

# Composição do Leite de Mulher, do Leite de Vaca e das Fórmulas de Alimentação Infantil

ISABEL M. P. L. V. O. FERREIRA

REQUIMTE/Serviço de Bromatologia – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto

## Resumo

O leite de mulher tem sido usado como guia na elaboração de fórmulas para alimentação infantil. Neste artigo é feito um resumo sobre a avaliação da composição do leite de mulher e a composição do leite de vaca no que respeita aos constituintes maioritários (proteína, gordura, hidratos de carbono e cinzas) e constituintes minoritários da fracção azotada não proteica (taurina e outros aminoácidos livres, nucleótidos, ácido orótico e ácido úrico e L-carnitina). Assim como, das modificações que a indústria realiza para tornar a composição das fórmulas para lactentes e das fórmulas de transição mais próxima da composição do leite de mulher.

Após análise estatística dos resultados verificou-se que no que respeita ao teor total de constituintes maioritários a indústria consegue aproximar a composição das fórmulas para lactentes da composição do leite de mulher, embora o teor em proteínas e cinzas seja ligeiramente mais elevado. E as fórmulas de transição têm uma composição intermédia entre o leite de vaca e o leite de mulher, mas mais próxima do leite de mulher.

No que respeita aos constituintes minoritários da fracção azotada não proteica, as modificações introduzidas pela indústria ainda não permitiram que a composição das fórmulas de alimentação infantil fosse semelhante à composição do leite de mulher, somente para o teor de taurina e ácido úrico se verificaram semelhanças. Algumas fórmulas eram também suplementadas em nucleótidos.

**Palavras-Chave:** leite, fórmulas de alimentação infantil, fracção azotada não proteica.

## Summary

### Composition of Human Milk, Cow's Milk and Infant Formulas

The composition of human milk has been used as a model for the design of infant formulas. This article deals about composition of human milk and composition of cow's milk concerning major components (protein, fat, carbohydrates and ash) and minor components from non nitrogen fraction (taurine and other free amino acids,

nucleotides, orotic acid, uric acid and L-carnitine). Changes carried out by the industry to bring composition of infant formula closer to that of human milk are also described.

Statistical analysis of results showed that concerning major components we verified that the industry adapted infant formula composition to be similar to that of human milk, only protein and ash content are slightly lower. The composition of follow-up milks is not so close to that of human milk.

Concerning minor components from non nitrogen fraction the changes made by the industry were not enough to obtain a composition similar to that of human milk, only taurine and uric acid presented similar content. In some cases supplementation in nucleotids was also performed.

**Key-Words:** milk, infant and child formulas, non-protein nitrogen fraction.

## 1-Introdução

A alimentação correcta no primeiro ano de vida tem grande importância para o desenvolvimento da criança, dela vai depender em grande parte o seu futuro. O leite materno é o tipo de alimentação mais adequado para o recém-nascido e lactente normal (nomeadamente sem doenças do foro metabólico)<sup>1,2</sup>. No que respeita às vantagens nutricionais estas explicam-se pela adaptação do leite materno à relativa insuficiência digestiva do recém-nascido, à sua protecção face a uma excessiva permeabilidade intestinal a macromoléculas e ainda pela sua adaptação em presença de uma imaturidade renal transitória. O leite materno está adaptado à evolução das necessidades do lactente (colostró, leite de transição e leite maduro) permitindo um crescimento mais lento e harmonioso.

As vantagens biológicas estão relacionadas com os factores de defesa anti-infecciosos veiculados pelo leite humano. Destes há a destacar os oligossacarídeos nitrogenados que favorecem a flora bifidógena (responsável pela acidez das fezes do lactente amamentado ao seio) e que competem eficazmente com o desenvolvimento das enterobactérias patogénicas; os factores anti-infecciosos inespecíficos, tais como macrófagos, lizozima e lactoferrina e os factores anti-infecciosos específicos como os linfócitos B e T e as imunoglobulinas Ig secretórias.

O leite materno é um alimento vivo com todo o equipamento imunológico e enzimático intacto. Pelo contrário os

Correspondência: REQUIMTE/Serviço de Bromatologia  
Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto  
R. Aníbal Cunha 164  
4050-047 Porto  
email: isabel.ferreira@ff.up.

leite artificiais partem do leite de vaca e sofrem vários manuseamentos nomeadamente o tratamento pelo calor que o converte num produto morto.

No entanto, as fórmulas lácteas de alimentação infantil, divididas em fórmulas para lactentes (desde o nascimento até aos 4 a 6 meses) e fórmulas de transição (a partir dos 4 a 6 meses até aos 12 meses) têm um papel importante quando a alimentação ao seio materno não é possível. Estas recomendam-se em algumas situações, tanto por razões afectas à mãe como ao lactente, nomeadamente infecção materna por agentes transmitidos no leite, exposição materna a fármacos ou agentes ambientais, recusa ou impossibilidade em amamentar. E frequentemente, quando o lactente apresenta aumento ponderal inadequado.

A composição do leite de mulher vem sendo usada desde há algumas décadas como modelo para a preparação de fórmulas de alimentação infantil destinadas a lactentes saudáveis<sup>3</sup>. No entanto, convém realçar que embora a composição do leite de mulher seja um guia importante para a composição das fórmulas suas substitutas, a similaridade não é por si só um indicador de segurança nutricional para os lactentes, porque, nas fórmulas, os nutrientes são usados de uma forma diferente, não apresentando a mesma biodisponibilidade. Por isso, devem ser usados indicadores de referência, tais como, o crescimento ponderal, bem como marcadores biológicos, proteicos e lipídicos entre outros, relativamente a lactentes saudáveis exclusivamente alimentados com leite materno (4-6 meses)<sup>4,5</sup>. No entanto, não existe, ainda, um critério inequívoco para testar a adequação das modificações que vão sendo realizadas nas fórmulas industrializadas. A nível internacional alguns grupos de trabalho estão a tentar definir regras sobre a natureza das avaliações clínicas necessárias para a introdução de inovações na composição das fórmulas de alimentação infantil e de outros produtos dietéticos<sup>4,6</sup>.

No que respeita aos constituintes maioritários, a indústria vem praticando desde os anos 60, modificações na composição do leite de vaca para tornar a composição das fórmulas para lactentes mais próxima da do leite de mulher, estas consistem na redução do teor proteico obtida principalmente à custa da diminuição da caseína; substituição da gordura para alterar a relação ácidos gordos saturados/insaturados; adição de lactose, redução do teor de sais minerais; suplementação vitamínica; suplementação de certos oligoelementos, como por exemplo o ferro.

Verificou-se no entanto, que, apesar dos aperfeiçoamentos tecnológicos e adaptações quantitativas no que respeita à composição em macronutrientes, assim como suplementação em vitaminas, os lactentes alimentados com leite materno tinham um comportamento diferente no seu desenvolvimento e na resistência que eram capazes de oferecer às agressões do meio que os rodeava. Os especialistas foram constatando profundas diferenças nos constitu-

intes minoritários do leite, constituindo essas diferenças características de cada espécie, fundamentais no seu comportamento futuro. As décadas de 80 e 90 foram decisivas em termos de investigação nesta área.

Diversas organizações internacionais preocuparam-se com as características mínimas a exigir às fórmulas para lactentes baseadas em leite de vaca<sup>7,9</sup>. Na União Europeia o Comité Científico de Alimentação Humana emitiu pareceres nesta área<sup>10</sup>, à medida que surgiam novos estudos o Comité emitiu adendas a este parecer<sup>11,12</sup>. Em conformidade com esses documentos a Comissão das comunidades Europeias adoptou a Directiva 91/321/CEE de 14 de Maio<sup>13</sup> que estabelecia limites para alguns compostos minoritários como L-carnitina, vitaminas e oligoelementos, ferro, zinco, cobre e iodo. Posteriormente esta directiva foi alterada pela Directiva 96/4/CEE de 16 de Fevereiro<sup>14</sup> em que foram feitas correcções nos teores de proteína, na composição da gordura e estabelecidos limites para alguns constituintes minoritários que não estavam contemplados anteriormente, como níveis mínimos de taurina, níveis máximo de selénio e foi recomendada a suplementação em nucleótidos. O Decreto Lei nº 220/99 de 16 de Junho<sup>15</sup> transpôs para o direito interno, as Directivas nº 96/4/CE e 91/321/CEE e estabelece o regime jurídico aplicável às fórmulas para lactentes e às fórmulas de transição destinadas a lactentes saudáveis.

No entanto, outros compostos minoritários estão presentes em quantidades diferentes no leite de vaca e no leite de mulher. De entre estes, é de realçar os que pertencem à fracção azotada não proteica, pois uma das principais diferenças entre o leite de vaca e o leite de mulher é a proporção de compostos da fracção azotada não proteica ser muito superior neste último. O que conduziu a estimativas excessivas do teor proteico quando este era determinado com base no teor de azoto total. Nesta fracção, é de destacar não só a taurina, como também a carnitina, os nucleótidos, o ácido orótico, ácido úrico e aminoácidos livres.

Neste artigo é feita uma comparação entre a composição do leite de mulher, do leite de vaca, das fórmulas para lactentes e fórmulas de transição no que respeita aos constituintes maioritários (proteína, gordura, glúcidos, cinzas e valor calórico total) e constituintes minoritários da fracção azotada não proteica (taurina e outros aminoácidos livres, nucleótidos, ácido úrico, ácido orótico e L-carnitina), para melhor compreendermos as modificações que a indústria realiza na composição das fórmulas, para que os lactentes alimentados com estas tenham crescimento e parâmetros bioquímicos semelhantes aos dos lactentes exclusivamente alimentados com leite de mulher.

## 2 – Materiais e Métodos

### 2.1. Amostragem

Neste trabalho foram analisadas 30 amostras:

– vinte amostras de preparados lácteos de alimentação infantil obtidos aleatoriamente no mercado nacional, e que incluíam 14 de 1ª fase, (numerados de 1 a 14) e 6 de 2ª fase (numerados de 15 a 20).

– cinco amostras de leite de vaca crú com cerca de 2 meses de lactação, obtidas directamente do produtor (numerados de 21 a 25).

– cinco amostras de leite humano maduro, com mais de um mês de lactação, colhidas por expressão manual, pelas próprias mães, no final das mamadas (numerados de 26 a 30).

As amostras de leite de vaca e de leite humano foram guardadas em embalagens de polipropileno, transportadas refrigeradas e conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  no laboratório até serem analisadas.

## **2.2. Avaliação da composição em gordura, cinzas, humidade, proteínas e hidratos de carbono totais utilizando as Normas Portuguesas (NPs). Valor Calórico total.**

No sentido de se determinar a composição centesimal das amostras dos preparados lácteos de alimentação infantil em estudo, procedeu-se à avaliação dos constituintes maioritários: gordura (NP-469, 1983)<sup>16</sup>, cinzas (NP-477, 1983)<sup>17</sup>, humidade (NP-1088, 1975)<sup>18</sup>, proteínas (NP-1986, 1991)<sup>19</sup>, segundo metodologias descritas nas Normas Portuguesas. A determinação do teor em hidratos de carbono totais efectuou-se segundo a NP-704 (1984)<sup>20</sup>, pela técnica de Munson e Walker, após hidrólise ácida a quente.

O valor calórico total (V.C.T.) foi determinado utilizando os factores de conversão de Atwater: 9 kcal/g de gordura, 4 kcal/g de proteína e 4 kcal/g de hidratos de carbono.

## **2.3. Análises cromatográficas**

### **2.3.1. Equipamento**

As análises cromatográficas efectuaram-se num cromatógrafo Jasco equipado com duas bombas tipo PU-980 e um injector automático tipo AS-950. Foi utilizado um detector de “light scattering” na análise dos açúcares e um detector de díodos Jasco MD-910 nas restantes determinações. A aquisição dos dados foi realizada num sistema de Software Borwin PDA.

Para desgazeificar as soluções usou-se um banho de ultra-sons Bandelin-Sonorex RK 100.

### **2.3.2. Preparação da amostra**

Após homogeneização, 5,0 g de preparado de alimentação infantil em pó foram dissolvidos em 40 ml de água morna ( $40^{\circ}\text{C}$ ). 5,0 ml de solução de fórmula de alimentação infantil, leite de vaca ou leite materno, foram adicionados a 5,0 ml de ácido sulfosalicílico 0,2 M, agitados durante 2

minutos e deixados em repouso 10 minutos. Todas as amostras foram filtradas através de papel W42 e posteriormente através de filtros 0,2  $\mu\text{m}$

### **2.3.3. Composição em hidratos de carbono**

Efectuou-se a análise da composição em hidratos de carbono por HPLC com detector de “light scattering”. A separação cromatográfica foi obtida numa coluna Spherisorb NH2, 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4,6 mm d.i. A fase móvel foi acetoni-trilo/água (84:16). Efectuou-se eluição isocrática a um fluxo de 1,0 ml/min à temperatura ambiente.

### **2.3.4. Composição em taurina e aminoácidos livres**

Os aminoácidos livres incluindo a taurina foram derivatizados no injector automático com OPA e 2-mercaptoetanol (40mg OPA, 0,8 ml de etanol, 40  $\mu\text{l}$  de 2-mercaptoetanol) em tampão borato 0,5 M (10 ml, 3,1 g de ácido bórico em 90 ml de água, ajustados a pH 10,4 com NaOH 5N e completando o volume a 100 ml).

Efectuou-se a separação cromatográfica numa coluna C18 utilizando como eluente tampão fosfato 0,05 M, pH 5,3 (A) / metanol (B). A eluição realizou-se a um fluxo de 0,8 ml/min com um gradiente linear de 60% de B a 40% de B em 20 minutos, mantendo estas condições durante 8 minutos e retornando às condições iniciais em 2 minutos. A detecção efectuou-se com o detector de díodos a 350 nm.

### **2.3.5. Nucleótidos**

Efectuou-se a separação dos nucleótidos numa coluna C18 utilizando uma mistura de 2 solventes. Solvente A, que consistia em água/ácido acético glacial/hidrogeno-sulfato de tetrabutylamónio (TBAHS) numa proporção de 97,5:1,5:1,0 (v/v/v) e o solvente B, que consistia em metanol / ácido acético glacial/5 mM TBAHS) numa proporção de 97,5:1,5:1,0 (v/v/v). O fluxo foi de 1,0 ml/min.

### **2.3.6. Determinação de L-carnitina livre e total**

A preparação das amostras para efectuar a determinação da L-carnitina livre, envolveu reconstituição dos preparados de alimentação infantil, precipitação das proteínas com ácido perclórico 1,0 M, filtração e neutralização a pH 7,0 com KOH. O extracto neutralizado foi submetido a oxidação com peróxido de hidrogénio para remover vestígios de grupos tiol e o peróxido residual foi removido com catalase (Indyk e Woollard, 1995). Os extractos podiam ser mantidos durante a noite a  $4^{\circ}\text{C}$  antes de efectuar a análise espectrofotométrica, na presença de acetil coenzima A (Acetil-CoA) e 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoato (DTNB)<sup>21</sup>, que envolvia as seguintes reacções:



A L-carnitina total foi determinada após hidrólise alcalina a quente <sup>21</sup>.

#### 2.4. Análise estatística

O programa SPSS (versão 11.5) foi usado na análise estatística dos resultados, para comparar a composição do leite de vaca com a composição do leite de mulher, das fórmulas para lactentes e das fórmulas de transição, na elaboração dos diagramas de caixas e bigodes e análise de componentes principais que permitiram encontrar semelhanças e diferenças entre os diferentes tipos de leite.

### 3 – Resultados e Discussão

#### 3.1. Constituintes Maioritários

##### 3.1.1. – Proteínas

As proteínas do leite podem ser divididas em caseínas e proteínas do soro. As caseínas são constituídas por quatro fracções denominadas,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ . As proteínas do soro incluem  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e em menor quantidade as proteases-peptonas, imunoglobulinas, albumina sérica bovina, lactoferina, entre outras.

O leite de vaca contém todas as proteínas referidas anteriormente, sendo a  $\alpha$  caseína a mais abundante. O leite de mulher não contém  $\beta$ -lactoglobulina e a proteína predominante é a  $\beta$  caseína <sup>22-24</sup>.

Ao compararmos o teor proteico total do leite de vaca e do leite de mulher verificamos que existem diferenças significativas no que respeita à quantidade de proteínas total e de caseína (Fig.1). As fórmulas para lactentes analisadas apresentaram um teor em proteínas totais ligeiramente mais elevado que o leite de mulher e um teor em caseína semelhante ao do leite materno. As fórmulas de transição apresentaram um teor proteico mais elevado que as fórmulas para lactentes. Verificou-se remoção de parte das proteínas, principalmente caseína e ajuste na proporção de caseínas e proteínas do soro. No entanto, do ponto de vista qualitativo, a composição em proteínas das fórmulas continuou a ser diferente da composição do leite de mulher, pois estas contêm predominantemente  $\alpha$ -caseína,  $\beta$ -lactoglobulina e menor teor de  $\alpha$ -lactalbumina, havendo por isso um limite para a redução do seu teor proteico, que tem que ser ligeiramente mais elevado que no leite de mulher, por forma a satisfazer todas as necessidades do lactente em aminoácidos essenciais <sup>24</sup>.

No que respeita à legislação <sup>14,15</sup> os resultados obtidos estão dentro dos limites impostos, que são mais baixos para

as fórmulas para lactentes (1,8 a 3,0 g/100 kcal) e mais elevados para as fórmulas de transição (2,25 a 4,5 g/100 kcal).

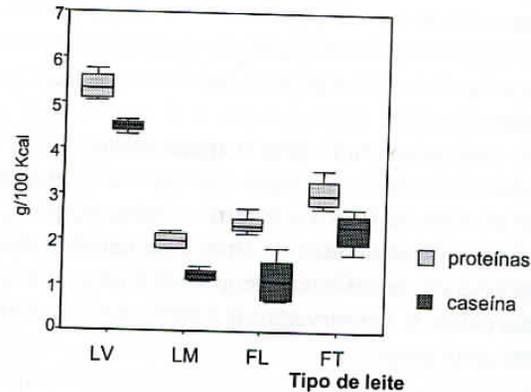


Figura 1 – Comparação entre o teor proteico do leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

##### 3.1.2 – Gordura

No que respeita à composição em gordura, do ponto de vista quantitativo, foi semelhante o teor em gordura no leite de vaca e no leite de mulher, o mesmo se verificando nas fórmulas para lactentes e nas fórmulas de transição (Fig.2). Os resultados obtidos estão dentro dos limites impostos na legislação (4,4 a 6,5 g/100 kcal tanto nas fórmulas para lactentes como nas fórmulas de transição) <sup>14,15</sup>.

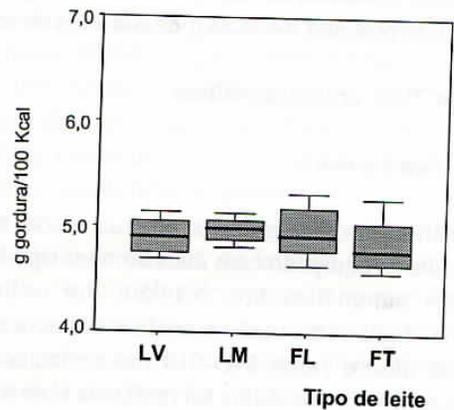


Figura 2 – Comparação entre o teor lipídico do leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

No entanto, do ponto de vista do perfil lipídico verificam-se diferenças entre a composição do leite de vaca e a composição do leite de mulher, principalmente ao nível dos ácidos gordos saturados de cadeia curta e de cadeia longa (mais abundantes no leite de vaca) e também nos ácidos gordos monoinsaturados e no ácido linoleico (mais abun-

dantes no leite de mulher). Nas fórmulas para lactentes a gordura do leite de vaca é substituída por gordura de origem vegetal, para obter um perfil lipídico semelhante ao do leite de mulher<sup>24</sup>.

### 3.1.3. – Hidratos de carbono

A análise cromatográfica revelou que a lactose era o hidrato de carbono presente nas fórmulas de alimentação infantil analisadas. No que respeita ao teor deste composto verificaram-se diferenças significativas entre a composição do leite de vaca e do leite de mulher. Como se pode observar a indústria efectua adição de lactose para níveis semelhantes aos encontrados no leite de mulher (Fig. 3). As fórmulas de transição apresentaram maior dispersão dos resultados. Os valores encontrados estão dentro dos limites impostos na legislação (entre 7,0 e 14,0 g/100 kcal)<sup>14,15</sup>.

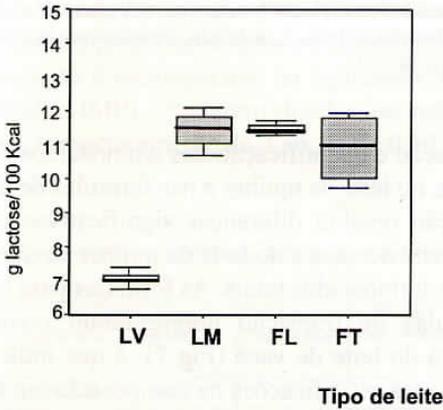


Figura 3 – Comparação entre o teor de lactose do leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

### 3.1.4 – Cinzas

O teor em sais minerais é muito diferente no leite de vaca e no leite de mulher, resultando um teor em cinzas diferente. As fórmulas para lactentes e as fórmulas de transição apresentam um conteúdo em cinzas mais baixo do que leite de vaca, mas não tão baixo como o leite de mulher (Fig. 4).

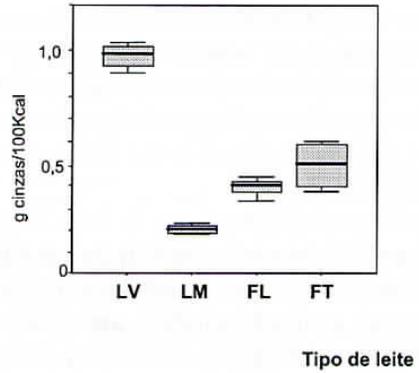


Figura 4 – Comparação entre o teor de cinzas do leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

Atwater) porque estas foram efectuadas nas mesmas amostras.

Efectuou-se uma análise de componentes principais, com o objectivo de simplificar os resultados, tornando-os mais facilmente interpretáveis, sem que tal acarretasse perda importante de informação. Foi possível agrupar amostras semelhantes e a identificar amostras com características diferentes. Reduzindo um conjunto de dados grande e complexo a um conjunto de interpretação mais simples, evidenciando as informações mais relevantes em novas variáveis, permitindo apresentar um resolução gráfica simples (Fig. 5).

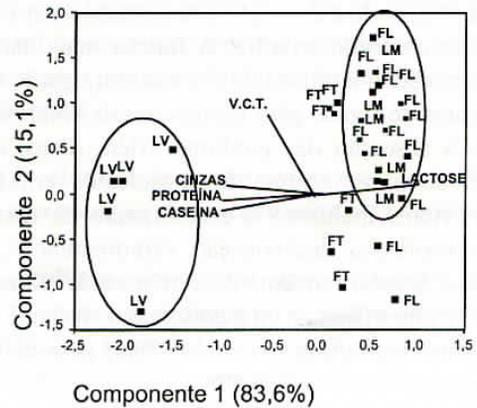


Figura 5 – Análise de componentes principais dos constituintes maioritários. No mesmo gráfico apresenta-se o peso das variáveis em estudo e a distribuição das amostras de leite de vaca (LV), leite de mulher (LM), fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

### 3.1.5 – Análise de componentes principais dos constituintes maioritários

Os resultados anteriores foram analisados variável a variável. No entanto, foi possível analisar na globalidade os resultados que diziam respeito às determinações do teor de proteína total, caseína, lactose, cinzas, e valor calórico total (V.C.T. determinado utilizando os factores de

Neste gráfico podemos observar que a separação entre as amostras é fundamentalmente devida à componente 1, que justifica 83,6% da variância dos resultados. As variáveis lactose, cinzas, proteínas e caseína são fundamentalmente justificadas nesta componente. A lactose aumenta o seu teor para o lado direito do gráfico e as restantes, com

peso negativo, aumentam o seu teor para o lado esquerdo do gráfico. A componente 2 só justifica 15% da variância dos resultados e está relacionada com o valor calórico total. Como é lógico pequenas oscilações do teor de constituintes que fornecem energia traduzem-se em diferenças no valor calórico total.

É possível agrupar as amostras de leite de vaca analisadas, estas caracterizam-se, como era de esperar, por um teor mais elevado em proteínas, incluindo a caseína e em cinzas juntamente com um conteúdo mais baixo em lactose. Também é possível agrupar as amostras de leite de mulher, que apresentam teores mais baixos de cinzas, proteínas, caseína e concentrações mais elevadas de lactose. No geral as fórmulas para lactentes apresentaram uma composição semelhante, excepto duas que apresentaram um valor calórico total ligeiramente mais baixo. As fórmulas de transição têm uma composição intermédia entre o leite de vaca e o leite de mulher, mas mais próxima do leite de mulher.

No que respeita ao teor total de constituintes maioritários a indústria de fórmulas lácteas de alimentação infantil consegue aproximar a composição destes preparados da composição do leite de mulher.

### 3.2. – Constituintes minoritários da fracção azotada não proteica

#### 3.2.1 – Taurina e outros aminoácidos livres

A taurina, ácido 2-aminoetanosulfónico é um  $\beta$ -aminoácido contendo enxofre. A função mais antiga conhecida para este  $\beta$ -aminoácido é a sua conjugação com os ácidos biliares do fígado para formar os sais biliares, essenciais para a absorção das gorduras. Além disso, existem evidências do papel central desta molécula em funções biológicas vitais, incluindo a estabilização da membrana celular, antioxidação, destoxicação, osmoregulação, neuro-modulação e desenvolvimento do cérebro e da retina, sendo de particular importância para o crescimento infantil. Muitas destas funções biológicas são evidenciadas pela deficiência de taurina.

Existem consideráveis evidências de que os recém-nascidos e as crianças têm uma capacidade limitada para sintetizar taurina e são excepcionalmente propensos a desenvolver deficiência em taurina, pois estão dependentes da ingestão exógena. A depleção de taurina pode não ter consequências imediatas mas a longo prazo causar problemas.

O conteúdo em taurina do leite de vaca é significativamente mais baixo que o do leite de mulher (Fig 6). Todas as fórmulas para lactentes disponíveis no mercado são suplementadas em taurina e contêm teores superiores ao limite mínimo estabelecido na legislação que

é de 42  $\mu\text{mol}/100\text{kcal}$ . Algumas fórmulas de transição são suplementadas em taurina, mas a maior parte não (Fig 6).

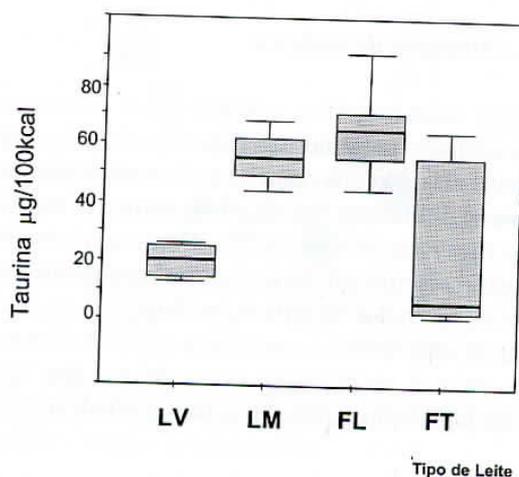


Figura 6 - Conteúdo de taurina em leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

A separação e quantificação dos aminoácidos livres no leite de vaca, no leite de mulher e nas fórmulas de lactentes e de transição revelou diferenças significativas na composição do leite de vaca e do leite de mulher no que respeita ao teor de aminoácidos totais. As fórmulas para lactentes e as fórmulas de transição apresentaram composição semelhante à do leite de vaca (Fig 7), o que indica que a indústria não faz modificações na composição em aminoácidos livres para a tornar semelhante à composição do leite de mulher.

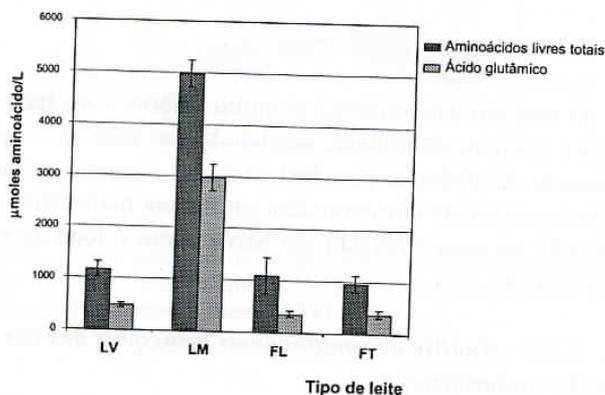


Figura 7 – Conteúdo em aminoácidos livres totais e ácido glutâmico em leite de vaca (LV), leite de mulher (LM) e fórmulas de alimentação infantil, incluindo, fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

Embora presente em quantidades diferentes o aminoácido livre mais abundante no leite de vaca, no leite de mu-

lher e nas fórmulas de alimentação infantil foi o ácido glutâmico, constituindo aproximadamente 50% do total de aminoácidos livres (Fig. 7). Este é um aminoácido não essencial, encontrado em elevada concentração no cérebro, onde desempenha importantes funções.

### 3.2.2 – Nucleótidos

Os nucleótidos servem não somente para a construção dos ácidos nucleicos, mas também estão implicados noutras funções celulares, tais como na transferência de energia ou como moduladores da actividade enzimática. Têm também importantes funções no plano imunitário estimulando a proliferação de células T, favorecendo a fagocitose, a absorção de ferro e contribuindo para a maturação intestinal<sup>25, 26</sup>.

O leite de vaca apresenta um perfil de nucleótidos diferente do leite de mulher, este é mais rico em nucleótidos (Tabela 1). Somente em cinco fórmulas de alimentação infantil, incluindo 3 fórmulas para lactentes e duas fórmulas de transição foram detectados os cinco nucleótidos cuja suplementação é recomendada na legislação (CMP, UMP, GMP, AMP e IMP)<sup>14,15</sup>, dentro dos limites máximos estabelecidos, respectivamente de 2,50; 1,75; 0,50; 1,50 e 1,00 mg/100 kcal.

Tabela 1 – Conteúdo em nucleótidos do leite de vaca e do leite de mulher.

Amostras	CMP mg/100 Kcal	UMP mg/100 Kcal	GMP mg/100 Kcal	AMP mg/100 Kcal	IMP mg/100 Kcal
Leite vaca	1,58±0,08	vestígios	N.D.	N.D.	N.D.
Leite humano	2,67±0,06	1,57±0,04	0,52±0,02	1,4±0,03	0,96±0,03

### 3.2.3 – Ácido orótico e ácido úrico

O ácido orótico é um sub-produto do catabolismo da pirimidina (ou um metabolito da sua síntese). Ao contrário do leite de mulher, o leite de vaca contém teores consideráveis deste composto, provavelmente devido à sua importância para o desenvolvimento do vitelo.

O ácido úrico é um metabolito final do catabolismo dos nucleótidos com purinas. É excretado fundamentalmente no rim na forma de urato. Também aparece no leite em diferentes quantidades dependendo da espécie. Quantidades muito elevadas podem causar sobrecarga renal para o lactente.

Os resultados obtidos na análise de ácido orótico e úrico em leite de vaca, leite de mulher e fórmulas de alimentação infantil mostraram que não havia diferenças significativas entre as concentrações de ácido orótico encontradas nos preparados industrializados e as encontradas no

leite de vaca (Fig.8a). No que respeita ao ácido úrico, não se verificaram diferenças entre os teores encontrados no leite de vaca e nas fórmulas para lactentes (Fig.8b).

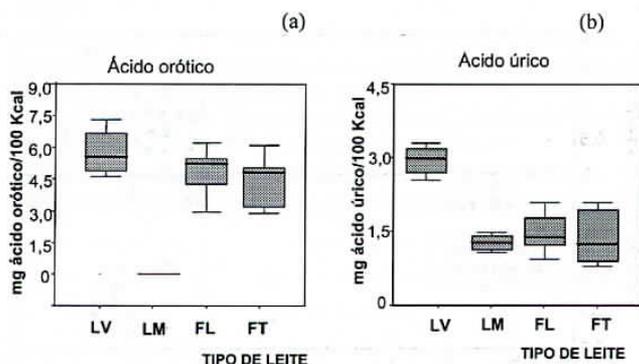


Figura 8 – Conteúdo de ácidos orótico (a) e úrico (b) em leite de vaca, leite de mulher e fórmulas de alimentação infantil.

### 3.2.4 – L-carnitina

A beta-oxidação dos ácidos gordos a nível mitocondrial requer o cofactor carnitina. Além desta, outras duas importantes funções da carnitina foram identificadas e universalmente aceites: a sua intervenção nos mecanismos reguladores de cetogénese e de termogénese química ao nível do tecido adiposo castanho.

As concentrações em L-carnitina livre e total nos preparados de alimentação infantil foram superiores às encontradas no leite de mulher, e cerca de metade das encontradas no leite de vaca. No entanto, está descrito na literatura que embora as fórmulas de alimentação infantil contenham níveis superiores de L-carnitina, a biodisponibilidade nestes produtos é inferior quando comparada com o leite humano<sup>21</sup>.

### 3.2.5 – Análise de componentes principais dos constituintes minoritários da fracção azotada não proteica

Os resultados obtidos no estudo dos constituintes da fracção azotada não proteica de amostras de leite de vaca, leite de mulher, fórmulas para lactentes e fórmulas de transição foram resumidos numa análise de componentes principais, o gráfico obtido condensa 84% da variância dos resultados (Fig. 9). Não se verificaram diferenças entre as fórmulas para lactentes e as fórmulas de transição. No que respeita ao peso das variáveis em estudo nas componentes 1 e 2, estes foram marcados nas margens do gráfico. Os nucleótidos têm um peso negativo, aumentam para o lado esquerdo do gráfico, o mesmo acontece com o ácido glutâmico. A L-carnitina livre e total e o ácido orótico aumentam para o lado direito do gráfico. O ácido úrico e a taurina são responsáveis pela separação na componente 2. A taurina aumenta em sentido positivo e o ácido úrico em sentido negativo. No que respeita à fracção azotada não

proteica o leite de mulher ainda apresenta uma composição diferente da composição das fórmulas para lactentes e das fórmulas de transição.

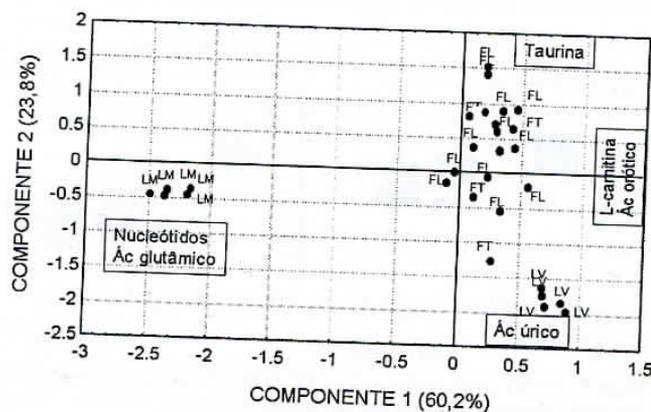


Figura 9 – Análise de componentes principais dos constituintes da fracção azotada não proteica. Nas margens apresenta-se o peso das variáveis em estudo e a distribuição das amostras de leite de vaca (LV), leite de mulher (LM), fórmulas para lactentes (FL) e fórmulas de transição (FT).

#### 4 – Conclusões e Perspectivas Futuras

No que respeita ao teor total de constituintes maioritários das fórmulas para lactentes, a indústria consegue aproximar a composição destes preparados da composição do leite de mulher, embora o teor em proteínas e cinzas seja ligeiramente mais elevado. Verificou-se que as fórmulas de transição têm uma composição intermédia entre o leite de vaca e o leite de mulher, mas mais próxima do leite de mulher.

No que respeita aos constituintes minoritários da fracção azotada não proteica, as modificações introduzidas pela indústria ainda não permitiram que a composição das fórmulas de alimentação infantil fosse semelhante à composição do leite de mulher, o que só se verificou para o teor em taurina e em ácido úrico.

No futuro a investigação para melhorar a qualidade das fórmulas de alimentação infantil esta está direccionada essencialmente para os compostos bioactivos presentes no leite de mulher. Tudo aponta que os investigadores vão continuar a identificar e explicar o papel de diferentes substâncias do leite de mulher e concentrar esforços nas substâncias que apresentam uma função fisiológica comprovada. No entanto, convém realçar que este objectivo já não significa imitar a composição exacta do leite de mulher, mas sim, como foi referido atrás, atingir os efeitos funcionais observados nos lactentes alimentados com leite materno.

Continuar a aproximar a composição em proteínas das fórmulas, para obter um perfil de aminoácidos semelhante ao do leite de mulher, estudar os efeitos a longo prazo dos oligossacarídeos, avaliar os efeitos de combinações específicas de pré e probióticos, confirmar os efeitos dos nucleótidos no sistema imunitário e encontrar compostos que

actuem como receptores análogos para os microrganismos patogénicos são algumas áreas que continuam a ser objecto de diversos estudos para o século XXI<sup>27</sup>.

#### Referências

1. Work Group on breastfeeding. American Academy of Pediatrics: Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 1997; 100 (6): 1035-9.
2. Kovar, MG, Serdula, MK, Marks JS: Review of the epidemiologic evidence for an association between infant feeding and infant health. *Pediatrics* 1984; 74: S615-S638.
3. Goedhart AC, Bindels JG: The composition of human milk as a model to the design of infant formulas: recent findings and possible applications. *Nutr Resear Rev* 1994; 7: 1-23.
4. Aggett PJ, Agostini C, Goulet O: The nutritional and safety assessment of breast milk substitutes and other dietary products for infants: A commentary by ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 256-8.
5. Rego C, Ribeiro L, Guerra A: Leites e fórmulas infantis: Uma visão actualizada da realidade em Portugal. *Acta Paediatr Port* 2002; 33(4): 257-74.
6. Aggett P, Agostini C, Axelsson I: Core data for nutrition trials in infants: a discussion document – a commentary by the espghan committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36 (3): 338-42.
7. ESPGAN Committee on Nutrition: Guidelines on Infant Nutrition II. Recommendations for the composition of follow-up formula and beikost. *Acta Paediatr Scand* 1981; 287, 1981.
8. ESPGAN Committee on Nutrition: Guidelines on Infant Nutrition III. Recommendations for infant feeding. *Acta Paediatr Scand* 1982; 302, 1-27, 1982.
9. ESPGAN Committee on Nutrition: Comment on the content and composition of lipids in infant formulae. *Acta Paediatr Scand* 1992; 80, 887-96, 1992.
10. Relatório SCF EUR (1983) Primeiro Relatório do Comité Científico da Alimentação Humana relativo às Características Mínimas a Exigir dos Preparados para Lactentes e dos Leites de Segunda Fase à base de Proteínas de leite de vaca. Ciências e técnicas da alimentação humana, Comissão das Comunidades Europeias, Luxemburgo: 14ª Série, EUR 8752.
11. Relatório SCF EUR (1991) Primeira Adenda aos Relatórios do Comité Científico da Alimentação Humana relativos às Características mínimas a exigir dos preparados para lactentes e dos leites de segunda fase com base em proteínas de leite de vaca e Características mínimas a exigir dos preparados para lactentes e dos leites de segunda fase com base em proteínas de soja. Ciências e técnicas da alimentação humana, Comissão das Comunidades Europeias, Luxemburgo: 24ª Série, EUR 13140.
12. Relatório SCF EUR (1993) Segunda Adenda aos Relatórios do Comité Científico da Alimentação Humana relativos às Características mínimas a exigir dos preparados para lactentes e dos leites de segunda fase com base em proteínas de leite de vaca e Características mínimas a exigir dos preparados para lactentes e dos leites de segunda fase com base em proteínas de soja. Ciências e técnicas da alimentação humana, Comissão das Comunidades Europeias, Luxemburgo: 28ª Série, EUR 14452.
13. Directiva nº91/321/CEE de 14 de Maio de 1991
14. Directiva 96/4/CE de 16 de Fevereiro
15. Decreto Lei nº220/99 de 16 de Junho
16. Norma Portuguesa NP-469 (1983). Leites. Determinação da matéria gorda. Técnica de Gerber.
17. Norma Portuguesa NP-477 (1983). Leites. Determinação da cinza total.
18. Norma Portuguesa NP-1088 (1975). Leite em pó. Determinação da humidade.

19. Norma Portuguesa NP-1986 (1991). Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl.
20. Norma Portuguesa NP-704 (1984). Iogurte. Determinação do teor de açúcares totais. Técnica de Munson e Walker.
21. Woollard DC, Indyk HE, Woollard GA: Enzymatic determination of carnitine in milk and infant formula. *Food Chem.* 1997; 59: 325-32.
22. Oliveira C, Ferreira IMPLVO, Mendes E, Casal S, Ferreira MA: Controlo de Qualidade dos preparados lácteos de alimentação infantil no que respeita aos constituintes maioritários e ao teor em nucleótidos. *Rev Port Farm* 1998; Vol. XLVIII, nº3: 125-30.
23. Ferreira IMPLVO, Mendes E, Marques J, Ferreira MA: Development, validation and application of an HPLC/UV method for quantification of casein in infant formulae and follow-up milks. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* 2000; 23(13): 2057-65.
24. De Innis SM: Lipids in infant nutrition. *J. Pediatr.* 1992; 120 (4): S56-61.
25. Ferreira IMPLVO: Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cows' and human milk. *Br J Nutr* 2003; 90: 127-33.
26. Carver JD: Advances in nutritional modifications of infant formula. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (6): 1550S-1554S.
27. Alles MA, Scholtens PAMJ, Bindels JG: Current trends in the composition of infant milk formulas. *Current Paediatr.* 2004; 14: 51-63.