96 sobre a pesquisa envolvendo seres humanos do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

A coleta do leite humano foi feita de forma manual com lubrificação da pele da auréola dos mamilos com a própria secreção, pelas próprias mães, sob observação dos pesquisadores. O leite foi coletado sempre no horário da manhã (07:30 às 11:00h), no 1º, 6º e 12º mês, sendo que as mães foram orientadas a manter uma mama completamente cheia para a extração, em posto de saúde onde eram realizadas as consultas periódicas ou no domicílio sob agendamento (05:00h). O conteúdo total da mama foi coletado em frasco de vidro âmbar,

¹ Projeto desenvolvido por professores da Escola de Nutrição da UFBA.

desmineralizado, fechado e identificado com número de registro, nome da mãe, data, local da coleta e volume coletado.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas até o local de armazenamento, não ultrapassando quatro horas em todo o processo. Em seguida, o leite foi homogeneizado e quatro alíquotas de 09 mL foram separadas e mantidas sob congelamento a 81°C negativos, em frascos plásticos de cor âmbar. As amostras foram mantidas, em freezer de armazenamento específico para esta finalidade, marca REVCO, Legaci refrigeration system, com mostrador de temperatura digital externo e porta dotada de sistema anti-vácuo.

Foram coletadas informações referentes às condições maternas, tais como idade materna, peso e altura pós-parto, idade gestacional e tipo de parto, utilizando-se questionário estruturado aplicado por entrevistadores treinados.

A decomposição das amostras e a quantificação dos minerais foram realizadas nos Laboratórios do Grupo de Pesquisa de Química Analítica do Instituto de Química da UFBA. Toda a vidraria e utensílios empregados no experimento foram descontaminados em solução de ácido nítrico a 10% por 24 horas e, posteriormente, lavados com água deionizada, secas à temperatura ambiente e guardados em caixa plástica com tampa específica.

Alíquotas de 3,0 mL de leite humano, em triplicata, foram transferidas para tubos de ensaio e adicionou-se 1,0 mL de HNO_3 e 2,0 mL de H_2SO_4 . Os tubos foram colocados em bloco digestor, cobertos com vidro de relógio, e foi programada uma elevação gradual da temperatura até 200°C , que foi mantida por 30 minutos, com agitação ocasional. Ao final deste tempo, foram adicionados 10 mL de H_2O_2 . A mistura permaneceu em aquecimento até redução do volume e a solução resultante apresentou-se límpida e sem glóbulos de gordura. A solução final foi transferida para tubos de centrífuga de 15 mL e o volume completado até 10 mL com água deionizada após a solução ter atingido temperatura ambiente, conforme mostra a Figura 1.

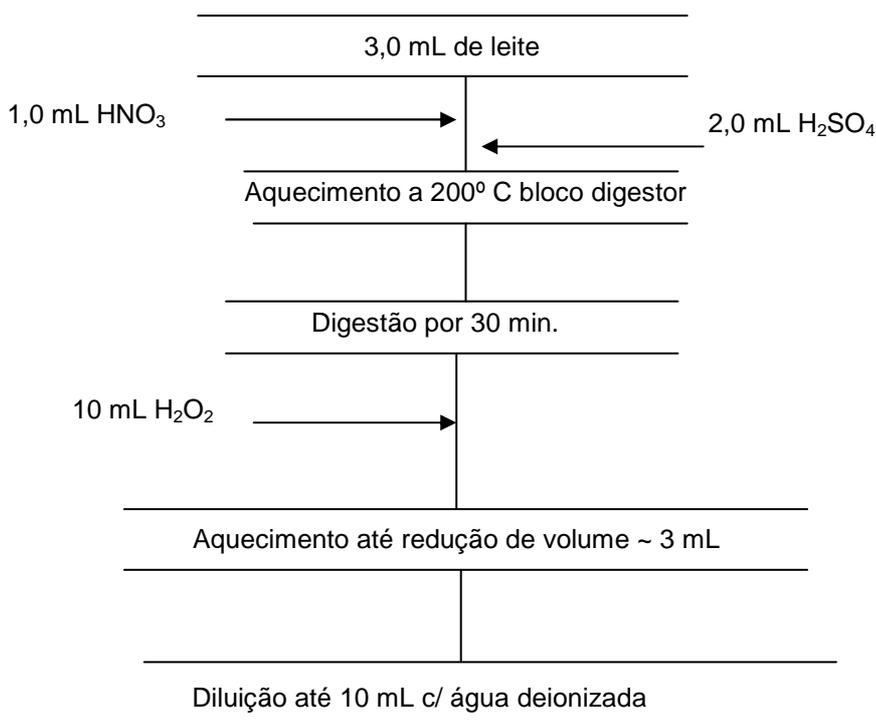


Figura 1. Fluxograma do procedimento de digestão por via úmida

A solução estoque multielementar na concentração de 50,0 mg L⁻¹ de Fe e Zn, preparada a partir das soluções de referência contendo 1000 mg L⁻¹ dos analitos (Tec Lab), foi utilizada no preparo da curva analítica de calibração a partir de adequada diluição em solução de ácido nítrico 2,0 mol L⁻¹ para as seguintes concentrações finais: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mg L⁻¹. Para os macro nutrientes Ca, Mg e K, a solução estoque 100,0 mg L⁻¹, preparada a partir das soluções de referência contendo 1000 mg L⁻¹ dos analitos (Merck), foi utilizada no preparo da curva analítica de calibração por adequada diluição em solução de ácido nítrico 0,10 mol L⁻¹ para as seguintes concentrações finais: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 e 50,0 mg L⁻¹.

A determinação foi feita através da medida das intensidades da emissão dos elementos, em comparação com uma curva analítica de calibração. Os resultados foram expressos em mg L⁻¹ de leite.

Para a quantificação dos analitos foi empregado um ICP OES simultâneo com visão axial VISTA PRO (VARIAN). Os parâmetros instrumentais utilizados estão mostrados na Tabela 1 (BOA MORTE, 2006; BOA MORTE, 2008).

Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração axial

Potência RF (kW)	1,2		
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,70		
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5		
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15		
Tempo de integração (s)	1,0		
Tempo de estabilização (s)	15		
Tempo de leitura (min)	1		
Replicatas	3		
Nebulizador	V-groove		
Câmara de Nebulização	Sturman Master		
Linhas Espectrais (nm)	Ca (II)	Fe (II)	K (I)
	396,847	238,203	766,468
	Mg (I)	Zn (I)	Y ^(a) (II)
	285,209	213,858	371,029

^(a) elemento utilizado com padrão interno (1,0 mg L⁻¹)

(I) linha de emissão atômica

(II) linha de emissão iônica

O procedimento utilizado neste estudo foi validado em trabalho desenvolvido no Instituto de Química da UFBA (BOA MORTE, 2006; BOA MORTE, 2008). Para a validação da metodologia empregada, foi utilizado o padrão de referência do “National Institute of Standards & Technology”- NIST SRM 1549, *Non-Fat Bovine Milk Powder*.

As informações maternas e os resultados das análises das amostras de leite foram armazenados em microcomputador, utilizando-se o programa EPI INFO, versão 6.4. Os cálculos, tabelas e gráficos necessários para análise foram realizados através do programa SPSS, versão 13.0.

Para comparação das médias entre os grupos aplicou-se o teste t pareado entre os resultados das análises dos minerais (1/6 e 6/12 meses). Para a aceitação das associações estatísticas de interesse adotou-se o valor de p menor do que 5%.

Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) para testar a influência dos fatores maternos (idade materna, idade gestacional, Índice de Massa Corpórea - IMC, tipo de parto) na composição do leite ao longo da lactação.

RESULTADOS

Os resultados obtidos mostram que a maioria das mães apresentava estado antropométrico estava dentro da faixa de normalidade (61,2%) de acordo com o indicador IMC seguida daquelas que estavam com sobrepeso ou obesidade (28,6%) e apenas 4,1% das mães foram classificadas em estado de magreza. A idade materna indica tratar-se de uma população jovem, com predomínio da faixa etária entre 20 a 30 anos representando 49%. A proporção de mães com idade menor ou igual à 19 anos foi de 34,7%.

No que se refere à idade gestacional, os resultados obtidos mostram que 69,4% dos nascimentos ocorreu com idade gestacional igual ou maior a 37 semanas. Por outro lado, 8,2% (04 mães), deram à luz com idade gestacional menor do que 37 semanas. Quanto ao tipo de parto realizado, 22,4% foram cesárea e 77,6% parto normal.

Os resultados quantificados para as concentrações dos minerais Ca, Mg, K, Fe e Zn nas 102 amostras de leite humano, coletadas de 49 mães nos diferentes estágios de lactação ou seja, 1, 6 e 12 meses, estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, expressos pela média e desvio-padrão.

Tabela 2. Composição mineral (mg L^{-1}) de amostras de leite humano de mães ($n=32$) agrupadas por pareamento 1/6 meses intervalo de 95% de confiança para diferença entre as médias.

	1 mês	6 meses	Intervalo de confiança da media das diferenças	ρ
Cálcio	204,11 \pm 49,15	177,70 \pm 48,60	(2,85 – 49,97)	0,029
Magnésio	25,17 \pm 6,58	26,99 \pm 9,64	(-5,07 – 1,42)	0,260
Potássio	497,26 \pm 103,09	403,61 \pm 106,31	40,48 – 146,83	0,001
Ferro	0,48 \pm 0,27	0,26 \pm 0,16	0,07 – 0,37	0,006
Zinco	2,56 \pm 0,90	1,14 \pm 0,63	1,08 – 1,76	0,000

Quando analisadas as diferenças entre as médias, adotando-se o teste t pareado o declínio é significativo para o Ca ($\rho=0,029$); K ($\rho=0,001$); Fe ($\rho=0,006$) e Zn ($\rho<0,001$) no intervalo de 1 a 6 meses (Tabela 2). Contudo, no intervalo de 6 a 12 meses (Tabela 3), apenas os níveis de Ca mantiveram-se diferentes significativamente a longo de tempo ($\rho=0,01$).

Tabela 3. Composição mineral (mg L^{-1}) de amostras de leite humano de mães ($n=21$) agrupadas por pareamento 6/12 meses intervalo de 95% de confiança para diferença entre as médias.

	6 meses	12 meses	Intervalo de confiança da média das diferenças	ρ
Cálcio	201,94 \pm 43,55	169,54 \pm 43,18	8,73 – 56,08	0,010
Magnésio	27,94 \pm 7,12	25,17 \pm 6,43	-1,75 – 7,28	0,217
Potássio	419,35 \pm 83,95	362,53 \pm 88,64	-2,54 – 116,20	0,060
Ferro	0,39 \pm 0,33	0,38 \pm 0,25	-0,15 – 0,16	0,931
Zinco	1,14 \pm 0,54	0,92 \pm 0,66	-0,18 – 0,63	0,261

Os teores dos minerais encontrados nas amostras de leite analisadas variaram no mesmo estágio de lactação. Considerando todas as amostras, os maiores coeficientes de variação (CV) foram para o Fe no 6º mês (0,82), seguido do Zn no 12º mês de lactação (0,77) e do Fe no 12º mês e 1º mês com valores de 0,67 e 0,53, respectivamente. Os menores coeficientes de variação foram para o K (0,21; 0,24; 0,24) seguido do Ca (0,24; 0,25; 0,25) respectivamente no 1º, 6º e 12º mês de lactação.

DISCUSSÃO

De forma geral, os teores médios dos minerais determinados variaram de acordo com a fase de lactação, e as maiores médias foram identificadas para Ca, Fe e Zn no primeiro mês com declínio para o sexto mês. O comportamento observado para os teores de K e Zn, decrescentes ao longo do tempo, apresenta-se similar aos encontrados em outros estudos (BUTTE et al., 1984; BUTTE et al., 1987; YAMAWAKI et al, 2005).

Neste estudo os teores de Ca obtidos apresentam comportamento distinto ao de outras investigações, uma vez que observa-se um declínio significativo ($\rho=0,029$) no intervalo de 1/6 meses e no intervalo subsequente ($\rho=0,01$), com teor médio mais baixo do que os registrados nos demais estudos consultados. Teor constante de Ca ao longo do tempo foi encontrado por Oliveira (2003) e Carias et al. (1997). Para K, Fe e Zn, as concentrações obtidas decresceram entre 1 e 6 meses e se mantiveram constantes para o período subsequente estudado.

O decréscimo nos teores de Ca, Mg, K e Zn foi observado por Yamawaki et al. (2005) durante os 6 primeiros meses de lactação, assim como aumento nos teores de Ca, Mg e Fe e declínio para K e Zn entre o 6º e o 12º mês de lactação.

Em estudo realizado no Kuwait com mulheres kwaitianas e não kuwaitianas, Al-Awadi & Srikumar (2000) encontraram declínio na concentração de Zn no leite de ambos os grupos (aproximadamente 21%), mas o Fe permaneceu constante entre o 6º e o 12º mês de lactação.

Para o 1º mês de lactação, os teores obtidos para Ca foram menores do que os relatados em trabalhos anteriores (BUTTE, 1984; BUTTE, 1987; RODRIGUEZ et al, 2002; OLIVEIRA, 2003; YAMAWAKI et al , 2005; MORGANO et al. 2005).

Os resultados médios obtidos neste estudo para Ca, quando analisados por pareamento (teste t) para o 1º mês de lactação ($204,11 \pm 49,15 \text{ mg L}^{-1}$), são similares aos valores determinados por Butte et al. (1984) em Houston, com amostras de leite de mães de recém-nascidos prematuros ($213 \pm 71 \text{ mg L}^{-1}$). Contudo menores teores foram identificados no leite maduro de mães de crianças nascidas a termo ($255 \pm 48 \text{ mg L}^{-1}$), bem como em outro estudo realizado em 1987, pelo mesmo pesquisador, com leite maduro de 45 mães ($297 \pm 37 \text{ mg L}^{-1}$).

Butte et al. (1984) ressaltaram a importância de adequados teores de Ca no desenvolvimento da criança e argumenta que os baixos teores deste mineral, em conjunto com a alta variabilidade no primeiro mês de lactação, podem ser responsáveis pela inadequada mineralização óssea, e conseqüentemente limitar o desenvolvimento da criança.

Rodriguez et al. (2002) encontraram valor médio de $313,3 \pm 52,9 \text{ mg L}^{-1}$ (mínimo de $220,1 \text{ mg L}^{-1}$ e máximo de $414,2 \text{ mg L}^{-1}$) em uma população de 11 mulheres de 21 a 35 anos de idade nas ilhas Canárias, confirmando a grande variabilidade de valores apontada por Butte et al. (1984). Contudo no presente estudo o coeficiente de variação para os resultados do Ca foram baixos, ou seja, houve homogeneidade nos valores.

Poucos são os estudos que registram baixa concentração de Ca no leite humano. Lonnerdal (2000) em artigo de revisão cita o estudo envolvendo lactantes da Nova Guiné de baixa estratificação social onde foi registrado teor médio de Ca de 154 mg L^{-1} no leite, valor substancialmente baixo quando comparados com as concentrações normalmente determinadas entre 260 e 300 mg L^{-1} . As mulheres deste estudo tinham baixa ingestão de cálcio e as crianças apresentavam pobre calcificação esquelética.

Este resultado, por algum tempo, foi considerado influenciado por viés metodológico, entretanto, outros estudos realizados em Gâmbia e no Zaire também detectaram baixa concentração de cálcio no leite humano. O teor de Ca do leite de lactantes da área rural de

Gâmbia era muito baixo (177 mg L^{-1}) quando comparado ao leite de mulheres inglesas (254 mg L^{-1}) no 7.5º mês de lactação. Em média as amostras de leite coletadas de mulheres do Gâmbia e Zaire apresentavam 15 a 20% menor concentração de Ca do que o leite das mulheres inglesas.

Vale salientar que as mulheres que fazem parte do presente estudo são igualmente residentes em área rural, onde a maioria da população é constituída de afro-descendentes, o que poderia explicar a similaridade nos resultados encontrados para este mineral. Não pode ser feita nenhuma associação com alimentação, pois não existe registro da dieta utilizada pelas mães cujo leite foi analisado neste trabalho. As amostras de leite analisadas neste estudo apresentaram teores de Ca de 16 a 22% menores do que os obtidos para outras mulheres brasileiras (OLIVEIRA, 2003; MORGANO et al. 2005; MASTROENI et al., 2006).

Estudos de suplementação com cálcio em gestantes não registraram efeito da ingestão sobre a concentração no leite e tampouco identificaram correlação do Ca sérico materno com o conteúdo de Ca do leite. Lonerdal (2000) argumenta que possivelmente outros fatores relacionados ao *status* do Ca materno podem determinar a concentração do cálcio no leite.

Em contrapartida, amostras de leite coletadas em mulheres no Nepal tinham concentrações de Ca similares às obtidas no leite de mulheres inglesas, embora as primeiras tivessem baixa ingestão de Ca na dieta, indicando que outros fatores estão envolvidos nesta avaliação. Estes resultados podem ser creditados a conservação do Ca ósseo e mecanismos hormonais de regulação, mas pouco é conhecido sobre estes mecanismos (LONERDAL, 2000).

Os valores de Mg determinados no leite das mulheres do presente estudo são similares aos registrados por outros pesquisadores (BUTTE et al., 1987; CARIAS et al., 1997; OLIVEIRA, 2003; YAMAWAKI et al. 2005, MORGANO et al. 2005, MASTROENI et al., 2006). Dórea (2000) reporta que os valores para magnésio no leite humano situam-se entre 20 e 40 mg L^{-1} . Neste estudo observou-se discreto aumento no teor deste mineral entre o 1º e o 6º mês de lactação, em contraste com pequeno declínio entre o 6º e o 12º mês, porém sem diferença estatisticamente significativa entre os valores identificados. Este comportamento é concordante com Fransson & Lonerdal (1983) que relatam Mg como mineral que se mantém relativamente constante até o 12º mês da lactação. Outros pesquisadores identificaram elevação no teor deste mineral ao longo do tempo com diferença significativa entre os meses (BUTTE et al., 1987; MASTROENI et al., 2005) estabilizando dos resultados ao atingir o 6º mês de lactação (CARIAS et al., 1997).

A maioria dos resultados encontrados na literatura refere-se a estudos que acompanharam lactantes até o 4º mês de lactação, dificultando assim comparações com os nossos resultados após este estágio de lactação. Apenas Yamawaki et al. (2005) desenvolveram estudos até o 12º mês de lactação e os resultados registram aumento no teor deste mineral entre o 6º e o 12º mês, em contraste com nosso estudo. Contudo, os valores médios identificados pelos autores apresentaram amplo desvio padrão.

Os resultados obtidos para o K, referentes ao primeiro mês de lactação ($497,26 \pm 103,09 \text{ mg L}^{-1}$) estão concordantes com valores observados por Morgano et al. (2005) e Mastroeni et al. (2006). Contudo os teores foram discordantes dos obtidos por Butte et al. (1987) e Oliveira (2003) que encontraram menor teor deste mineral e Yamawaki et al. (2005) e Rodriguez et al. (2002) que encontraram teor mais elevado para este estágio de lactação.

Para K, no presente estudo identificou-se diferença estatisticamente significativa para o declínio no teor deste mineral ao longo da lactação apenas para o período entre o 1º e o 6º mês de lactação ($p=0,001$). Não foi observada significância estatística para a diferença dos valores obtidos do 6º ao 12º mês de lactação. O comportamento de declínio acentuado nos teores deste mineral ao longo do tempo é relatado por todos os pesquisadores. Segundo a literatura a diminuição do teor de K pode ser devida à menor necessidade desse mineral para desenvolvimento e crescimento ao longo do tempo (BUTTE et al., 1987; OLIVEIRA, 2003; YAMAWAKI et al., 2005).

No que se refere aos teores de Fe, o valor determinado neste estudo para o 1º mês de lactação é similar ao encontrado por Silvestre et al. (2000) $0,43 \pm 0,13 \text{ mg L}^{-1}$ com leite de mulheres espanholas e por Oliveira (2003) e Morgano et al. (2005) em leite de mulheres brasileiras ($0,5 \pm 0,4 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,35 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente), porém é mais elevado do que o registrado por Butte et al. (1987) em leite de mulheres norte-americanas ($0,242 \pm 0,111 \text{ mg L}^{-1}$).

Teores mais elevados para Fe no primeiro mês de lactação têm sido obtidos por outros investigadores ($0,9 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,80 \pm 3,27 \text{ mg L}^{-1}$), em comparação ao observado neste estudo (Mastroeni et al., 2006; Yamawaki et al., 2004). Carias et al. (1997) também determinaram teores maiores aos encontrados no presente estudo: $0,84 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,68 \pm 0,18 \text{ mg L}^{-1}$ para o 1º e 6º mês de lactação respectivamente.

Com relação ao tempo de lactação, foi observada redução dos teores de Fe entre o 1º e o 6º mês de lactação ($0,48 \pm 0,27$ e $0,26 \pm 0,16 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente), com diferença significativa ($p=0,006$), contudo sem diferença estatisticamente significativa entre o 6º e o 12º mês de lactação. O Fe é o mineral que expressa maior variabilidade nos resultados

apresentando os maiores valores para coeficiente de variação (0,53; 0,82 e 0,67) para o 1º, 6º e 12º mês de lactação respectivamente.

Este comportamento pode ser explicado pelo fato do Fe ser um mineral essencial, de intensa atividade biológica, encontrado em quantidade limitada no corpo humano. Participa de atividades de oxidação e redução, sendo encontrado em diferentes tipos de proteínas: heme-proteínas (hemoglobina, mioglobina), proteínas de estoque e transporte (transferrina, lactoferrina, ferritina) e enzimas (FRAGA, 2005).

Alguns estudos indicam que o teor de ferro do leite humano permanece constante ao longo da lactação (CARIAS et al., 1997; AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000; YAMAWAKI et al., 2005), no entanto Butte et al. (1987) encontraram diferença estatisticamente significativa no teor de ferro entre o 1º e o 4º mês de lactação ($p < 0,001$) em amostras de leite de mulheres americanas.

Os teores de Fe nas amostras do grupo de mães no período 6 e 12 meses foram mais elevados ($0,39 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$) quando comparados aos valores identificados no leite do grupo de mães do período entre 1 e 6 meses ($0,26 \pm 0,16 \text{ mg L}^{-1}$), mostrando diferença na oferta desse mineral entre o primeiro e o segundo semestre de lactação.

Dados referentes aos teores de Fe no leite humano procedente de mulheres de diversos países reportados por Awadi & Srikumar (2000), permitem concluir que os resultados deste estudo foram semelhantes aos da Áustria e Alemanha e mais elevados do que o identificado no leite de mulheres da Coreia e Taiwan.

Quanto aos teores de Zn, os resultados apresentaram decréscimo de forma acentuada ao longo do tempo apresentando diferença estatisticamente significativa para o período entre o 1º ($2,56 \pm 0,90 \text{ mg L}^{-1}$) e o 6º mês ($1,14 \pm 0,63 \text{ mg L}^{-1}$) de lactação ($p < 0,001$), contudo sem diferença estatisticamente significativa entre o 6º e o 12º mês de lactação. Este comportamento foi similar ao encontrado por todos os pesquisadores relatados neste trabalho (BUTTE et al., 1984; BUTTE et al., 1987; CARIAS et al., 1997; SILVESTRE et al., 2000; OLIVEIRA 2003; YAMAWAKI et al., 2005; MORGANO et al. 2005 e ALMEIDA, 2008),

Os valores determinados para o 1º mês de lactação foram semelhantes aos encontrados na maioria dos trabalhos com exceção de Silvestre et al. (2000) e Yamawaki et al. (2005) que obtiveram valores maiores ($1,97 \pm 0,25$ e $1,77 \pm 1,08 \text{ mg L}^{-1}$).

Com relação aos dados referentes aos teores de Zn no leite humano procedente de mulheres de diversos países reportados por Awadi & Srikumar (2000), os resultados deste estudo são concordantes com os registros da Itália, Alemanha e Coreia e mais elevados do que aqueles determinados nos Estados Unidos.

O Zn é um mineral essencial na estrutura de enzimas e no funcionamento da imunidade celular. Fases fisiológicas onde as necessidades apresentam-se aumentadas como na gestação e lactação podem ser comprometidas pela carência de Zn. Embora os recém-nascidos possam apresentar deficiência fisiológica nos estoques hepáticos de Zn, a literatura relata que, a diminuição acentuada no conteúdo do leite durante a lactação é provavelmente relacionada com a redução do conteúdo protéico, pois estudos demonstram que o zinco é encontrado principalmente associado à fração protéica (FRANSSON & LONNERDAL, 1983; FRAGA, 2005). Por outro lado, a suplementação em gestantes foi responsável pelo aumento na idade gestacional e pelo aumento do peso ao nascer, segundo estudo realizado com mulheres afro-americanas (IOM, 2003).

Influência das variáveis maternas

Por análise de variância nos resultados obtidos nesta pesquisa para os três estágios de lactação e o estado nutricional materno, observou-se diferença estatisticamente significativa para Ca no 12º mês de lactação ($p= 0,04$) a 5% de probabilidade. Oliveira (2003) registrou influência significativa para o estado nutricional materno sobre os teores dos minerais Ca, Mg, K, Fe e Zn a 1% de probabilidade.

Quando analisados os resultados para os três estágios de lactação e tipo de parto observou-se diferença significativa a 5% de probabilidade para Mg no 6º mês de lactação ($p= 0,028$). Oliveira (2003) observou influência significativa para Ca a 1% de probabilidade e para K a 5% de probabilidade. Não foram encontrados outros registros relativos ao tipo de parto na literatura pesquisada.

Neste estudo não foram encontradas influência para idade gestacional e idade materna sobre os teores dos minerais. Picciano (2001) relatou não haver influência do estado nutricional materno nos teores de Ca, Mg, Fe e Zn. Silva et al. (2002) relataram não haver influência da idade gestacional sobre o teor de Fe. Butte et al. (1987) não encontraram influência da idade materna, nem do estado nutricional ou de dados antropométricos da mãe sobre lactação. Apenas um estudo (OLIVEIRA, 2003) detectou influência da idade materna e da idade gestacional sobre todos os minerais citados.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

Considerando que os teores de cálcio determinados nas amostras de leite humano estão abaixo dos reportados na literatura, os valores obtidos para este elemento são preocupantes. O declínio encontrado nos teores deste mineral nas amostras estudadas difere do relato de outros pesquisadores que apontam o cálcio como mineral de comportamento estável no leite maduro. Assim considera-se que pode existir risco de inadequada mineralização óssea das crianças alimentadas com o leite analisado.

Para magnésio observou-se que os valores determinados não apresentam diferença significativa ao longo do tempo. Já para potássio, a tendência de declínio acentuado nos teores ao longo do tempo é relatada por todos os pesquisadores que estudaram este mineral.

Os teores obtidos para ferro expressam maior variabilidade ao longo do período de lactação. Os valores para zinco declinaram de forma acentuada ao longo do tempo, efeito igualmente observado por outros pesquisadores.

RECOMENDAÇÃO

Espera-se que as informações geradas por esta pesquisa possam fornecer subsídios para o planejamento e a implementação de medidas que assegurem a prevenção de ocorrência de descalcificação na infância e outras carências minerais que possam comprometer o crescimento e desenvolvimento da criança.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKRÉ, J. **Alimentação Infantil: bases fisiológicas** São Paulo, IBFAN/ Instituto de Saúde de São Paulo, 1994, 89p.

ALMEIDA A. A. et al. Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, in press. 2008.

AL-AWADI, F. M. & SRIKUMAR, T. S. Trace elements status milk and plasma of Kwait and non-Kwait lactating mothers. **Nutrition**, v. 16, n. 11-12, p.1069-1073, 2000.

BOA MORTE E. S. **Estratégias para avaliação da composição mineral do leite comercializado em Salvador, Bahia**, 2006. 109p. Tese (Mestrado). Instituto de Química/Universidade Federal da Bahia (UFBa).

BOA MORTE, E. S.; COSTA, L. M.; NÓBREGA, J. A.; KORN M. G. A. Multi-element determination in acid-digested soy protein formulations by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, **Food Additives and Contaminants**, vol. 25, p. 616-621, may 2008.

BUTTE N. F.; JOHNSON, C. A.; GARZA, C.; SMITH, E. O.; NICHOLS, B. L. Longitudinal changes in milk composition mothers delivering preterm and term infants, **Early Human Development**, n. 9, p 153 – 162, 1984.

BUTTE N. F.; GARZA, C.; SMITH, E. O.; WILLS, C.; NICHOLS, B. L. Macro and trace mineral intakes of exclusively breast-fed infant. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n. 45, p 42 – 48, 1987.

CARIAS D.; VELÁSQUEZ, G.; CIOCCIA, A.; PIÑERO, D.; INCIARTE, H; HEVIA, P. The effect of lactation on the macronutrient and mineral composition of milk from Venezuelan women, **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, vol. 47, n. 2, p 110-117, junho1997.

DOREA J. G. Magnesium in human milk. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 19, n.2, p. 210-219, 2000.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do Lactente: Base Científica para uma Alimentação Saudável**. 3 ed. Viçosa, MG, 2005, 550p.

FRAGA, C. G., Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, vol. 26, p. 235-244, 2005.

FRANSSON G. B. & LONNERDAL B. Distribution of trace elements and minerals in human and cow's milk. **Pediatric Research**, vol. 17, p. 912-915, 1983.

IOM (Institute of Medicine). National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI's). **Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Planning** National Academy Press, Washington, 2003, 248p.

LAMOUNIER J. A., LEAO E. Nutrição na infância. In: **Ciências Nutricionais**. J. E. Dutra de Oliveira e J. Marchini. São Paulo: SARVIER, p. 265-289, 2008.

LONNERDAL, B. Regulation of mineral and trace elements in human milk: exogenous and endogenous factors. **Nutrition Reviews**, vol. 58, n.8, p 223-229, 2000.

MASTROENI, S. B. S.; OKADA, I. A.; RONDÓ, P. H. C.; DURAN, M. C.; PAIVA A. A.; NETO, J. M. Concentrations of Fe, K, Na, Ca, P, Zn and Mg in Maternal Colostrum and mature Milk. **Journal of Tropical Pediatrics**, vol. 52, n. 4, p. 272-275, março 2006.

MORGANO, M. A.; SOUZA, L. A.; NETO, J. M.; RONDÓ P. H. C. Composição mineral do leite materno de bancos de leite. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.5 n.4, p. 1-6, Campinas, outubro / dezembro 2005.

OLIVEIRA L. P. M.; ASSIS, A. M. O.; GOMES, G. S. S.; PRADO, M. S.; BARRETO, M. L. Duração do aleitamento, regime alimentar e fatores associados segundo condições de vida em Salvador, Bahia, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, RJ, vol.21, n.5, setembro/ outubro 2005.

OLIVEIRA, M. C. C. **Práticas de Amamentação, Teores de Minerais e Vitamina A no Leite Humano em Diferentes Fases de Lactação segundo Variáveis Maternas**. Belo Horizonte, 2003. 60p. Tese (Mestrado). Faculdade de Farmácia/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

PICCIANO, M. F. Nutrient composition of human milk. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n.1, p.53-67, 2001.

RODRIGUEZ, E. M. R.; ALAEJOS, M. S.; ROMERO C. D. Concentraciones de calcio, magnesio, sodio y potasio en leche materna y fórmulas de inicio. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**; 52: 406-412, 2002.

SILVA D. G.; SÁ, C. M. M. N.; PRIORE, S. E.; FRANCESCHINI C. C.; DEVINCENZI, M. U. Iron in human milk: content e bioavailability. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição = Journal Brazilian Society Food Nutritional**, São Paulo, SP, v.23, p. 93-107, junho 2002.

SILVESTRE, M. D.; LAGARDA, M. J.; FARRÉ, R.; MARTÍNEZ-COSTA, C.; BRINES, J. Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion, **Food Chemistry**, n. 68, p. 95-99, 2000.

VIEIRA, G. O.; SILVA, L. R.; VIEIRA, T. O. Alimentação infantil e morbidade por diarreia. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, vol. 79, n. 5, Porto Alegre set./ out. 2003.

WHO. **Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic review and meta-analyses**, Geneva: World Health Organization, 2007, 52p.

YAMAWAKI, N.; YAMADA, M.; KAN-NO, T.; KOJIMA, T.; KANEKO, T.; YONEKUBO, A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 9, n. 2-3, p. 171-181, dezembro 2005.

PARTE II

PROJETO DE PESQUISA:

“Composição mineral do leite humano em diferentes estágios de lactação”



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

ESCOLA DE NUTRIÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

JOSENI FRANÇA OLIVEIRA LIMA

**COMPOSIÇÃO MINERAL DO LEITE HUMANO EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO**

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para o exame de qualificação.

Orientadora: Profa. Dra. Dalva Maria da Nóbrega Furtunato
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Salvador
2009

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do leite humano maduro por 100 mL.....	57
Tabela 2 – Teores de Zn, Cu, Fe e Mn no leite de mães de diferentes países	59
Tabela 3 - Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração axial	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do procedimento de digestão por via úmida.....	78
--	-----------

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BLH	Banco de Leite Humano
Ca	Cálcio
FAAS	do inglês <i>Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Chama)
Fe	Ferro
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma)
ICP OES	do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente)
IFF	Instituto Fernandes Figueira
IMC	Índice de Massa Corpórea
IOM	Institute of Medicine
K	Potássio
Mg	Magnésio
NIST	National Institute of Standards & Technology
OMS	Organização Mundial da Saúde
DRI	do inglês <i>Dietary Reference Intakes</i> (Ingestão Dietética de Referência)
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
WHO	World Health Organization
Zn	Zinco

1. INTRODUÇÃO

O consumo do leite humano pela criança tem repercussão para a saúde durante toda a vida do indivíduo. Vários estudos indicam que o leite humano atua prevenindo a desnutrição e as doenças infecciosas, principalmente as diarreias e infecções respiratórias, causas de morbimortalidade infantil (WHO, 2002; VIEIRA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2006). Outros benefícios relacionados à prevenção do diabetes, doenças atópicas, cáries e hipovitaminose A acham-se relatados na literatura, enfatizando a extensão de alguns desses benefícios, inclusive, até a vida adulta (ANDERSON et al., 1999; WHO, 2002; WHO, 2007).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), por ser um alimento completo, o leite humano deve ser fornecido de forma exclusiva desde o nascimento até os primeiros seis meses e sua continuidade com alimentos complementares é recomendada até dois anos de vida ou mais (WHO, 2007). Para a Academia Americana de Pediatria a alimentação ao peito deve ser iniciada por todos os recém-nascidos inclusive o pré-termo, por ser nutricionalmente equilibrada e possibilitar um estreito relacionamento mãe-filho (REA, 1998).

Vale salientar que a proteção fornecida pelo aleitamento materno contra a mortalidade infantil em crianças de famílias de baixo nível socioeconômico, está relacionada principalmente às doenças infecciosas. Nos primeiros seis meses de vida a proteção contra diarreia e infecções respiratórias agudas, apresenta-se substancialmente maior nas crianças amamentadas ao peito quando comparada às crianças não amamentadas (ASSIS et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2005). Para as crianças dos países subdesenvolvidos, a adoção da prática do aleitamento materno, pode alterar positivamente o padrão do crescimento na infância (WHO, 2007).

Resultados de meta-análise indicaram que os escores para o desenvolvimento cognitivo era mais alto em crianças que consumiam leite materno quando comparado com aquele de crianças que consumiam fórmulas (ANDERSON et al., 1999). Essa diferença foi observada aos seis meses e persistiu até os 15 anos de idade, com os mais expressivos resultados entre as crianças pré-termo. É

relatada ainda relação dose resposta entre o escore de desenvolvimento cognitivo e o tempo de aleitamento materno. O efeito protetor do leite materno sobre o desenvolvimento cognitivo tem sido creditado a fatores nutritivos específicos do leite materno que favorecem o desenvolvimento neurológico das crianças (ANDERSON et al., 1999).

Diversas investigações sobre a composição centesimal e mineral do leite humano têm sido realizadas em diferentes comunidades em todo mundo, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (BUTTE et al., 1984; CASEY et al, 1989; PAAR, 1991; SUZUKI et al, 1991; OLIVEIRA, 2003; MORGANO et al, 2005; MASTROENI et al, 2006). Contudo, a comparação entre os dados fica limitada, pois os pesquisadores geralmente se utilizam de amostras bancos de leite e não apresentam um estudo bem definido de base populacional. Além disto, os procedimentos de preparação das amostras não são uniformizados, assim como métodos analíticos e instrumentos de análise e, em alguns casos, a estocagem das amostras não é adequada (YAMAWAKI et al., 2005).

O conhecimento do valor nutricional do leite materno tem importância clínica, dada sua importância e considerando que este deve ser o alimento oferecido exclusivamente à criança nos seis primeiros meses de vida e prolongado até pelo menos os 2 anos de idade.

No Brasil, trabalhos relativos à composição mineral são escassos e geralmente realizados com nutrízes dos estados da região Sudeste. Na região Nordeste até então, não se tem conhecimento de nenhum estudo que analise a composição nutricional do leite humano, principalmente de sais minerais, a exemplo do ferro, cuja carência constitui risco ao desenvolvimento físico e cognitivo das crianças (ASSIS et al., 2001).

A investigação sobre os teores de minerais no leite de mulheres brasileiras, especialmente as nordestinas, ao longo da lactação e sua relação com variáveis maternas, torna disponível informações que se somam aos poucos dados existentes no Brasil. Assim, este trabalho tem como objetivo investigar as mudanças nos teores

de alguns macrominerais (cálcio, magnésio e potássio) e microminerais (ferro e zinco) do leite humano ao longo de um ano de lactação.

Este estudo se constitui em um dos objetivos específicos de uma investigação mais abrangente realizada em cidades situadas no Vale do Jiquiriçá, Bahia denominada “Amamentação e alimentação complementar no desmame - estado de nutrição e saúde nos dois primeiros anos de vida – Um estudo de coorte”.¹

HIPÓTESES:

H0: A composição mineral do leite humano obtido de mulheres do Vale do Jiquiriçá, Bahia não difere de forma significativa durante o processo de lactação prolongada.

H1: A composição mineral do leite humano obtido de mulheres do Vale do Jiquiriçá, Bahia difere de forma significativa durante o processo de lactação prolongada.

¹ Projeto desenvolvido por professores da Escola de Nutrição da UFBA.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Leite humano

O leite humano pode ser definido como o produto das glândulas mamárias produzido pela mulher a partir do final da gestação com o objetivo de suprir as necessidades nutricionais da criança. Representa o primeiro alimento para a maioria dos recém-nascidos, sendo fonte principal de nutrientes requeridos para as funções biológicas que garantem a promoção do crescimento e desenvolvimento durante os primeiros meses de vida (COSTA et al., 2002). Pela sua complexidade biológica é uma substância viva, ativamente protetora e imunomoduladora, proporcionando proteção contra infecções e alergias e estimulando o desenvolvimento adequado do sistema imunológico além de ser um importante fator de redução de morbidade nas crianças (PICCIANO, 2001; LAMOUNIER et al., 2002; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

O leite humano é um fluído extremamente complexo que contém não apenas nutrientes em quantidades ajustadas às necessidades nutricionais e à capacidade digestiva e metabólica da criança, como também fatores protetores e substâncias bioativas que garantem sua saúde e desenvolvimento pleno. Ele é capaz de exercer certo grau de controle sobre o metabolismo, que se estende da sutileza das divisões celulares até o comportamento da criança, assim como o desenvolvimento e manutenção da função mamária (AKRÉ, 1994; EUCLYDES, 2005).

O papel básico do leite humano é fornecer a nutrição adequada ao começo da vida pós-parto até que a criança possa utilizar outro tipo de alimento. É considerado o melhor alimento, por sua composição química, atuação na defesa imunológica contra doenças infecciosas, e no estímulo ao relacionamento mãe-filho. Entre as vantagens do leite humano estão: melhor digestibilidade, absorção, desenvolvimento do intestino e do cérebro, além de proteger as crianças do sobrepeso (BRASIL, 1988).

A amamentação é conceituada como um conjunto de processos (nutricionais, comportamentais e fisiológicos) envolvidos no consumo, pela criança, do leite

produzido pela própria mãe, seja diretamente no peito ou por extração artificial (WHO, 1998).

A importância do aleitamento materno no combate à desnutrição e à redução da mortalidade das crianças tem se fortalecido, na medida em que suas vantagens se tornam conhecidas como alimento ideal nos primeiros seis meses de vida. Estudos clínicos sugerem redução da taxa de várias infecções em recém-nascidos de baixo peso alimentados com leite humano, em comparação àqueles alimentados com fórmulas infantis (BORTOLOZO, 2004).

A prática da amamentação é considerada como protetora contra diarreia; enterocolite, doença de Crohn, colite ulcerativa e doença cardiovascular na vida adulta, infecções respiratórias e otite, infecções do trato urinário, linfomas e leucemia, alergia, reduzindo o tempo de internação hospitalar além de proporcionar melhor resposta as imunizações e prevenir defeitos ortodônticos (LAMOUNIER et al., 2002).

Crianças alimentadas exclusivamente ao peito nos 6 primeiros meses de vida apresentaram ganho ponderal adequado quando comparadas aos padrões existentes, sendo acentuado nos primeiros 4 meses e desacelerando posteriormente. Em sua maioria, as crianças dobram seu peso de nascimento antes do quarto mês de vida, chegando aos 6 meses eutróficas, com médias de peso superiores às relatadas nas referências utilizadas para comparação (MARQUES, 2006).

No Brasil, Venâncio e Monteiro (1998) observaram o retorno à prática da amamentação nas décadas de 1970 e 1980, em todos os estratos da população, ou seja, entre as crianças residentes em áreas urbanas e rurais, de qualquer região do País, filhos de mães analfabetas e das que atingiram graus maiores de escolaridade, de famílias pobres e ricas.

Na literatura observa-se ainda que, apesar das mulheres com renda familiar *per capita* menor ainda amamentarem por mais tempo, o aumento da duração da

amamentação foi mais acentuado entre mulheres de melhor situação socioeconômica. Em 1989, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) lançaram um documento sobre o *Papel dos Serviços de Saúde e Maternidades*, em que são incluídas 10 ações destinadas a incentivar o aleitamento materno, os quais foram fundamentais para o redirecionamento de rotinas hospitalares, visando a promoção e apoio ao aleitamento materno (REA, 2003).

A extração artificial tornou-se uma estratégia eficiente para atender casos especiais e atualmente o banco de leite humano constitui-se uma alternativa importante para os casos de recém-nascidos impossibilitados de amamentar.

Banco de leite humano no Brasil

O primeiro banco de leite humano (BLH) do Brasil foi implantado em outubro de 1943, no então Instituto Nacional de Puericultura, atualmente Instituto Fernandes Figueira (IFF). O seu principal objetivo era coletar e distribuir leite humano visando atender os casos considerados especiais, a exemplo da prematuridade, perturbações nutricionais e problemas alérgicos.

Com o desenvolvimento do Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno, a partir de 1985, os BLH passaram ter um novo papel para a saúde pública brasileira, como elementos estratégicos para as ações de promoção, proteção e apoio à amamentação. Este novo modelo induziu a um período de expansão fazendo do Brasil a maior rede mundial de bancos de leite humano, com mais de 180 unidades em operação em todo país (MAIA, 2006). Os Bancos de Leite Humano no Brasil se configuram num motivo de perplexidade e orgulho, cujo valor se faz reconhecido internacionalmente (ALMEIDA, 1999).

2.1.1 Classificação do leite humano

Nos primeiros dias após o parto, as glândulas mamárias produzem um líquido de coloração amarelada mais viscoso que o leite maduro, denominado colostro. Esta primeira secreção elaborada para suprir as necessidades do lactente na primeira semana de vida possui teores mais elevados de proteínas, lactoferrina, carotenóides e minerais, especialmente sódio, potássio e cloro do que o leite maduro, bem como menor teor de gorduras e carboidratos em comparação aos leites de transição e maduro (EUCLYDES, 2005; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

O colostro, além de proteínas e minerais, também apresenta maiores teores de β - Caroteno (o que lhe dá a coloração amarelada), e demais vitaminas lipossolúveis. A concentração de vitamina A é maior no leite humano do que no leite de vaca, sendo sua quantidade no colostro o dobro do leite maduro. A vitamina D está presente no soro e na fração lipídica do leite. O teor de vitamina E (dado pelo tocoferol), se associa diretamente com o teor de lipídios e ácido linoléico presente no leite humano. A razão tocoferol/ácido linoleico no leite maduro é de 0,79 mg/g (MOURA, 2001).

A frequência e a eficiência com que as crianças sugam o leite são fatores que determinam o volume produzido em cada mama. Até 30 horas após o nascimento as mamas enchem-se de colostro. A produção do colostro varia de 10 a 100 mL/dia com média de 30 mL/dia. Entre 30 e 40 horas após o parto acontecem rápidas mudanças na composição do leite, com aumento do volume e maior concentração de lactose, entretanto, até o 7º dia a secreção é considerada colostro (AKRÉ, 1994; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

A concentração de muitos nutrientes varia com a progressão da lactação, com grandes mudanças na primeira semana pós-parto, e mesmo durante a mesma mamada. Para uma mesma mulher, são registradas variações no decorrer da lactação, ao longo do dia e durante a mesma mamada, havendo diferenças do início ao final da mamada, com alterações na concentração dos macro e dos micro nutrientes (AKRÉ, 1994; OLIVEIRA, 2003; EUCLYDES, 2005; MASTROENI et al., 2006). A composição do leite humano ainda pode ser influenciada por diversos

fatores como individualidade genética e período de lactação. Ocorrem também, variações entre grupos étnicos e entre mulheres (AL-AWADI, 2000; PICIANO, 2001).

Em um período intermediário entre a produção do colostro e do leite maduro, as glândulas mamárias produzem o leite chamado de transição, cuja composição varia progressivamente com decorrer do tempo. Alguns autores consideram que só a partir do 7º até o 14º dia o leite pode ser considerado de transição, passando a leite maduro após a segunda semana, quando sua composição torna-se mais estável (AKRÉ 1994; EUCLYDES, 2005; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

O estado nutricional materno não interfere no valor calórico total do leite produzido, uma vez que as informações disponíveis indicam que as crianças de mães desnutridas e eutróficas aleitadas ao peito crescem de maneira similar. Deste modo, o valor calórico do leite humano é similar entre as mulheres de diferentes partes do mundo, não mudando substancialmente em função da alimentação e/ou do estado nutricional materno (WHO, 1998).

À luz do atual estágio do conhecimento, verifica-se que não há vantagem sobre o ganho de peso e do comprimento, com a substituição em todo ou em parte do leite humano por outros alimentos antes dos 6 meses de idade (WHO, 2007). Nesse contexto, o oferecimento precoce dos alimentos complementares à criança tende a constranger o crescimento e o desenvolvimento, uma vez que normalmente tem baixa densidade energética e passam a substituir em todo ou em parte o leite materno nutricionalmente completo, e de adequado valor energético às necessidades nutricionais da criança.

2.2 Composição Centesimal do Leite Humano

Convencionou-se chamar de composição centesimal de um alimento a proporção de proteínas, cinzas, lipídeos, umidade e carboidratos contidos em 100 gramas do alimento, expressando-se de forma aproximada o seu valor nutritivo (FRANCO, 2001; PHILLIPI, 2001).

2.2.1 Proteínas

A proteína é um nutriente essencial para o organismo, contém carbono, hidrogênio e oxigênio, sendo o único nutriente que possui nitrogênio (16%), junto com enxofre, e alguns minerais como fósforo, ferro e cobalto. As proteínas são formadas pela combinação de diversos aminoácidos em diversas proporções e cumprem funções estruturais, reguladoras, de defesa e de transporte nos fluidos biológicos (TIRAPEGUI et al., 2005).

A qualidade nutricional de proteína não está condicionada apenas à composição de aminoácidos essenciais, mas principalmente a capacidade de utilização desses pelo organismo, cuja eficiência dependerá de vários outros fatores envolvidos, tais como: conformação estrutural, presença de compostos antinutricionais, efeito das condições de processamento e complexação com outros nutrientes. Os aminoácidos essenciais devem ser fornecidos pela dieta e sua falta ocasiona alterações nos processos bioquímicos e fisiológicos e na síntese protéica. Em crianças, provocam diminuição do crescimento e profundas alterações bioquímicas (TIRAPEGUI et al., 2005).

A concentração de proteína do leite materno decresce rapidamente no primeiro mês de lactação e mais lentamente a partir daí, acompanhando a velocidade de crescimento da criança (EUCLYDES, 2005). A baixa concentração de caseína no leite humano resulta na formação de um coalho gástrico mais leve, com flóculos de mais fácil digestão e com reduzido tempo de esvaziamento gástrico. (SILVA et al., 2007; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

No que se refere aos aminoácidos, o leite humano fornece todos os essenciais para recém-nascidos (isoleucina, lisina, leucina, triptófano, treonina, metionina, fenilalanina, valina e taurina), além de outros não essenciais. Os sulfurados (taurina, metionina e cistina) estão presentes em alto teor, e os aromáticos (tirosina e fenilalanina) em baixo teor, de forma adequada à fisiologia do recém-nascido, que tem pouca enzima disponível para a metabolização destes últimos, em especial o recém-nascido pré-termo (MOURA, 2001).

Os aminoácidos, taurina e cistina, essenciais para prematuros estão presentes em maior concentração no leite materno do que no leite de vaca. A cistina é essencial para prematuros, pois a enzima cistationase que catalisa a transulfuração de metionina em cistina está ausente. A taurina é necessária para a absorção de gorduras, além de exercer papel fundamental no desenvolvimento do sistema nervoso central do recém-nascido (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

2.2.2 Carboidratos

Os carboidratos são moléculas orgânicas que apresentam fórmula empírica $(CH_2O)_n$, possuindo como grupo funcional o radical aldeído ou cetona, bem como seus derivados. Os carboidratos são classificados como monossacarídeos, dissacarídeos e oligossacarídeos. Os carboidratos simples mais abundantes em uma dieta são os monossacarídeos glicose e frutose, além da sacarose, um dissacarídeo, composto de uma unidade de glicose unida a uma unidade de frutose. (HENRIQUES, 2005).

Os oligossacarídeos representam aproximadamente 16% dos hidratos de carbono totais do leite materno. Estima-se que 60% deles sejam metabolizados pela microbiota do cólon. É no trato gastrointestinal onde parece exercerem efeitos benéficos para a saúde do lactente, principalmente com um aumento das defesas imunitárias e efeito prebiótico. Os níveis de oligossacarídeos são mais elevados no colostro do que no leite maduro, aumentando na primeira semana para reduzir ao longo de três meses. Microrganismos patogênicos se encontram menos frequentemente nos dejetos de crianças alimentadas com leite materno (GUDIÉL-URBANO e GONI, 2001).

A lactose é o principal carboidrato do leite humano, no qual também estão presentes pequenas quantidades de galactose, frutose e outros oligossacarídeos. No colostro a concentração de lactose é de 4%, passando a 7% no leite maduro. A lactose além de ter papel nutricional, tem efeito protetor. Ela é metabolizada em glicose (fonte de energia) e galactose, necessária para o desenvolvimento do sistema nervoso central. Além disto, facilita a absorção de cálcio e ferro e promove a colonização do intestino com *Lactobacillus bifidus*, bactérias fermentativas cujo papel é inibir o crescimento de bactérias patogênicas (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

2.2.3 Lipídios

O termo lipídios se refere a diversos compostos químicos que tem como característica comum o fato de serem insolúveis em água. Óleos vegetais e gorduras animais, que são as fontes alimentares de lipídios, apresentam um amplo espectro de ácidos graxos, com variação no tamanho da cadeia carbônica de 2 a 36 carbonos. Além do tamanho da cadeia, os ácidos graxos podem conter ou não em sua estrutura duplas ligações, sendo então classificados em ácidos graxos insaturados ou saturados, respectivamente (SANT'ANA, 2005).

Os lipídios se constituem na principal fonte de energia para a criança, suprimindo 50% de suas necessidades calóricas. A concentração de gordura passa de 2g/100 mL no colostro para 4 a 4,5g/100 mL no 15º dia após o parto. Em seguida, permanecem relativamente estáveis, sendo cerca de 57% de ácidos graxos insaturados e 42% de ácidos graxos saturados. O leite humano é rico em ácidos graxos de cadeia longa, importantes para o desenvolvimento e mielinização do cérebro. O ácido oléico monoinsaturado é o ácido predominante. O ácido linoleico, ácido graxo essencial, fornece apenas 4% das calorias no leite materno. (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

A concentração de gordura no final da mamada é mais elevada do que no leite inicial, acreditando-se que esse maior teor no final seria uma forma de controlar o apetite, pois ao final da mamada a criança ingere uma proporção considerável de energia. É importante lembrar que na ordenha humana, deve ser coletado tanto o

leite inicial quanto o final, devido ao valor energético da gordura (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

Silva et al. (2007) determinaram a composição centesimal média do leite humano maduro pasteurizado, nos estágios colostro e maduro. A média de valores lipídicos das amostras analisadas por crematócrito neste estudo encontra-se abaixo dos valores encontrados na literatura, devido ao complexo processo congelamento, descongelamento, pasteurização, novo congelamento, novo descongelamento e aquecimento a que o leite foi submetido. O processo de congelamento e descongelamento acarreta rompimento das membranas dos glóbulos de gordura, facilitando sua aderência às paredes dos frascos armazenadores (SILVA et al., 2007).

O leite humano maduro contém de 3 a 5% de lipídios que apresentando-se na forma de glóbulos de cerca de 4mm de diâmetro em emulsão do tipo óleo e água, que é estabilizada por uma membrana que contém fosfolipídios e proteína. O leite humano ordenhado contém, aproximadamente, 4,0 g de gordura/100mL e 70,0 Kcal/100mL (SILVA *et al.*, 2007), concordando com Euclides (2005) e estudo realizado por Kamiya e Ramos (2003) em banco de leite humano do Hospital Universitário da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

A tabela abaixo mostra a composição média do leite humano maduro.

Tabela 1 – Composição química do leite humano maduro por 100 mL

Composição	Leite maduro (mais de 21 dias)
Energia	67
Carboidrato, g	7,4
Proteínas totais, g	1,17
Gordura, g	4,0
Cálcio, mg	26,4
Magnésio, mg	3,4
Potássio, mg	52,5
Ferro, mg	0,03
Zinco, mg	0,25

Fonte: EUCLYDES (2005)

2.3 Composição Mineral

Os minerais ocorrem no organismo e nos alimentos, principalmente na sua forma iônica, representando de 4 a 5% do peso corpóreo. Desempenham muitas funções essenciais, alguns como íons dissolvidos nos fluidos corpóreos e outras, como constituintes de compostos essenciais. O equilíbrio de íons minerais nos fluidos corpóreos regula a atividade de muitas enzimas, a produção de sucos digestivos, mantêm o equilíbrio ácido-básico, facilitam o transporte de compostos essenciais nas membranas e possuem funções específicas (BELITZ et al., 1998).

Os sais minerais são essenciais para o metabolismo humano, pois exercem funções importantes para a vida, como crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde de tecidos corporais. No caso da criança, a necessidade de minerais é maior do que em adultos devido ao rápido crescimento corporal e também ao elevado nível de atividades metabólicas envolvidas no crescimento, atividades físicas e combates a infecções, dentre outros. O atendimento a essa demanda é feito pelo leite materno, até que chegue a época do desmame (AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000; MORGANO et al., 2005).

Lactentes dependem de um suprimento adequado de macro e micro minerais para o crescimento e desenvolvimento normais. Para maioria desses elementos, a glândula mamária parece ter desenvolvido mecanismos para regular suas concentrações, mesmo em situações em que a dieta materna varia de modo considerável ou as condições maternas são afetadas por diversos fatores. Para alguns elementos, entretanto, parece haver pouca ou nenhuma regulação dos teores de minerais (LONNERDAL, 2000).

Como o leite humano é a fonte principal de nutrientes para a criança durante os primeiros meses de vida, os teores de minerais no leite de mulheres em lactação, especialmente micro minerais, são importantes, mas alguns fatores podem afetar seus níveis. A concentração de elementos-traço no leite humano pode diferir entre regiões diferentes no mundo (AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000).

A tabela abaixo apresenta os teores de Zinco, Cobre, Ferro e Manganês no leite de mães de diferentes países.

Tabela 2 – Teores de Zn, Cu, Fe e Mn no leite de mães de diferentes países em mg L⁻¹

Pais	Zinco	Cobre	Ferro	Manganês
Áustria	4,1	0,86	0,46	3,10
Canadá	1,17-5,31	0,21-0,57	-	4,0-17,0
Alemanha	2,06	0,8	0,43	6,2
Itália	2,2	0,25	-	4,1
Coréia	2,83-3,75	0,36-0,47	0,0021-0,0028	2,74-4,03
Taiwan	0,55-4,6	0,09-0,27	0,09-0,22	-
EUA	0,12-1,09	0,05-0,15	-	0,66-4,03

Fonte: AL-AWADI & SRIKUMAR (2000)

Segundo Picciano (2001) e Domelloff et al. (2004), a concentração de minerais no leite humano, em geral, não está relacionada às quantidades presentes na dieta materna ou no plasma sanguíneo. Entretanto, AL-AWADI & SRIKUMAR (2000) encontraram níveis significativamente maiores de zinco no leite e no plasma de mães kuwaitianas, quando comparado ao das não kuwaitianas, vivendo no Kuwait, durante os 6 primeiros meses de lactação. Estas diferenças foram atribuídas pelos pesquisadores a fatores dietéticos.

O nível de micro minerais no plasma materno permanece inalterado durante todo o período da lactação, indicando que o reservatório plasmático desse elemento não foi afetado por mudanças no leite. As concentrações de cálcio, fósforo e magnésio, zinco e ferro no leite, geralmente, não tem correspondem aos valores no sangue materno (AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000; PICCIANO, 2001; DOMELLOFF et al., 2004).

No leite humano embora a concentração dos minerais seja menor, ocorre uma maior biodisponibilidade quando comparados com leite bovino ou fórmulas infantis. A quantidade de minerais presentes está mais bem adaptada às necessidades nutricionais e à capacidade metabólica do lactente (BRASIL, 1998; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

Estudos investigativos demonstram que a distribuição dos nutrientes, em especial os sais minerais, sofre alteração na quantidade e distribuição e, por

consequente na composição total do leite, à medida que o aleitamento materno se prolonga (OLIVEIRA, 2003; MORGANO, 2005; YAMAWAKI, 2005).

Minerais como ferro, zinco, cobre e selênio são conhecidos como essenciais para o crescimento e desenvolvimento infantis. Devido a importância desses elementos no desenvolvimento dos lactentes, suas possíveis mudanças de concentrações durante a lactação tem sido investigadas por diversos pesquisadores e agências internacionais de saúde (BUTTE et al., 1984; CASEY et al, 1989; PAAR et al, 1991; SUZUKI et al, 1991; MORGANO et al, 2005; MASTROENI et al, 2006).

Mbofung et al. (1984) analisaram 380 amostras de leite humano sendo 96 de colostro e 284 de leite maduro procedente de 240 mulheres lactantes na Nigéria durante 9 meses de lactação. Determinaram as concentrações de zinco, cobre, ferro, cálcio e magnésio e encontraram declínio de todos os minerais, sendo que o conteúdo de zinco no nono mês correspondia a 13% do total apresentado pelo colostro. As porcentagens para cobre, ferro, cálcio e magnésio foram 49%, 60%, 34%, e 74%, respectivamente.

Em trabalho realizado com amostras de leite de 45 mães de baixa renda lactantes venezuelanas, foram analisadas amostras de colostro (48 horas) e de leite maduro nos estágios de 1, 3 e 6 meses. Observou-se em relação ao conteúdo de minerais: variações de cálcio e ferro; diminuição de zinco no decorrer do período; aumento de potássio e magnésio em relação ao colostro e estabilização entre os 3 e 6 meses de lactação, bem como aumento de cobre no primeiro mês, diminuindo em níveis semelhantes ao colostro e mantendo-se constante até os seis meses (CARIAS et al, 1997).

Silvestre et al. (2000) utilizaram 10 amostras de leite humano coletadas na maternidade do Hospital Clinico de Valencia de cada estágio: colostro, leite de transição, leite maduro de 30, 60 e 90 dias. Cobre, zinco e ferro foram quantificados e os valores diminuíram com a progressão da lactação. O conteúdo de zinco no terceiro mês correspondia a 10% do total apresentado no colostro e as porcentagens para cobre e ferro foram 53% e 73%, respectivamente.

Yamawaki et al. (2004) realizaram estudo longitudinal com aproximadamente 4000 (quatro mil) mulheres japonesas entre dezembro de 1998 e setembro de 1999 de várias regiões do Japão, coletaram 4056 amostras de leite em diferentes estágios de lactação. Deste total, 1197 amostras foram submetidas a análise para minerais. No período entre 1º mês e o 6º mês de lactação, cálcio e magnésio se mantiveram estáveis, enquanto ferro, potássio e zinco sofreram redução em seus valores, sendo que o zinco de forma mais significativa ($4,75 \pm 2,48 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,67 \pm 0,80 \text{ mg L}^{-1}$). Entre o 6º e o 12º mês de lactação os elementos permaneceram estáveis, exceto o ferro cujo valor aumentou de $0,52 \pm 1,43 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,85 \pm 0,66 \text{ mg L}^{-1}$).

Os estudos dos minerais em alimentos apresentaram um grande avanço a partir da década de 70, com o desenvolvimento de técnicas analíticas sensíveis e precisas, permitindo a sua quantificação. Portanto, daquela época até os dias atuais, os pesquisadores têm se preocupado em quantificar estes elementos nas dietas de grupos populacionais, visando avaliar a ingestão dos mesmos e correlacionar estes achados com o estado nutricional dos indivíduos (SGARBIERI, 1987; ANGELIS, 1999).

2.3.1 Cálcio

O cálcio representa de 1,5 a 2% do peso corpóreo. Quase 99% é encontrado nos ossos e dentes. As funções do cálcio estão diretamente relacionadas à formação dos ossos e dentes, além de participar como co-fator ou regulador em várias reações bioquímicas. Entre estas reações pode-se destacar que a liberação de energia para contração muscular depende da presença de cálcio. A coagulação do leite no estômago é feita pela ação da renina, enzima que para atuar exige a presença de cálcio. O cálcio também está envolvido na liberação inicial de neurotransmissores, na absorção de cianocobalamina, na secreção de insulina entre outras (SILVA e COZZOLINO, 2005; BORGES e BORGES, 2008).

O cálcio do leite humano é absorvido eficientemente pelo trato gastrointestinal da criança, devido à relação cálcio:fósforo do leite humano (2:1) ser mais adequada do que no leite de vaca (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

Durante a lactação, 200 a 250 mg de cálcio em média são secretados por dia pelo leite humano (SILVA e COZZOLINO, 2005). Este valor é a referência para o estabelecimento das necessidades do recém-nascido.

O cálcio apresenta-se como o mineral mais estável em diferentes estágios de lactação (BUTTE et al., 1984; EUCLYDES, 2005). Butte *et al.* (1984) em estudo longitudinal com 21 mulheres em Houston, USA de 2 até 12 semanas encontraram valor médio de $254 \pm 52 \text{ mg L}^{-1}$, sendo o valor inicial de 255 mg L^{-1} e 260 mg L^{-1} na última semana do estudo.

Com o objetivo de determinar o efeito do tempo de lactação sobre a mudança na concentração dos minerais no leite humano em mulheres venezuelanas, Carias et al. (1997) analisaram 83 amostras do colostro (48 horas) e leite maduro (1, 3 e 6 meses) de 45 mulheres de baixa renda e observaram que o conteúdo de cálcio no leite não mudou durante todo o período estudado.

Mastroeni et al. (2006) encontraram aumento do teor de cálcio do colostro ($214 \pm 58 \text{ mg L}^{-1}$) para o leite maduro ($250 \pm 31 \text{ mg L}^{-1}$), em estudo longitudinal envolvendo 43 doadoras da cidade de Jundiaí, São Paulo, entre agosto e outubro de 1999, e sugerem que esta variação ocorre para satisfazer o requerimento da nutrição da criança durante a primeira fase de vida.

A ingestão adequada para o cálcio é de 210 mg/dia entre 0 e 6 meses de vida, passando a 270 mg/dia entre o 7º e o 12º mês de vida (IOM, 2003).

2.3.2 Magnésio

O magnésio é o quarto mineral mais abundante no corpo humano, após o sódio, o potássio e o cálcio. O magnésio participa da transmissão neuromuscular, sendo necessário para o transporte de potássio e para atividade do canal de cálcio. Na sua deficiência ocorre aumento da irritabilidade muscular, arritmias cardíacas e tetania (MAFRA e COZZOLINO, 2005).

A maior parte do magnésio do corpo é depositada no osso e o esqueleto do adulto armazena cerca de 60% do magnésio total do corpo. Desempenha papel antagônico ao cálcio ósseo, aqueles processos que o cálcio estimula, o magnésio inibe (BORGES e BORGES, 2008).

Durante a lactação, a composição óssea exerce uma influência marcante na disponibilidade de cálcio e magnésio ao “pool” mineral que deve fornecer a glândula mamária. Além de compartilhar de locais de armazenamento com o cálcio, o metabolismo do magnésio interage com os agentes calciotrópicos (calcitonina, hormônio paratireóidico, vitamina D) e os estrógenos. Os recém-nascidos são suscetíveis a variações no teor sérico de magnésio (FRANSSON e LONERDAL, 1983; AL-AWADI & SRIKUMAR, 2000).

Dórea (1999), em artigo de revisão, cita que a maior parte dos valores determinados para o magnésio em leite humano está abaixo da mediana de 31 mg L⁻¹. São reportados valores oscilando entre 20 e 40 mg L⁻¹. Variações observadas na concentração de magnésio nos estudos não parecem ser moduladas por fatores constitucionais ou ambientais. A ingesta de magnésio na dieta materna não apresenta efeito sobre o magnésio no leite humano. O magnésio no leite humano é bem absorvido e não há registro de limitações em prover o adequado aporte de magnésio para a criança exclusivamente alimentada no peito.

Na lactação prolongada além de seis meses, mudanças pequenas podem ocorrer nas concentrações de magnésio, embora dentro das escalas normais. Para Fransson & Lonerdal (1983) o magnésio se mantém relativamente constante até o 12º mês da lactação. Contudo Butte et al. (1984) realizando estudo longitudinal em Houston em 5 estágios de lactação, entre a segunda e a décima segunda semana, identificaram um aumento significativo de magnésio, variando de 33 mg L⁻¹ na segunda semana para 39 mg L⁻¹ na última semana.

Com o objetivo de determinar o efeito do tempo de lactação sobre minerais no leite humano em mulheres venezuelanas, Carias et al. (1997) analisaram 83 amostras do colostro (48 horas) e leite maduro (1, 3 e 6 meses) de 45 mulheres de

baixa renda. O conteúdo de magnésio aumentou no terceiro mês de lactação e permaneceu constante até o 6º mês.

O valor do magnésio permaneceu estável do colostro para o leite maduro ($28,6 \pm 7 \text{ mg L}^{-1}$ para $29,9 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$) em estudo longitudinal realizado por Mastroeni *et al.* (2006) envolvendo 43 doadoras realizado na cidade de Jundiaí, São Paulo, entre agosto e outubro de 1999.

A ingestão recomendada para o magnésio é de 30 mg/dia entre 0 e 6 meses de vida, passando a 75 mg/dia até o 12º mês de vida (IOM, 2003).

2.3.3 Potássio

O potássio é um importante mineral, com níveis normais sanguíneos de 3,5 a 5,5 mEq/L. Sua ação se desdobra em várias frentes de importância metabólica. Transporta oxigênio como oxi-hemoglobina potássica; influi na obtenção de energia favorecendo a óxido-redução da glicose; facilita a conversão de glicose em glicogênio; participando ativamente do equilíbrio ácido-básico do organismo (PEDROSO, 2008).

Mastroeni *et al.* (2006) encontraram redução de potássio do segundo dia ao segundo mês de lactação, em estudo longitudinal envolvendo 43 doadoras realizado na cidade de Jundiaí, São Paulo, entre agosto e outubro de 1999. Não existe ingestão adequada estabelecida para o eletrólito potássio (IOM, 2003).

2.3.4 Ferro

O ferro é importante nutriente, pois faz parte de sistemas enzimáticos e da estrutura da hemoglobina e sua deficiência pode resultar em anemia com repercussão para o crescimento e desenvolvimento da criança. Contudo o baixo conteúdo de ferro é compensado por sua alta biodisponibilidade (LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

O ferro encontra-se em quantidade baixa ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$) tanto no leite humano quanto no leite de vaca. No entanto, a absorção e a biodisponibilidade é muito maior no leite humano do que no leite de vaca. Os fatores associados a esta alta absorção ainda não estão bem esclarecidos, mas a diferença da biodisponibilidade entre o leite humano e o leite de vaca pode ser explicada pela diferença no tipo de ferro e na sua associação com outros componentes do leite. A lactoferrina, proteína de maior afinidade com o ferro, destaca-se como possível fator responsável pela alta absorção do ferro no leite humano, entre outros fatores (SILVA et al., 2002).

Para Lamounier e Leão (2008), a alta biodisponibilidade do ferro no leite humano resulta de uma série de interações entre os componentes do leite humano e o organismo da criança. A maior acidez do trato intestinal e a presença de quantidades adequadas de zinco, cobre e lactoferrina são fatores importantes para maior absorção do ferro.

O ferro encontra-se ligado aos lipídios e as proteínas, e, mesmo diminuindo com o tempo de lactação, sua absorção chega a mais de 40%, suprimindo a necessidade da criança em aleitamento exclusivo nos primeiros seis meses de vida, mantendo o excelente nível de absorção mesmo com a introdução de outros alimentos na dieta infantil (AKRÉ, 1994).

A deficiência de ferro é uma carência nutricional prevalente na infância. Estudos indicam prevalência entre 40 e 68% na Região Metropolitana da Grande São Paulo, Porto Alegre e região sul do Brasil, aumentando até os 18 meses e sendo menos prevalente com aumento da escolaridade do pai e da renda familiar (TORRES et al., 1994; NEUMAN, N.A. et al., 2000; DA SILVA et al., 2001; SILVA et al., 2007).

A reserva corporal do recém-nascido a termo atende de 4 a 6 meses. Contudo os estudos têm demonstrado não existir nenhuma correlação entre o status de ferro materno e a concentração de ferro no leite humano, assim como o ferro na dieta materna parece ter pouco efeito na concentração do leite humano (DOMELLOF et al., 2004; LAMOUNIER e LEÃO, 2008).

Um estudo longitudinal realizado com aproximadamente 4000 mulheres japonesas entre dezembro 1998 e setembro 1999 (YAMAWAKI et al., 2004) encontrou valores para ferro que aumentaram do colostro para o leite maduro ($1,10 \pm 0,54 \text{ mg L}^{-1}$ para $1,36 \pm 0,83 \text{ mg L}^{-1}$) e declinaram após 90 dias de amamentação, apresentando valor médio de $0,85 \pm 0,66 \text{ mg L}^{-1}$ aos 6 meses..

Com o objetivo de determinar o efeito do tempo de lactação sobre minerais no leite humano em mulheres venezuelanas, Carias et al. (1997) analisaram 83 amostras do colostro (48 horas) e leite maduro (1, 3 e 6 meses) de 45 mulheres de baixa renda. O conteúdo de ferro no leite não mudou durante todo o estudo.

Mastroeni et al. (2006) encontraram redução de ferro do segundo dia ao segundo mês de lactação ($1,20 \pm 0,8 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,90 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$), em estudo longitudinal envolvendo 43 doadoras realizado na cidade de Jundiaí, São Paulo, entre agosto e outubro de 1999.

A ingestão recomendada para o ferro é de 0,27 mg/dia dentre 0 e 6 meses de vida, passando a constituir-se em RDA (Recomendação de Ingestão Dietética) após os 7 meses quando seu valor é 6,9 mg/dia até o 12º mês de vida (IOM, 2003).

2.3.5 Zinco

O zinco é um nutriente essencial na estrutura de enzimas e no funcionamento da imunidade celular. Embora as quantidades de zinco disponíveis no leite humano sejam pequenas, ele é considerado uma boa fonte de zinco. Sua biodisponibilidade é expressivamente maior do que o leite de vaca e substitutos. O leite de vaca integral tem menor disponibilidade de zinco do que o leite humano (LAMOUNIER et al., 2002; FRAGA, 2005; LAMOUNIER e LEÃO, 2008). Segundo Moura (2001), o zinco presente no leite humano é essencial ao organismo e apresenta elevada absorção, atendendo às necessidades do lactente.

O zinco é o micromineral que demonstra variabilidade, reduzindo seus teores ao longo da lactação. Pesquisadores observaram tendência de queda na concentração de zinco no leite de mães de recém nascidos pré-termo e a termo

(BUTTE et al., 1984; CASEY et al., 1989; SUZUKI et al., 1991, CARIAS et al., 1997; ITRIAGO et al., 1997; TRUGO et al., 1998; MASTROENI et al., 2006). A diminuição dos teores de zinco durante a lactação é provavelmente relacionada com a redução do conteúdo protéico, pois estudos demonstram que o zinco é encontrado principalmente associado a fração protéica (FRANSSON & LONNERDAL, 1983; TRUGO et al., 1998; FRAGA, 2005).

Estudo comparativo realizado com mulheres em Honduras e Suécia não encontrou correlação entre a ingestão de zinco na dieta e as concentrações de zinco no leite. É interessante que o prolongamento da amamentação e a baixa ingestão de alimentação complementar em Honduras esteja associada com alta concentração no leite de peito nas mulheres hondurenhas, a despeito da baixa concentração de zinco plasmático (DOMELLOFF et al., 2004).

Butte et al. (1984) em estudo longitudinal com 21 mulheres em Houston, USA em 6 estágios de lactação entre a segunda e a décima segunda semana, encontraram variação de 3,40 a 1,40 mg L⁻¹ de zinco. Casey *et al.* (1989) em estudo realizado ao longo de 1 ano determinou variações de 3,00 a 4,00 mg L⁻¹ no primeiro mês; 1,00 a 1,50 mg L⁻¹ no terceiro mês e 0,50 mg L⁻¹ aos 12 meses.

Mastroeni et al. (2006) realizaram estudo longitudinal envolvendo 43 doadoras realizado na cidade de Jundiaí, Brasil, entre agosto e outubro de 1999, do segundo dia ao segundo mês de lactação. Encontraram redução para potássio, ferro e zinco ($9,3 \pm 3,6$ mg L⁻¹ para $1,5 \pm 0,6$ mg L⁻¹) do colostro para o leite maduro. A maior concentração do elemento zinco foi determinada para o colostro e o declínio acentuado para leite maduro está de acordo com os achados da literatura.

Com o objetivo de determinar o efeito do tempo de lactação sobre minerais no leite humano em mulheres venezuelanas, Carias et al. (1997) analisaram 83 amostras do colostro (48 horas) e leite maduro (1, 3 e 6 meses) de 45 mulheres de baixa renda. Os resultados mostraram que o colostro tinha alto teor de proteína e baixa concentração de gordura em relação ao leite maduro embora o conteúdo de energia e carboidrato fossem similares. No decorrer da lactação o conteúdo de

zinco. A ingestão adequada para o zinco é de 2 mg/dia entre 0 e 6 meses de vida, passando a 3 mg/dia até o 12º mês de vida (IOM, 2003).

2.4 Metodologias para determinação da composição mineral do leite humano

A determinação de minerais em alimentos pode ser realizada por diferentes técnicas analíticas. A escolha da técnica a ser utilizada vai depender do analito e do nível de sua concentração na amostra, além do número de amostras a serem analisadas, quantidade da amostra disponível, tipo de preparo da amostra, do custo envolvido, bem como da exatidão e precisão requeridas (IAL, 2005).

Para a determinação dos minerais nos alimentos é necessário tornar os analitos disponíveis em solução por meio da mineralização prévia das amostras e posterior dissolução dos resíduos com ácidos minerais. A destruição da matéria orgânica (mineralização e digestão) é geralmente considerada uma etapa crítica da análise, devido principalmente à contaminação da amostra ou à perda do analito (IAL, 2005; KRUG, 2006).

Várias técnicas e métodos analíticos são utilizados na determinação de metais em amostras de leite. No entanto, os métodos espectrométricos são os mais empregados e citados na literatura científica, entre eles: Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HGAAS), Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES), além de Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS).

A técnica ICP OES tem sido muito empregada nos últimos anos para determinação de íons metálicos em amostras diversas, com boa sensibilidade, precisão e rapidez e análise multielementar com uma ampla faixa de trabalho.

O princípio do método é a emissão da radiação eletromagnética nas regiões visível e ultravioleta do espectro por átomos e íons, após excitação eletrônica num gás plasma de alta temperatura. A análise por espectrometria de emissão é baseada no princípio de que átomos e íons excitados emitem radiação em um comprimento

de onda característico, quando os seus elétrons retornam aos orbitais de menor energia. O espectro atômico emitido pela amostra é usado para a determinação de sua composição quantitativa e qualitativa (KRUG, 2006).

2.4.1 Vantagens do ICP OES

O ICP OES é uma excelente fonte de emissão, possibilita análises multielementares simultaneamente, e as curvas de calibração são lineares em várias ordens de grandeza. Pode ser aplicado para determinação da maioria dos elementos da tabela periódica, inclusive elementos difíceis de serem determinados por absorção atômica como alumínio e cálcio.

2.4.2 Desvantagens

O ICP OES é uma técnica de alto custo, que necessita da prévia digestão da matriz. Podem ocorrer interferências espectrais e não espectrais que devem ser controladas para que as determinações apresentem exatidão e precisão aceitáveis.

2.4.3 Preparo da amostra

Uma das etapas principais para determinação de metais por métodos espectroscópicos é o preparo da amostra. A escolha do procedimento adequado de digestão da amostra deve levar em consideração o tempo necessário para sua realização, a quantidade de reagentes envolvidos, simplicidade, além de produzir resultados exatos e reprodutivos. O procedimento de amostra tradicionalmente usado para a determinação de minerais em produtos lácteos por FAAS e ICP OES é a digestão por via seca (AOAC, 2000). O procedimento por via seca demanda longo tempo, além de ser influenciado por outros fatores tais como temperatura, tempo, tipo do ácido usado para dissolver as cinzas, com risco de contaminação da amostra (KIRA et al., 2002).

Outra forma de tratamento de amostra é a digestão por via úmida, podendo ser realizada empregando chapa de elétrica de aquecimento, bloco digestor ou forno

de microondas. Este tipo de procedimento geralmente necessita de maiores quantidades de reagentes e supervisão constante do analista (KRUG, 2006).

A maioria dos procedimentos com digestão ácida envolve muitas etapas, são longos e consomem grande quantidade de ácidos. O ácido nítrico é preferencialmente utilizado nos procedimentos de digestão ácida por ser forte oxidante e por gerar H_2O , CO_2 e NO_x como produtos finais de decomposição. Em alguns casos, é combinado com ácido sulfúrico (H_2SO_4), propiciando maiores temperaturas e uma digestão mais efetiva.

Em trabalhos recentes, o uso de forno de microondas tem sido proposto com vantagens relacionadas ao menor tempo de digestão, volume de reagentes e risco de contaminações (BOA MORTE, 2006).

Poucas são as pesquisas realizadas visando estabelecer procedimentos para determinação da composição mineral do leite. Dentre os trabalhos existentes destacam-se:

Kira et al. (2002) desenvolveram um procedimento de digestão por via úmida de duas horas em placa de aquecimento para determinar cálcio, cobre, cromo, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio, fósforo e zinco em amostras de leite integral e desnatado. O resultado foi quantificado através de ICP OES. O tempo foi consideravelmente reduzido em comparação com a digestão por via seca. A digestão foi conduzida utilizando 1,0 g de amostra e digerido com 10 mL de ácido clorídrico (HCl) 1:1 (v/v) com água na temperatura de 100°C por 2 horas. O digerido foi filtrado e o volume final completado até 25 mL com água desionizada.

Alkanani et al. (1994) investigaram procedimentos de digestão para amostras de leite humano usando HNO_3 (ácido nítrico) em forno de microondas doméstico visando determinação por ICP MS. O procedimento utilizando 1,0 mL de HNO_3 concentrado para aproximadamente 0,07 g de leite humano desidratado, em recipiente fechado, mantido a 70° C por 5 dias em forno microondas fechado, apresentou valores concordantes com amostra certificada para maioria dos

elementos determinados, indicando a aplicabilidade do método para este tipo de matriz.

Fuente *et al.* (1995) determinaram cálcio, magnésio, sódio e potássio em leite bovino por espectrometria por absorção atômica com chama (FAAS) após digestão em forno de microondas doméstico. Para a digestão de 1,0 mL de leite integral foi utilizado um volume de 2,0 mL de HNO₃ ou mistura composta de 2,0 mL HNO₃ e 2,0 mL de água oxigenada (H₂O₂) em frasco reator PTFE (frasco para decomposição sob pressão). Os autores observaram que melhores eficiências de digestão foram alcançadas com a combinação de HNO₃+H₂O₂.

Silvestre *et al.* (2000) propuseram um procedimento de digestão para amostras de leite humano, em forno microondas com cavidade visando quantificar cobre, ferro e zinco. A digestão foi conduzida utilizando 2,0 mL de leite humano, 1,0 mL de HNO₃ e 0,25 mL de H₂O₂. O digerido foi levado a placa de aquecimento com 10 mL de água para evaporação e diminuição da concentração ácida por 2 horas e 30 minutos. O digerido foi transferido para balão volumétrico e volume ajustado para 10 mL. Em seguida o digerido foi filtrado. A quantificação foi feita por FAAS e foram obtidos elevados percentuais de recuperação para os elementos quantificados (95 a 100%) demonstrando a eficiência do método.

Yamawaki *et al.* (2005) analisaram a composição mineral de leite humano por ICP OES. Uma alíquota de 10 mL das amostras foi calcinada por 2 horas a 450° C. As cinzas foram solubilizadas em HCl 6,0 mol L⁻¹ e diluídas com água desionizada. As concentrações de Na, Mg, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn e Se mostraram ampla faixa de variação. Os autores confirmaram que esta variação depende do estágio de lactação(1º mês, 3º mês, 6º mês e 12º mês) e variações individuais.

Boa Morte (2006) propôs um procedimento para determinação da composição mineral em leite bovino por ICP OES utilizando digestão ácida. A digestão foi conduzida utilizando 5 mL de leite em mistura de 2 mL de ácido nítrico e 3 mL de ácido sulfúrico, submetida a aquecimento de 200°C por 2 horas em bloco digestor. Para clarificação do digerido, foi adicionado H₂O₂ e mantido em aquecimento por 5 minutos. Após redução do volume e esfriamento da solução, o digerido foi

transferido para balão volumétrico e completado o volume até 10 mL. A quantificação dos minerais foi determinada por ICP OES.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar as mudanças na composição mineral do leite humano produzido em diferentes estágios de lactação.

3.2 Específicos

- Determinar os teores de cálcio, magnésio, potássio, ferro e zinco no leite materno;
- Avaliar a mudança dos teores de cálcio, magnésio, potássio, ferro e zinco segundo à evolução da lactação;
- Avaliar a relação entre as variáveis maternas, tais como: idade materna, peso, tipo de parto e idade gestacional e os teores encontrados de cálcio, magnésio, potássio, ferro e zinco.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 População

Este projeto faz parte de um estudo de coorte de nascimento que está sendo desenvolvido em municípios baianos localizados no Vale do Jiquiriçá. Nos municípios de Mutuípe e Laje foram registrados 715 nascimentos/ano (IBGE, 2006). Para efeito da amostra desse estudo 538 desses nascimentos ocorridos entre setembro de 2005 a setembro de 2006, constituíram uma coorte dinâmica que foi acompanhada até agosto de 2008, quando a última integrante da pesquisa completou dois anos de idade, período total de acompanhamento da coorte.

4.2 Aspectos éticos

Esta investigação foi submetida ao Comitê de Ética da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia, que atestou pertinência ética de sua realização conforme determina a Resolução 196/96 sobre a pesquisa envolvendo seres humanos do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, obtendo parecer favorável (Anexo 1: Parecer N 74/2005).

Foi apresentada explicação às mães a respeito da pesquisa e colhida assinatura no Termo de Consentimento (Anexo 2), autorizando sua participação no estudo e foram informadas que eram livres para desistir da participação no momento que desejassem, conforme recomendado pela resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

4.3 Coleta do leite humano

4.3.1 Protocolo de coleta

A coleta do leite humano foi feita de forma manual com lubrificação da pele da auréola dos mamilos com a própria secreção. Este procedimento de coleta era

realizado pelas próprias mães e quando necessário, as pesquisadoras ajudavam, usando luvas descartáveis.

A coleta foi realizada sempre no horário da manhã, no 1º, 6º e 12º mês, sendo que as mães foram orientadas a manter uma mama completamente cheia para a extração. O leite foi coletado no posto de saúde ou policlínica (07:30h as 11:00h) onde eram realizadas as consultas periódicas ou no domicílio sob agendamento (05:00h). O conteúdo total da mama foi coletado em frasco de vidro âmbar, fechado e identificado com número de registro, nome da mãe, data, local da coleta e volume coletado.

4.3.2 Estocagem

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. O tempo decorrido entre a ordenha, coleta, transporte e chegada ao armazenamento não ultrapassou quatro horas. O leite foi homogeneizado e quatro alíquotas de 09 mL foram separadas e mantidas sob congelamento a 81°C negativos, em frascos plásticos de cor âmbar. As amostras foram mantidas, em freezer de armazenamento específico para esta finalidade, marca REVCO, Legaci refrigeration system, com mostrador de temperatura digital externo e porta dotada de sistema anti-vácuo.

4.4 Informações maternas

Foram coletadas informações referentes às condições maternas, tais como idade, peso e altura pré-gestacional, tipo de parto e idade materna, utilizando-se questionário estruturado aplicado por entrevistadores treinados (Anexo 3).

4.5 Parte experimental

ESCOLHA DO MÉTODO ANALÍTICO

A digestão das amostras e a determinação dos minerais foram realizadas nos Laboratórios do Grupo de Pesquisa de Química Analítica do Instituto de Química da UFBA.

Toda a vidraria e utensílios empregados no experimento foram descontaminados em solução de ácido nítrico a 10% por 24 horas e, posteriormente, lavados com água desionizada, secas à temperatura ambiente e guardados em caixa plástica com tampa específica para este fim.

4.5.1 Vidraria

Tubos de ensaio, pipetas volumétricas, pipeta automática, béqueres, balões volumétricos de 50 mL, bastão de vidro, cadinhos de porcelana, vidro de relógio, entre outros.

4.5.2 Material permanente

- Bloco Digestor
- Chapa de aquecimento Quimis, modelo 313
- Capela de exaustão
- Geladeira
- Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado
- Forno Mufla
- Micropipeta

4.5.3 Reagentes

- Ácido nítrico concentrado P.A. (Merck);
- Padrões de solução Merck 1000 mg L⁻¹ em solução de HNO₃ 5% (v/v) de Potássio, Cálcio e Magnésio; e padrão Tec Lab de 1000 mg L⁻¹ de Ferro e Zinco
- Ácido sulfúrico concentrado (Merck)
- Peróxido de Hidrogênio 30% (v/v)
- Água deionizada

4.5.4 Procedimento para digestão das amostras

Inicialmente foi realizado um estudo piloto onde as amostras de leite humano foram submetidas a dois métodos de digestão, por via seca e úmida, de acordo com as normas preconizadas pela AOAC (2002) e Instituto Adolfo Lutz (2005).

Analisando os resultados encontrados neste estudo piloto, verificou-se que o procedimento que apresentou melhor grau de recuperação para macro e micro elementos foi o processo de digestão por via úmida em mistura composta de HNO_3 e H_2SO_4 , método adaptado por Boa Morte (2006). Os resultados obtidos foram compatíveis com os mesmos determinados por outros pesquisadores. Neste estudo piloto foram utilizadas 3 amostras da mesma doadora com aproximadamente um ano de lactação.

PROCEDIMENTO (1,0 mL de HNO_3 + 2,0 mL de H_2SO_4 + 10 mL de H_2O_2).

Alíquotas de 3,0 mL de leite humano, em triplicata, foram transferidas para tubos de ensaio e adicionou-se 1,0 mL de HNO_3 e 2,0 mL de H_2SO_4 . Os tubos foram colocados em bloco digestor, cobertos com vidro de relógio, e foi programada uma elevação gradual da temperatura até 200°C , que foi mantida por 30 minutos, com agitação ocasional. Ao final deste tempo, foram adicionados 10 mL de H_2O_2 . A mistura permaneceu em aquecimento até redução do volume e a solução resultante apresentou-se límpida e sem glóbulos de gordura. A solução final foi transferida para tubos de centrífuga de 15 mL e o volume completado até 10 mL com água deionizada após a solução ter atingido temperatura ambiente, conforme mostra a Figura1.

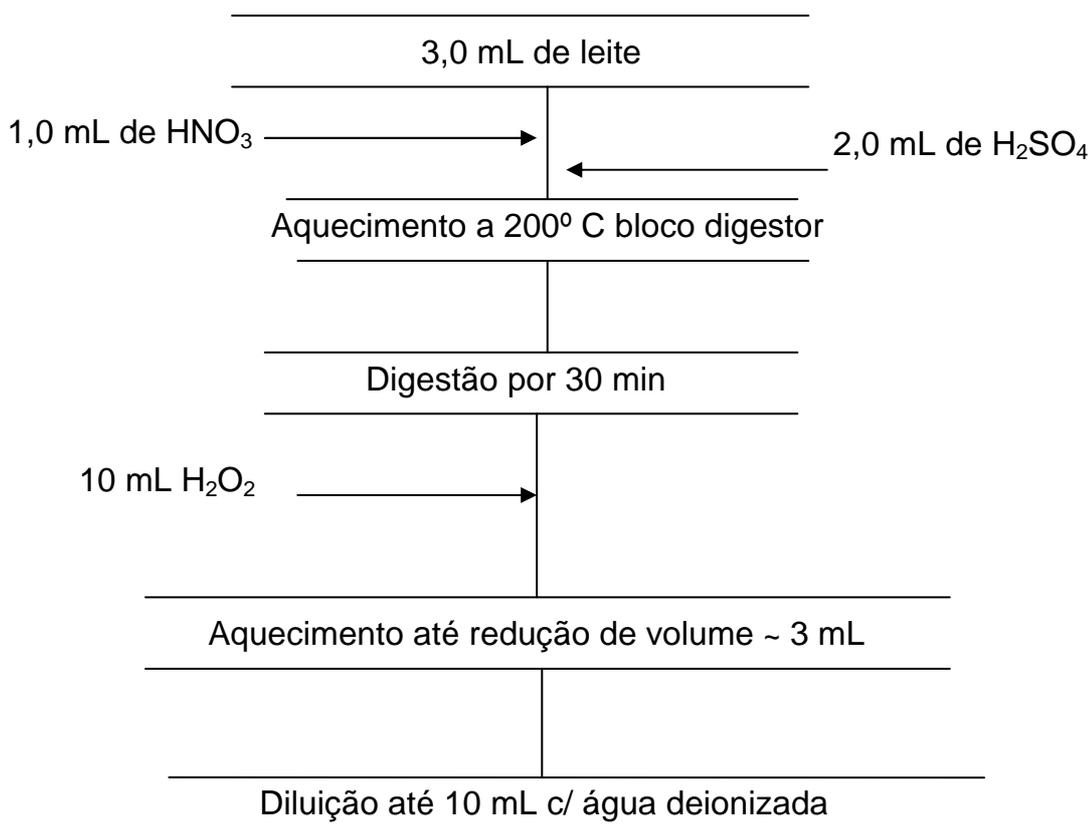


Figura 1. Fluxograma do procedimento de digestão por via úmida

A solução estoque multielementar na concentração de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe e Zn, preparada a partir das soluções de referência contendo 1000 mg L^{-1} dos analitos (Tec Lab), foi utilizada no preparo da curva analítica de calibração a partir de adequada diluição em solução de ácido nítrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ para as seguintes concentrações finais: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. Para os macro nutrientes Ca, Mg e K, a solução estoque $100,0 \text{ mg L}^{-1}$, preparada a partir das soluções de referência contendo 1000 mg L^{-1} dos analitos (Merck), foi utilizada no preparo da curva analítica de calibração por adequada diluição em solução de ácido nítrico $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para as seguintes concentrações finais: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 e $50,0 \text{ mg L}^{-1}$.

4.5.5 Determinação dos minerais

A determinação foi feita através da medida das intensidades da emissão dos elementos, em comparação com uma curva analítica de calibração. Os resultados foram expressos em mg L^{-1} de leite.

Para a quantificação dos analitos foi utilizado o ICP OES. Para a nebulização das soluções foi empregado um nebulizador concêntrico acoplado a uma câmara ciclônica. Os parâmetros instrumentais utilizados estão mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração axial

Potência RF (kW)	1,2		
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,70		
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5		
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15		
Tempo de integração (s)	1,0		
Tempo de estabilização (s)	15		
Tempo de leitura (min)	1		
Replicatas	3		
Nebulizador	V-groove		
Câmara de Nebulização	Sturmam Master		
Linhas Espectrais (nm)	Ca (II)	Fe (II)	K (I)
	396,847	238,203	766,468
	Mg (I)	Zn (I)	Y ^(a) (II)
	285,209	213,858	371,029

^(a) elemento utilizado com padrão interno (1,0 mg L⁻¹)

(I) linha de emissão atômica

(II) linha de emissão iônica

4.6 Validação do Método

O procedimento utilizado neste estudo foi validado em trabalho desenvolvido no Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia (BOA MORTE, 2006; BOA MORTE, 2008). Para a validação da metodologia empregada, foi utilizado o padrão de referência do “National Institute of Standards & Technology”- NIST SRM 1549, *Non-Fat Bovine Milk Powder*.

4.7 Análise de Dados e Análise Estatística

Os dados relativos aos resultados das análises das amostras de leite foram armazenados em microcomputador, utilizando-se o programa EPI INFO, versão 6.4. Os cálculos, tabelas e gráficos necessários para análise foram realizados através do programa SPSS, versão 13.0.

Para análise dos resultados foi utilizado a estatística descritiva com cálculo de média e desvio-padrão. Para comparação das médias entre os grupos foi aplicado teste t pareado com um nível de significância de 5% para o risco de rejeição de hipótese nula, para verificar nível de significância na diferença do conteúdo de cada elemento mineral ao longo do tempo.

Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) para testar a influencia dos fatores maternos (idade materna, idade gestacional, Índice de Massa Corpórea, tipo de parto) na composição do leite.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKRÉ, J. **Alimentação Infantil: bases fisiológicas** São Paulo, IBFAN/ Instituto de Saúde de São Paulo, 1994, 89p.

AL-AWADI, F.M.; SRIKUMAR, T.S. Trace elements status milk and plasma of Kwait and non-Kwait lactating mothers. **Nutrition**, v. 16, n. 11-12, p.1069-1073, 2000.

ALKANANI, T.; FRIEL, J.K.; JACKSON, S. E.; LONGERIGHT H. P. Comparison between Digestion Procedures for the Multielemental Analysis of Milk by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, **Journal Agriculture Food Chemistry**., v. 42, p.1965-1970, 1994.

ALMEIDA, J. A G. **Amamentação: um híbrido natureza e cultura**. Rio de Janeiro; Fiocruz, 1999. 120 p.

ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE B. M.; REMLEY D. T. Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis. **American Journal of Clinic Nutritional**, vol. 70, p. 525-35, 1999.

ANGELIS, R. C. **Fome Oculta, Impacto para a População do Brasil**. São Paulo, Atheneu, 1999, 36p.

ASSIS, A. M. O.; BARRETO M. L.; SANTOS N. S.; OLIVEIRA L. P. M.; SANTOS S. M. C.; PINHEIRO S. M. C. Centro Colaborador Nordeste II. Relatório de atividades, 2000/2001. **Diagnóstico da anemia, estado antropométrico e de consumo alimentar de menores de 5 anos de idade de 10 municípios do Estado da Bahia**. Salvador, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical**, 17th ed., volume 2, chapter 50, p. 14. (method 985.35) Arlington: .AOAC, 2000.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2ed. Zaragoza: Acribia, 2000, 1087p.

BOA MORTE E. S., **Estratégias para avaliação da composição mineral do leite comercializado em Salvador, Bahia**, 2006. 109p. Tese (Mestrado). Instituto de Química/Universidade Federal da Bahia (UFBA).

BOA MORTE, E. S.; COSTA, L. M.; NÓBREGA, J. A.; KORN M. G. A. Multi-element determination in acid-digested soy protein formulations by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, **Food Additives and Contaminants**, vol. 25, p. 616-621, may 2008.

BORBA, L. M. Composição de leite humano e microbiota predominantemente bífida do lactente em aleitamento materno exclusivo, **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição = Journal Brazilian Society Food Nutritional**, São Paulo, SP, vol. 25, p. 135-151, junho 2003.

BORTOLOZO, E. A .F. Q.; TIBONI, E. B.; CÂNDIDO L. M. B. et al. Padrão Microbiológico e Sanitário do Leite Humano, Processado em Banco de leite, **Revista Higiene Alimentar**, vol. 18, n. 122, p. 85-88, julho 2004.

BRASIL – Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Recomendações Técnicas para o funcionamento de Bancos de Leite Humano**. 3ª Edição atualizada. Brasília. 48p. 1998

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 322 de 26 de maio de 1988. **Dispõe sobre Normas gerais destinadas a regular a instalação e funcionamento dos bancos de leite em todo território nacional**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 12 de setembro de 2006.

BUTTE N. F.; JOHNSON, C. A.; GARZA, C.; SMITH, E. O.; NICHOLS, B. L. Longitudinal changes in milk composition mothers delivering preterm and term infants, **Early Human Development**, n. 9, p 153 – 162, 1984.

BUTTE N. F.; GARZA, C.; SMITH, E. O.; WILLS, C.; NICHOLS, B. L. Macro and trace mineral intakes of exclusively breast-fed infant. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n. 45, p 42 – 48, 1987.

CARIAS D.; VELÁSQUEZ, G.; CIOCCIA, A.; PIÑERO, D.; INCIARTE, H; HEVIA, P. The effect of lactation on the macronutrient and mineral composition of milk from Venezuelan women, **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, vol. 47, n. 2, p 110-117, junho1997.

CARMO M. G. T.; COLARES L. G. T.; SAUNDERS C., Nutrição na lactação. In: Accioly, E.; Saunders, C.; Lacerda, E. M. A. **Nutrição em obstetrícia e pediatria**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, p. 287- 313, 2002.

CASEY, C. E.; NEVILLE, M.C.; HAMBIDGE, K. M. Studies in human lactation:secretion of zinc, copper and manganese in human milk. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 49 p. 773 – 785, 1989.

COSTA, R. S. S.; CARMO, M. G. T.; SAUNDERS, C.; JESUS E. F. O.; SIMABUCO, S. M.; PAIVA, F. Níveis de Ferro, Cobre e Zinco em colostro de puérperas adultas de recém-nascidos a termo e pré-termo, segundo variáveis maternas e socioeconômicas. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, vol. 2, n. 1, p. 43-50 janeiro / abril 2002.

DA SILVA, L. S. M.; GIUGLIANI, E. R. J.; AERTS, D. R. G. C. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, p. 66-73, fevereiro 2001.

DOMELLOF, M.; LÖNNERDAL, B.; DEWEY, K. G.; COHEN, R. J. HERNELL, O. Iron, Zinc and copper concentrations in breast milk are independent of maternal status. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 79, n. 1, p. 111-115, Janeiro 2004.

DOREA J. G., Magnesium in human Milk. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 19, n.2, p. 210-219, 2000.

BORGES, C. B. N. e BORGES, R. M. Macrominerais. In: **Ciências Nutricionais**. J. E. Dutra de Oliveira e J. Marchini. São Paulo: SARVIER, p. 169-179, 2008.

EUCLYDES, M. P., **Nutrição do Lactente: Base científica para uma alimentação saudável**. 3 ed. Viçosa, MG, 2005, 550p.

FRAGA, C. G., Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, vol. 26, p. 235-244, 2005.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. 9 ed. São Paulo, Atheneu, 2001, 307p.

FRANSSON G. B., LÖNNERDAL B. Distribution of trace elements and minerals in human and cow's milk. **Pediatric Research**, vol. 17, p. 912-915, 1983.

FRANSSON G. B., LÖNNERDAL B. Iron, Copper, Zinc, Calcium and Magnesium in human milk fat. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 39, p. 185-189, 1984.

FUENTE, M. A.; JUÁREZ, M. Rapid Determination of calcium, magnesium, sodium and potassium in milk by flame atomic spectrometry after microwave oven digestion, **Analyst**, v. 120, p. 107-111, 1995.

GUDIÉL-URBANO, M. e GONI, I. Oligosacáridos de la leche humana: Papel en la salud y en el desarrollo del lactante. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, vol. 51, n. 4, p. 332-339, dezembro 2001.

HENRIQUES, G. S. Biodisponibilidade de Carboidratos. In: **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Silvia M. Franciscato Cozzolino, Barueri, São Paulo: Manole, p. 124-151, 2005.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>, 2006. Acessado em 20/01/2008.

IOM (Institute of Medicine). National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI's). **Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Planning** National Academy Press, Washington, 2003, 248p.

INSTITUTO ADOLF LUTZ (São Paulo). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. V.1 – São Paulo, 4 ed. p. 723-730, 2005.

ITRAGO, A.; CARRION, N.; FERNANDEZ, A.; PUIG, M.; DINI, E. Zinc, copper, iron, calcium, phosphorus and magnesium content of maternal milk during the first 3 weeks of lactation, *Arquivos Latinoamericanos de Nutrição*, vol. 47, p. 14-22, março 1997. **Resumo**.

KAMIYA E., RAMOS M. I. L. Avaliação microbiológica e calórica do leite humano coletado e distribuído no banco de leite humano do Hospital Universitário /NHU/UFMS, **Revista Higiene Alimentar**, vol.17. n.109, p. 64-68, junho 2003.

KIRA C. S.; MAIHARA V. A.; SAKUMA A. M. A. **Determinação rápida de minerais e elementos-traço em amostras de leite por espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio induzido (ICP-OES)** Anais do VII Encontro Nacional sobre contaminantes inorgânicos. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro - RJ, 2002.

KREBS, N.F.; REIDINGER, C. J.; HARTLEY, S.; ROBERTSON, A. D.; HAMBIDGE K. M. Zinc supplementation during lactation: effects of maternal status and milk zinc concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**. V. 61, p. 1030-1036, 1995.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas**. VI Workshop sobre preparo de amostras. 6ª edição, Santa Maria-RS, 2006, 282p.

LAMOUNIER J. A., LEAO E. Nutrição na infância. In: **Ciências Nutricionais**. J. E. Dutra de Oliveira e J. Marchini. São Paulo: SARVIER, p. 265-289, 2008.

LAMOUNIER J. A., VIEIRA G. de O., GOUVEA L. C. Composição do Leite Humano – Fatores Nutricionais. In: **Aleitamento Materno**. José Dias Rego, São Paulo: Atheneu, p. 47-58, 2002.

LIRA, B. F. **Qualidade da fração lipídica do leite humano ordenhado e processado**. Recife, 2002. 69p. Tese (Mestrado). Faculdade de Nutrição/Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

MAFRA D. e COZZOLINO S. M. F. Magnésio, In: **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Silvia M. Franciscato Cozzolino, Barueri, São Paulo: Manole, p. 459-471, 2005.

MAIA P. R. da S. et al. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano: gênese e evolução, **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, vol. 6 n. 3, p. 285-292, Recife, julho/ setembro 2006.

MARQUES R. S. V. LOPEZ F. A., BRAGA J. A. P. O crescimento de crianças alimentadas com leite materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida. **Revista Chilena de Pediatria**, vol.77, n.5, p.529-530, Santiago, outubro 2006.

MASTROENI, S. B. S.; OKADA, I. A.; RONDÓ, P. H. C.; DURAN, M. C.; PAIVA A. A.; NETO, J. M. Concentrations of Fe, K, Na, Ca, P, Zn and Mg in Maternal Colostrum and mature Milk. **Journal of Tropical Pediatrics**, vol. 52, n. 4, p. 272-275, março 2006.

MBOFUNG CM, ATINMO T, OMOLOLU A Mineral content of colostrum and mature milk of lactating Nigerian women as influenced by stage of lactation. **Nutritional Reports International** vol. 30, n. 5 p. 1137-1146, Novembro 1984.

MORGANO, M. A.; SOUZA, L. A.; NETO, J. M.; RONDÖ P. H. C., Composição mineral do leite materno de bancos de leite. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.5 n.4, p. 1-6, Campinas, outubro / dezembro 2005.

MOURA, E. C. **Amamentação: Bases Científicas para a Prática Profissional**. Ed. Guanabara, Koogan S.A. 2001. p.61-87.

NEUMAN, N.A. et al. Prevalência e fatores de risco para anemia no Sul do Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 56-63, fevereiro 2000.

OLIVEIRA, A. Q. **Otimização de metodologia analítica e avaliação da incidência de Cádmi e Chumbo em leite humano e alimentos infantis**. Tese (Doutorado), 2005. 112p. Faculdade de Engenharia de Alimentos/ Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

OLIVEIRA L. P. M.; ASSIS, A. M. O.; GOMES, G. S. S.; PRADO, M. S.; BARRETO, M. L. Duração do aleitamento, regime alimentar e fatores associados segundo condições de vida em Salvador, Bahia, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, RJ, vol.21, n.5, setembro/ outubro 2005.

OLIVEIRA, M. C. C. **Práticas de Amamentação, Teores de Minerais e Vitamina A no Leite Humano em Diferentes Fases de Lactação segundo Variáveis Maternas**. Belo Horizonte, 2003. 60p. Tese (Mestrado). Faculdade de Farmácia/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

PARR, R. M.; DEMAYER, E. M.; IYENGAR, V. G.; KIRKBRIGHT, G. F.;SCHOH, G.; NIINISTO, L.; PINEDA, O.; VIS, H. L.; HOFVANDER, Y.; OMOLOLU, A. **Minor and trace elements in human milk from Guatemala, Hungary, Nigeria, Philippines, Sweden, and Zaire**. Results from a WHO/IAEA joint project. International Atomic Energy Agency, Vienna, vol. 29, n. 1, p. 51-75, 1991.

PEDROSO E. R. P. Água e Eletrólitos In: **Ciências Nutricionais**. J. E. Dutra de Oliveira e J. Marchini. São Paulo: SARVIER, p. 131-167, 2008.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos**. Suporte para decisão Nutricional, 2001, Brasília, ANVISA, UNB, 133p.

PICCIANO, M. F. **Nutrient composition of human milk**. Pediatric Clinics of North America, v. 48, n.1, p.53-67, 2001.

RODRIGUEZ E. M. R, ALAEJOS M. S., ROMERO C. D. Concentraciones de calcio, magnesio, sodio y potasio en leche materna y fórmulas de inicio. **Arquivos Latinoamericanos de Nutrição** 2002; 52: 406-412.

REA, M. F. **A amamentação e o uso do leite humano: o que recomenda a Academia Americana de Pediatria**. Jornal de Pediatria Rio de Janeiro, v. 74, p. 171-172, 1998.

REA, M. F. **Reflexões sobre a amamentação no Brasil: de como passamos a 10 meses de duração**. Cadernos de Saúde Pública, v. 19, p. 109-118, 2003.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e Nutrição**. Fator de Saúde e Desenvolvimento. São Paulo, ed. UNICAMP, 1987, 387p.

SANT'ANA, L. S. Biodisponibilidade dos Lipídios, In: **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Silvia M. Franciscato Cozzolino, Barueri, São Paulo: Manole, p.152-173, 2005.

SILVA, A. G. H. e COZZOLINO, S. M. F. Cálcio, In: **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Silvia M. Franciscato Cozzolino, Barueri, São Paulo: Manole, p. 421-446, 2005.

SILVA D. G.; SÁ, C. M. M. N.; PRIORE, S. E.; FRANCESCHINI C. C.; DEVINCENZI, M. U. Iron in human milk: content e bioavailability. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição = Journal Brazilian Society Food Nutritional**, São Paulo, SP, v.23, p. 93-107, junho 2002.

SILVA, R. C.; ESCOBEDO, J. P.; GIOIELLI, 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**, vol XY N. 00, 2007.

SILVESTRE, M. D.; LAGARDA, M. J.; FARRÉ, R.; MARTÍNEZ-COSTA, C.; BRINES, J. Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion, **Food Chemistry**, n. 68, p. 95-99, 2000.

SUZUKI, K. T.; TAMAGAWA, H.; HIRANO, S.; KOBAYASHI, E.; TAKAHASHI, K.; SHIMOJO, N. Changes in element concentration and distribution in breast-milk fractions of a healthy lactating mother. *Publmed*, vol.28, n. 2, p. 109-121, fevereiro 1991. **Resumo**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 14 de novembro de 2006.

TIRAPGUI J.; CASTRO I. A.; ROSSI L. Biodisponibilidade de Proteínas. **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Silvia M. Franciscato Cozzolino, Barueri, São Paulo: Manole, p. 67-123, 2005.

TORRES M. A.; SATO K.; QUEIROZ S. S. Anemia em crianças menores de 2 anos atendidas nas Unidades Básicas de Saúde no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 28, n. 4, p. 290-294, agosto 1994.

Trugo N. M. F.; Donangelo C. M.; Koury J. C.; Silva M. I. B.; Freitas L. A. Concentration and distribution pattern of selected micronutrients in preterm and term milk from urban Brazilian mothers during early lactation. *Publmed*, vol. 42, n. 6, p. 497-507, junho 1998. **Resumo**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 14 de novembro de 2006.

VASCONCELOS, M. G. L. de; LIRA, P. I. C.; LIMA, M. C. Duração e fatores associados ao aleitamento materno em crianças menores de 24 meses de idade no estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. vol.6 no.1 Recife Jan./Mar. 2006. Disponível em <<http://www.scielo.br>> Acesso em 30 de novembro de 2007.

VENANCIO S. I., MONTEIRO C. A. Tendência da prática da amamentação no Brasil nas décadas de 70 e 80. **Revista Brasileira de Epidemiologia** n.1, p. 40-49, 1998.

VIEIRA, G. O.; SILVA, L. R.; VIEIRA, T. O. Alimentação infantil e morbidade por diarreia. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, vol. 79, n. 5, Porto Alegre set./ out. 2003.

WHO. **Complementary feeding of children in development countries: a review of current scientific knowledge**, Genebra: World Health Organization, 1998.

WHO. **The optimal duration of exclusive breastfeeding: a systematic review**, World Health Organization, 2002, 47p.

WHO. **Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic review and meta-analyses**, Genebra: World Health Organization, 2007, 52p.

YAMAWAKI, N.; YAMADA, M.; KAN-NO, T.; KOJIMA, T.; KANEKO, T.; YONEKUBO, A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, vol. 9, n. 2-3, p. 171-181, dezembro 2005.

7. ANEXOS

