

ANDRÉ GUSTAVO VASCONCELOS COSTA

**COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE HUMANO E
SUA CORRELAÇÃO COM VARIÁVEIS MATERNAS:
ESTUDO PROSPECTIVO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

ANDRÉ GUSTAVO VASCONCELOS COSTA

COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE HUMANO E SUA
CORRELAÇÃO COM VARIÁVEIS MATERNAS:
ESTUDO PROSPECTIVO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de julho de 2006.

Profª Maria do Carmo G. Peluzio
(Co-orientadora)

Profª Sylvia do Carmo C. Franceschini
(Co-orientadora)

Profª Neuza Maria Brunoro Costa

Profª Lina Enriqueta F. P. de Lima Rosado

Profª Céphora Maria Sabareense
(Orientadora)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pessoas iluminadas, alicerce da minha vida, que me ensinaram e me ensinam valores grandiosos e indispensáveis para minha formação pessoal e profissional.

Ao Ique e ao Nando, verdadeiramente irmãos, que me apoiaram e sempre me incentivam em ir mais além.

Vocês, meus pais e meus irmãos, que compreenderam minha ausência e festejaram minha presença, o meu eterno agradecimento, amor e admiração!

AGRADECIMENTOS

A toda minha família, em especial à Dé, Fernando, Livia, tia Lilice, Ane, Melissa, Fernanda, Rosão, José Ângelo, Marli; pelo constante incentivo, carinho e respeito. Também, à Maria Laura, Ana Beatriz e Lucas; por transmitirem tanta paz e alegria.

À Universidade Federal de Viçosa, instituição responsável pela minha formação, por sua excelência em ensino e pesquisa.

Ao Departamento de Nutrição e Saúde e seus funcionários, em especial à Mimo e Dona Terê, pela agradável convivência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, por proporcionar a realização de meu curso e deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento deste estudo.

À Agromídia, pela concessão do *software Diet Pro®*.

À Professora Céphora Maria Sabarense, pela orientação, pela incansável dedicação, por cada palavra de incentivo e pelos muitos votos de confiança. Foi um grande prazer ser seu primeiro orientado!

À Professora Maria do Carmo Gouveia Peluzio, pela alegria nos estudos científicos e pelo constante apoio nas tarefas laboratoriais.

À Professora Sylvia C. C. Franceschini, pela positiva e significativa ($p < 0,05$) contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela amizade e por me conduzir para o empolgante caminho da ciência (Costa & Costa).

À Professora Lina Enriqueta F. P. de Lima Rosado, por seu disernimento e valorosas sugestões para com este estudo.

À Professora Josefina Bressan, pelos seus inúmeros conselhos, pela sincera amizade e confiança e por cada momento nestes anos.

Ao Hospital São Sebastião, em especial à Helô, ao Centro de Saúde da Mulher e da Criança da Prefeitura Municipal de Viçosa e a toda a equipe do PROLAC, por contribuírem para o desenvolvimento deste trabalho.

Às mães, sem as quais não seria possível este estudo, e aos seus filhos Alicia Ana Júlia, Ana Luísa, Ana Luíza, Beatriz, Camilly, Daniela, Davi, Emanuelle, Emmanuel, Eric, Estefani, Evelyn, Felipe, Gabriel, Grazielly, Grazielly Luísa, Gustavo, Isabella, Isadora, Lucca, Marcos, Marcus, Maria, Marlon, Natália, Nicolý, Pedro, Rafael, Rafaela, Tauã, Wanderson, Yasmin; que com poucos dias de vida já contribuíram para a evolução da ciência.

À Dani Cabrini, pelo companheirismo neste estudo e à Vanessa, Bárbara e Fernanda, importantes colaboradoras, pela grande ajuda na coleta de dados, especialmente do leite humano.

Aos meus amigos do mestrado e companheiros de laboratório Ana Cris, Ana Paula Boroni, Angélica, Cris Morango, Duque e Vanessa e aos demais pesquisadores do Laboratório de Bioquímica e de Análise dos Alimentos. Ao Cassiano, por sua grande ajuda com a cromatografia.

A todos os amigos do mestrado, pela alegria na sala 307.

Aos amigos da república Claudinei, Felipe, Jardel e Tobias; por todos os momentos compartilhados, pela amizade e pelas ajudas com as planilhas.

Aos grandes amigos Túlio, Kiri, Dennys, Gabi, Régis, Géria, Polly, Glauce, Fafá, Daninha e Mimi; pelas ajudas e incentivos. Vocês estão “guardados do lado esquerdo do peito”.

Por fim, mas de forma especial, agradeço infinitamente a Deus, pelo dom da vida, por iluminar-me e guiar-me para o caminho da ciência e por permitir que eu tenha essa família maravilhosa e esses amigos fantásticos.

BIOGRAFIA

ANDRÉ GUSTAVO VASCONCELOS COSTA, filho de José Flávio Costa e Geralda Marlene Vasconcelos Costa, nasceu em 11 de agosto de 1978, na cidade de Carmópolis de Minas, Minas Gerais (MG).

Em março de 2000, iniciou o curso de Nutrição na Universidade Federal de Viçosa – MG, concluindo-o em julho de 2004. Em agosto do mesmo ano iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da Universidade Federal de Viçosa, na área de Valor Nutricional de Alimentos e de Dietas.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Referências Bibliográficas.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1. ARTIGO DE REVISÃO 1: Perfil de ácidos graxos do leite humano: modulação, composição e efeitos na saúde do recém-nascido.....	6
2.1.1. Resumo.....	6
2.1.2. Abstract.....	7
2.1.3. Introdução.....	8
2.1.4. Fatores que modulam a composição do leite humano.....	9
2.1.5. Teor de ácidos graxos do leite humano de diferentes regiões.....	16
2.1.6. Efeitos dos ácidos graxos saturados.....	17
2.1.7. Importância dos ácidos graxos monoinsaturados.....	19
2.1.8. Malefícios dos ácidos graxos <i>trans</i>	19
2.1.9. Benefícios dos ácidos graxos poliinsaturados.....	21
2.1.10. Conclusão.....	23
2.1.11. Referências Bibliográficas.....	24

	Página
2.2. ARTIGO DE REVISÃO 2: Questionário de freqüência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídios.....	33
2.2.1. Resumo.....	33
2.2.2. Abstract.....	33
2.2.3. Introdução.....	34
2.2.4. Avaliação da ingestão alimentar populacional.....	35
2.2.5. Questionário de freqüência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos relacionados à sua utilização.....	36
2.2.6. Variação intrapessoal da ingestão de lipídios.....	38
2.2.7. Reprodutibilidade e validade de instrumentos dietéticos na avaliação da ingestão lipídica.....	42
2.2.8. Avaliação do consumo de lipídios relacionado a marcadores bioquímicos.....	44
2.2.9. Conclusão.....	47
2.2.10. Referências Bibliográficas.....	48
3. OBJETIVOS.....	53
3.1. Geral.....	53
3.2. Específicos.....	53
4. METODOLOGIA GERAL.....	54
4.1. Delineamento do Estudo.....	54
4.2. Casuística.....	54
4.2.1. Critérios de inclusão e exclusão.....	55
4.3. Método.....	55
4.3.1. Coleta de dados.....	55
4.4. Antropometria.....	58
4.5. Avaliação dietética.....	59
4.5.1. Recordatório de 24 horas.....	59
4.5.2. Questionário de Ingestão Habitual.....	59
4.5.3. Questionário de Freqüência de Consumo Alimentar.....	60
4.5.4. Lista de Disponibilidade de Alimentos.....	60
4.5.5. Recursos visuais.....	61

	Página
4.5.6. Padronização das medidas.....	62
4.5.7. Adequação dietética.....	62
4.6. Coleta do leite humano.....	63
4.7. Análises Laboratoriais.....	63
4.7.1. Análise do teor de gordura e de energia do leite humano.....	63
4.7.2. Extração de ácidos graxos do leite humano.....	64
4.7.3. Determinação e identificação dos ácidos graxos do leite humano.....	66
4.7.4. Quantificação dos ácidos graxos do leite humano.....	66
4.8. Análise Estatística.....	68
4.9. Referências Bibliográficas.....	71
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5.1. Caracterização da Amostra.....	73
5.1.2. Recrutamento.....	73
5.1.3. Indivíduos estudados.....	74
5.2. ARTIGO ORIGINAL 1: Composição de ácidos graxos do leite humano relacionado às variáveis maternas e às dos recém-nascidos: um estudo prospectivo em Viçosa, MG.....	77
5.2.1. Resumo.....	77
5.2.2. Abstract.....	78
5.2.3. Introdução.....	79
5.2.4. Metodologia.....	81
5.2.4.1. Casuística.....	81
5.2.4.2. Coleta de dados.....	81
5.2.4.3. Análise da quantidade de lipídios totais e de energia do leite humano.....	82
5.2.4.4. Extração de ácidos graxos do leite humano.....	82
5.2.4.5. Determinação dos ácidos graxos do leite humano.....	83
5.2.4.6. Análise estatística.....	84
5.2.5. Resultados.....	85
5.2.6. Discussão.....	87
5.2.7. Conclusão.....	93

	Página
5.2.8. Referências Bibliográficas.....	94
5.3. ARTIGO ORIGINAL 2: Influência da alimentação materna sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano de mulheres de baixa renda de Viçosa – MG.....	111
5.3.1. Resumo.....	111
5.3.2. Abstract.....	112
5.3.3. Introdução.....	113
5.3.4. Metodologia.....	114
5.3.4.1. Casuística.....	114
5.3.4.2. Coleta de dados.....	115
5.3.4.3. Análise dietética.....	115
5.3.4.4. Análise da quantidade de lipídios totais e de energia do leite humano.....	116
5.3.4.5. Extração de ácidos graxos do leite humano.....	117
5.3.4.6. Determinação dos ácidos graxos do leite humano.....	117
5.3.4.7. Análise estatística.....	118
5.3.5. Resultados.....	119
5.3.6. Discussão.....	121
5.3.7. Conclusão.....	126
5.3.8. Referências Bibliográficas.....	127
6. CONCLUSÃO GERAL.....	140
7. ANEXOS.....	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% = Porcentagem

Σ = Somatório

AG = Ácidos Graxos

AGM = Ácidos Graxos Monoinsaturados

AGP = Ácidos Graxos Poliinsaturados

AGS = Ácidos Graxos Saturados

AGT = Ácidos Graxos *Trans*

DP = Desvio Padrão

g = Grama

IMC = Índice de Massa Corporal

Kcal = Quilocaloria

kg = Quilos

kg/m² = Quilogramas por Metros ao Quadrado

LT = Lipídios Totais

mg/dL = Miligramas por Decilitro

mg% = Miligramas por Cento

Max = Máximo

Mi = Mediana

Min = Mínimo

mL = Mililitro

n = Amostra

p = Nível de Significância Estatística (Probabilidade)

QFCA = Questionário de Frequência de Consumo Alimentar

r = Coeficiente de Correlação de *Spearman*

R24H = Recordatório de 24 Horas

TG = Triacilgliceróis

X = Média

n-3 = Ácidos Graxos da Série Ômega 3

n-6 = Ácidos Graxos da Série Ômega 6

RESUMO

COSTA, André Gustavo Vasconcelos. M. S. Universidade Federal de Viçosa. Julho de 2006. **Composição nutricional do leite humano e sua correlação com variáveis maternas: estudo prospectivo.** Orientadora: Céphora Maria Sabarense. Co-Orientadoras: Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Sílvia do Carmo Castro Franceschini.

A fração lipídica do leite humano é especialmente importante para o recém-nascido e pode ser modulada pelas condições maternas e dos recém-nascidos. Este estudo prospectivo analisou os percentuais de ácidos graxos (AG), de lipídios totais (LT) e de energia do leite humano de 33 nutrizes do município de Viçosa – MG, ao longo de três meses de lactação (períodos medianos de 1, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto). Relacionou-se o comportamento desses parâmetros frente às seguintes variáveis: período de lactação, escolaridade, peso ao nascer, tipo de parto, paridade, etnia materna, idade gestacional, ganho de peso do recém-nascido e alimentação materna. Esta última foi avaliada de acordo com o Recordatório de 24 Horas (R24H), aplicado aos 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto; o Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA) e a Lista de Disponibilidade de Alimentos (LDA) foram aplicados aos 91 dias pós-parto. Observou-se que as nutrizes apresentaram baixa renda (R\$ 652,00 ± R\$ 367,00) e baixa escolaridade (8,8 ± 2,5 anos de estudo). Em relação ao período de lactação, encontraram-se diferenças significativamente inferiores ($p < 0,001$) para os ácidos graxos C10:0 e C14:0 no período de 1 dia em relação aos demais períodos. O C16:0 de 32 dias foi significativamente menor ($p = 0,03$) que no período de 1 dia e o

C16:1 apresentou menores percentuais no período de 1 dia em relação aos demais períodos ($p=0,01$). A relação n-6:n-3 e o total da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0), ao longo do estudo, foi de 10 a 14 e de 5,6 a 17,9 mg%; respectivamente. Os percentuais de LT e de energia foram significativamente menores ($p=0,03$) no período de 1 dia em relação aos períodos de 32 e 91 dias. Do total de amostras de leite humano coletado ($n=156$), observou-se fortes correlações ($p<0,001$) entre o C18:2n-6 com o C18:3n-3, com o somatório de n-3, de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) e de AG totais. Assim também ocorreu para o conteúdo de C18:3n-3 relacionado ao somatório de n-6, de AGP e de AG totais. A escolaridade, o peso ao nascer, o tipo de parto, a paridade e idade gestacional não modificaram significativamente os parâmetros analisados no leite humano. Em relação ao ganho de peso, a média geral deste parâmetro correlacionou-se de forma inversa e significativa com os percentuais de C12:0 ($r=-0,468$; $p=0,03$), de C14:0 ($r=-0,062$; $p<0,001$) e de ácidos graxos saturados (AGS) ($r=-0,443$; $p=0,02$). Não foram observadas correlações significantes entre os parâmetros investigados pela média dos quatro R24H com os percentuais de AG, de LT e de energia do leite humano. De acordo com o QFCA e com a LDA, o consumo de leite de vaca integral pela nutriz correlacionou-se positivamente ($p<0,05$) com o total de AGS, de ácidos graxos monoinsaturados, de AGP, de AG totais e com os percentuais de C18:2n-6 do leite humano. Boas correlações negativas foram observadas entre a ingestão de carne suína com os percentuais de C18:2n-6 ($r=-0,630$, $p=-0,035$). O consumo de peixe, apesar de ter sido equiparável ao consumo per capita diário de carne bovina, não apresentou alterações relevantes nos parâmetros estudados do leite humano. Esse estudo confirma que o conteúdo lipídico do leite humano pode ser modulado de acordo com o período de lactação e pela alimentação materna. Acredita-se que as demais variáveis maternas e dos recém-nascidos também possam contribuir para a modulação da composição lipídica do leite humano, embora não tenham demonstrado seus efeitos neste estudo. O consumo diário de leite de vaca provocou alterações positivas no perfil de ácidos graxos do leite humano; diferentemente do consumo de carne suína. Não

foram observadas as presenças de ácidos graxos docosahexaenóico e de eicosapentaenóico no leite humano, pois o leite integral não é fonte desses ácidos graxos. A utilização dos inquéritos QFCA e LDA, que têm a característica de avaliar a ingestão habitual, foram mais eficazes para a análise da interferência alimentar materna sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano, em relação à média dos quatro R24H. Ressalta-se a pouca disponibilidade na literatura científica de estudos prospectivos, que avaliem a evolução da composição lipídica do leite humano ao longo dos estágios iniciais da amamentação.

ABSTRACT

COSTA, André Gustavo Vasconcelos. M. S. Universidade Federal de Viçosa. July 2006. **Breast milk composition and correlation with maternal variables: a prospective study.** Adviser: Céphora Maria Sabarense. Co-Advisers: Maria do Carmo Gouveia Peluzio and Sylvia do Carmo Castro Franceschini.

Due to its biological superiority, the lipid fraction of human milk is especially important to newborns. However, the lipid fraction can be affected by factors associated to the mother's and the newborn's health and nutritional conditions. This prospective study analyzed the fatty acid (FA) percentage, total lipids (TL), and the energy of the human milk of 33 mothers of the city of Viçosa – MG, Brazil; during three months of lactation (median periods of 1, 7, 32, 62, and 91 days after delivery). The behavior of these parameters was correlated to the following variables: period of lactation, education level, newborn's weight at birth, newborn's weight gain, type of delivery, parity, maternal ethnicity, gestational age, and maternal food consumption. The latter was evaluated through 24-Hour Dietary Recall (R24H) at 7, 32, 62, and 91 days after delivery; Questionnaire of Frequency of Food Consumption (QFFC), and Food Availability List (FAL) applied during the 91 days after delivery. The women studied had low income (R\$ 652.00 ± R\$ 367.00) and low level of education (8.8 ± 2.5 years of study). In relation to the breast-feeding period, we found less significant differences ($p < 0.001$) for C10:0 and C14:0 for the 1-day period in relation to the other periods. C16:0 was significantly smaller ($p = 0.03$) for the 32-day than for the 1-day period and

C16:1 presented lower percentage for the 1-day period in relation to those of the other periods ($p = 0.01$). The n-6:n-3 and the total *de novo* synthesis (C10:0, C12:0 and C14:0) ratio throughout the study period were 10 to 14 and 5.6 17.9 mg%, respectively. The percent TL and energy were significantly smaller ($p = 0.03$ each) for the 1-day period in relation to the 32- and 91-day periods. Of the total human milk samples collected ($n = 156$), one showed strong correlations ($p < 0.001$) between C18:2n-6 and C18:3n-3 and the summation of n-3, polyunsaturated fatty acid (PUFA), and total FA. The same occurred for C18:3n-3 relative to the n-6 sum of total PUFA and FA. The education level, newborn's weight at delivery, type of delivery, parity, and gestational age did not affect the human milk parameters analyzed significantly. In relation to the newborn's weight gain, the general average of this parameter correlated inversely and significantly with the percentages of C12:0 ($r = -0.468$; $p = 0.03$), C14:0 ($r = -0.062$; $p < 0.001$), and saturated fatty acid (SFA) ($r = -0.443$; $p = 0.02$). Concerning maternal food consumption, it was not observed significant correlations between the parameters investigated for the average of the four R24H and the percent FA, TL, and the energy of human milk. In accordance with QFFC and FAL, the maternal consumption of cow whole milk correlated positively ($p < 0.05$) with total SFA, monounsaturated fatty acid (MUFA), PUFA, total FA and with the percentages of C18:2n-6 in human milk. Strong negative correlations were observed between the ingestion of pork and the percentages of C18:2n-6 ($r = -0.630$; $p = -0.035$). Although fish consumption was comparable to that of beef, it did not affect the human milk parameters studied. This study confirms that the lipid content of human milk can be affected by the lactation period and maternal diet. We believe that the other maternal and newborn variables studied can contribute to the lipid composition of human milk. However, such effects have not been demonstrated in this study. These results evidenced that the daily consumption of cow whole milk led to positive alterations in the fatty acid profile of human milk, differently from the daily consumption of pork. The use of QFFC and FAL to evaluate habitual ingestion was more efficient in the analysis of the fatty acid profile of human milk than the average of the four R24H was. We point out that prospective studies that

evaluate the evolution of the lipid composition of human milk throughout the initial periods of breast-feeding are scarce in the scientific literature.

1. INTRODUÇÃO

O leite humano é considerado um alimento completo e suficiente para suprir as necessidades nutricionais de recém-nascidos durante os seis primeiros meses de vida (ESPGAN Committee, 1982; Uauy et al., 2001). Biologicamente é um fluido complexo, contendo proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, substâncias imunocompetentes (IgA, enzimas, interferón), além de fatores tróficos ou moduladores de crescimento (Buts, 1998; Jensen, 1999; Euclides, 2000). Não obstante, a superioridade biológica desse alimento está relacionada ao seu conteúdo lipídico, o qual é a principal fonte de energia para o recém-nascido, contribuindo com 40 a 55% do total de energia quando consumido por esses indivíduos em aleitamento materno exclusivo (Jensen, 1999; Koletzko, 2001).

A fração lipídica é responsável, ainda, por prover ao recém-nascido ácidos graxos essenciais, como o ácido linoléico (C18:2n-6) e ácido α -linolênico (C18:3n-3), além de seus importantes metabólitos, como o ácido araquidônico – AA (C20:4n-6), o ácido eicosapentaenóico – EPA (C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico – DHA (C22:6n-3) (Koletzko, 2001). A presença desses metabólitos no leite está relacionada ao adequado desenvolvimento neurológico e à acuidade visual dos indivíduos (Makrides et al., 1995; Dijck-Brouwer et al., 2005; Hart et al., 2006). Por outro lado, da mesma forma que esse fluido veicula ácidos graxos essenciais, pode também ser um carreador de ácidos graxos *trans* (AGT) para o recém-nascido, os quais podem competir pelas enzimas de dessaturação dos

ácidos graxos essenciais (Scrimgeour et al., 2001). Segundo Larqué et al. (2000) e comprovado por Assumpção et al. (2004) as concentrações de AGT consumidos pela nutriz estão associadas às concentrações de *trans* encontradas no leite, sendo dose-dependente.

Entretanto, o conteúdo total de lipídios e a composição de ácidos graxos do leite humano são variáveis, como pode ser observado em diversos estudos (Bitman et al., 1983; Rueda et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Jensen 1999; Innis & King, 1999; Hayat et al., 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Koletzko et al., 2001; Prado et al., 2001; McManaman & Neville, 2003; Mandel et al., 2005; Anderson et al., 2005; Yamawaki et al., 2005). Diversos fatores contribuem para essa modulação, entre os principais destacam-se o estágio de lactação (Mandel et al., 2005; Yamawaki et al., 2005), o hábito alimentar materno (Hayat et al., 1999; Innis & King, 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Prado et al., 2001; Cunha et al., 2005; Anderson et al., 2005) e a adiposidade materna (Koletzko et al., 2001; Prado et al., 2001).

Destaca-se que a modulação lipídica do leite não se dá por efeitos isolados; mas por fatores intrínsecos e extrínsecos à nutriz, que agem de forma concomitante e, assim, dificultam a avaliação de tal modulação. É possível que a alimentação materna seja o principal fator modulador o perfil de ácidos graxos do leite humano.

Neste contexto, é de grande interesse, em estudos que avaliam a composição lipídica do leite materno, a avaliação da ingestão de lipídios pela nutriz por meio dos inquéritos alimentares.

Os métodos mais utilizados para avaliação do consumo alimentar são o Recordatório de 24 Horas (R24H) e o Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA), sendo, contudo inevitável que essa avaliação seja realizada sem erros. Os tipos de erros para avaliação dietética, particularmente inerente ao R24H, são devido às tabelas de composição de alimentos; às diferentes interpretações dos tipos de alimentos ou preparações, bem como o peso dos alimentos; aos alimentos informados erroneamente; à sazonalidade da alimentação e aos erros sistemáticos (*bias*), como a variação intrapessoal. Por outro lado, os erros relacionados ao QFCA são os mesmos descritos para o R24H, exceto a sazonalidade

da alimentação. O método mais adequado para avaliação dietética seria a pesagem de alimentos, porém é um método de maior custo e mais invasivo do que os demais (Bingham 1987). Contudo, um dos principais erros dos estudos envolvendo consumo alimentar está relacionado à medida de variabilidade diária de ingestão alimentar.

Para uma adequada avaliação do consumo de lipídios em adultos, com uma média de variação intrapessoal de 31% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários 10 recordatórios de um mesmo indivíduo. Por outro lado, para avaliação energética, com uma variação média intrapessoal de 23% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários apenas 5 recordatórios de um mesmo indivíduo (Bingham 1987; Willett, 1998). Porém, a aplicação de um maior número de inquéritos, como forma de minimizar o erro devido à variação intrapessoal, implica questões logísticas, além de um maior custo e de um maior tempo de estudo (Willett, 1998). Portanto, uma adequada avaliação dos objetivos do estudo é fundamental para definir o número de inquéritos a serem aplicados, assumindo os erros inerentes à variabilidade intrapessoal.

Essas premissas acentuam a importância da avaliação da composição lipídica do leite humano, contudo a verificação do comportamento desse perfil lipídico com variáveis maternas e dos recém-nascidos é complexa. Assim, pretende-se com este estudo contribuir para o conhecimento científico nessa área.

1.1. Referências Bibliográficas

1. Anderson NK, Beerman KA, McGuire MA, Dasgupta N, Griinari JM, Williams J, McGuire MK. Dietary fat type influences total milk fat content in lean women. *J Nutr* 2005;135:416-21.
2. Assumpção RP, Santos FD, Andrade PMM, Barreto GF, Carmo MGT. Effect of variation of trans-fatty acids in lactating rats diet on lipoprotein lipase activity in mammary gland, liver, and adipose tissue. *Nutrition* 2004;20:806-11.
3. Bingham AS. The dietary assessment of individuals; methods, accuracy, new techniques and recommendations. *Nutr Abstr Rev.* 1987;57:705-42.

4. Bitman J, Wood L, Hamosh M, Hamosh P, Mehta NR. Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1983;156(2):300-12.
5. Buts JP. Les facteurs trophiques du lait. *Arch Pédiatr* 1998;5:298-306.
6. Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-income women from Brasília, Brazil. *Early Human Development* 2005;81:303-311.
7. Dijck-Brouwer DAJ, Hadders-Algra M, Bouwstra H, Decsi T, Boehm G, Martini IA, Boersma ER, Muskiet FAJ. Lower fetal status of docosahexaenoic acid, arachidonic acid and essential fatty acids is associated with less favorable neonatal neurological condition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;72:21-28.
8. ESPGAN Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. III Recommendations for infant feeding. *Acta Paediatr Scand* 1982;302(Suppl.):1-27.
9. Euclides MP. *Nutrição do Lactente: Base científica para uma alimentação adequada*. 2ª ed. rev. atual. Viçosa: 2000. 488p.
10. Fidler N, Koletzko B. The fatty acid composition of human colostrum. *Eur J Nutr* 2000;39:31-7.
11. Hart SL, Boylan LM, Carroll SR, Musick YA, Kuratko C, Border BG, Lampe RM. Brief Report: Newborn behavior differs with docosahexaenoic acid levels in breast milk. *Journal of Pediatric Psychology* 2006;31(2):221-6.
12. Hayat L, Al-Sughayer MA, Afzal M. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999;124(Part B):261-7.
13. Innis SM, King DJ. *Trans* Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential *all-cis* and n-3 fatty acids and determine *trans*, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1999;70:383-90.
14. Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids* 1999;34(12):1243-71.

15. Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development* 2001;65(Supl):S3-S18.
16. Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *J Nutr* 2000;130:847-51.
17. Makrides M, Neumann M, Simmer K, Peter J, Gibson R. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995;345:1463-68.
18. McManaman JL, Neville MC. Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003;55:629-41.
19. Mandel D, Lubetzky R, Dollberg S, Barak S, Mimouni FB. Fat and energy contents of expressed human breast milk in prolonged lactation. *Pediatrics* 2005;116:432-5.
20. Prado MD, Villalpando S, Elizondo A, Rodríguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* 2001;74:242-7.
21. Rodriguez M, Koletzko B, Kunz C, Jensen R. Nutritional and biochemical properties of human milk, part II. Lipids, micronutrients and bioactive factors. *Clinics in Perinatology* 1999;26:335-59.
22. Rueda R, Ramirez M, Garcia-Salmeron JL, Maldonado J, Gil A. Gestational age and origin of human milk influence total lipid and fatty acid contents. *Ann Nutr Metab* 1998;42(1):12-22.
23. Scrimgeour CM, Macvean A, Fernie CE, Sébédio JL, Riemersma RA. Dietary trans α -linolenic acid does not inhibit Δ 5- and Δ 6-desaturation of linoléico acid in man. *Eur J Lipid Sci Technol* 2001;103:341-49.
24. Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 2001;36(9):885-95.
25. Willett WC. *Nutritional Epidemiology*. 2.ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. 514p.
26. 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;19:171-81.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ARTIGO DE REVISÃO 1

Perfil de ácidos graxos do leite humano: modulação, composição e efeitos na saúde do recém-nascido.

2.1.1. Resumo

O leite humano é um fluido complexo, considerado como um alimento completo e suficiente para suprir as necessidades nutricionais de recém-nascidos durante os seis primeiros meses de vida. A fração lipídica do leite materno é a principal fonte de energia para o neonato e possui ácidos graxos essenciais e seus produtos poliinsaturados, como o ácido araquidônico (AA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), indispensáveis ao crescimento. Tanto o conteúdo lipídico quanto o tipo de ácido graxo do leite humano podem ser modulados por fatores inerentes ou não à mãe. Dentre esses fatores, destacam-se a adiposidade, o estilo de vida, o estado nutricional e a ingestão alimentar materna; os quais agem de forma concomitante e interdependente, dificultando as análises dos estudos que se propõem investigar tal modulação. Porém, poucos estudos enfocam o consumo alimentar como um fator modulador. Por outro lado, não se observa grandes diferenças entre as composições de ácidos graxos do leite materno de estudos realizados na América Latina e em países desenvolvidos. Entretanto, o leite das nutrizes de algumas regiões brasileiras apresenta uma melhor composição de ácidos graxos essenciais e de seus produtos, especialmente de AA e DHA, e um menor percentual

de ácidos graxos saturados e *trans*. Assim, o presente trabalho tem como objetivo discutir os principais fatores que modulam a composição lipídica do leite humano, bem como, sua composição de ácidos graxos em diferentes nacionalidades e os efeitos desses componentes sobre a saúde do recém-nascido.

Palavras-chave: leite humano, hábito alimentar, ácidos graxos, amamentação.

2.1.2. Abstract

Human milk is a complex fluid and it is considered a complete food and sufficient to meet the newborn's nutritional needs during the first six months of life. The lipid fraction of maternal milk is the newborn's main source of energy and it contains essential fatty acids and metabolites indispensable to growth such as arachidonic acid (AA) and docosahexaenoic acid (DHA). The higher the lipid content of human milk, the more its fatty acid profile can be modulated by inherent factors other than maternal ones. Among these factors, adiposity, life style, maternal nutritional status and diet stand out, which act concomitantly and make investigating such modulation difficult. However, few studies deal with maternal diet as a modulating factor. In contrast, few differences have been observed between the fatty acid composition of human milk in studies carried out in Latin America and developed countries. Furthermore, women's milk, from some regions of Brazil, presents a better essential fatty acid and metabolite compositions, especially of AA and DHA, and a smaller percentage of saturated and *trans* fatty acid. Thus, the present work investigates the main factors that modulate the lipid composition of human milk, in particular the fatty acid composition of milk of women of different nationalities and the effect of these milk components on the newborn's health.

Keywords: human milk, food consumption, fatty acid, breast-feeding.

2.1.3. Introdução

O leite humano é um fluido complexo, contendo lipídios, proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, substâncias imunocompetentes (IgA, enzimas, interferón), além de fatores tróficos ou moduladores de crescimento (Buts, 1998; Jensen, 1999; Euclides, 2000). Devido à sua composição nutricional balanceada, o leite humano é considerado um alimento completo e suficiente para suprir as necessidades nutricionais de recém-nascidos durante os seis primeiros meses de vida (ESPGAN Committee, 1982; Uauy et al., 2001).

Nas duas últimas décadas, as intensivas campanhas de incentivo ao aleitamento materno no Brasil vêm acompanhando o aumento de pesquisas relacionadas à composição e aos benefícios do leite humano. Neste contexto, por ser a principal fonte de energia para o neonato e por possuir ácidos graxos fundamentais ao desenvolvimento do recém-nascido os lipídios do leite humano é um tema extremamente relevante (Jensen, 1999; Koletzko, 2001).

A fração lipídica apresenta um conteúdo médio de 4,2 g/dL, sendo encontrado principalmente na forma de triacilgliceróis (98%) e contribui com 40 a 55% do total de energia consumida pelo recém-nascido em aleitamento materno exclusivo (Jensen, 1999; Koletzko, 2001).

Essa fração é responsável, ainda, por prover ao recém-nascido ácidos graxos essenciais, como o ácido linoléico (C18:2n-6) e ácido α -linolênico (C18:3n-3), além de seus importantes metabólitos, como o ácido araquidônico – AA (C20:4n-6), o ácido eicosapentaenóico – EPA (C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico – DHA (C22:6n-3) (Koletzko, 2001). Esses ácidos graxos são componentes fundamentais do cérebro, retina e outros tecidos neurais, além de serem precursores de eicosanóides (Uauy et al., 2001). Dessa forma, o leite materno, provendo tais ácidos graxos, propicia ao organismo materno a utilização dos ácidos graxos essenciais em outros processos fisiológicos e, assim, favorecendo o crescimento adequado do recém-nascido.

Porém, tanto o conteúdo lipídico quanto o tipo de ácido graxo do leite humano podem ser modulados por diversos fatores, como por exemplo, o estilo de vida, o estado nutricional e a ingestão alimentar

materna (Rodriguez et al., 1999; Innis & King, 1999; Jensen, 1999; Fidler & Koletzko, 2000; Koletzko, 2001; Anderson, 2005).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo discutir os principais fatores que modulam a composição lipídica do leite humano, bem como, sua composição de ácidos graxos em nutrízes diferentes nacionalidades e os efeitos desses componentes sobre a saúde do recém-nascido.

2.1.4. Fatores que modulam a composição do leite humano

O conteúdo total de lipídios e a composição de ácidos graxos do leite humano são variáveis, como pode ser comprovado em diversos estudos (Bitman et al., 1983; Rueda et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Jensen 1999; Innis & King, 1999; Hayat et al., 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Koletzko et al., 2001; Prado et al., 2001; McManaman & Neville, 2003; Mandel et al., 2005; Anderson et al., 2005; Yamawaki et al., 2005). Os principais fatores que modulam a fração lipídica, descritos na literatura, estão agrupados no Quadro 1.

Quadro 1: Fatores que modulam o conteúdo lipídico do leite

Modulação	Fatores
Positiva	Adiposidade Duração do período de lactação ¹ Estágio da lactação ^{1, 2} Idade materna
Negativa	Desnutrição materna Infecções (mastite) e desordens metabólicas (diabetes ³)
Pode modular	Hábito alimentar ^{3, 4, 6, 7, 8} e composição da dieta materna (alto teor de carboidrato e baixo teor lipídico) ^{4, 5} Fatores genéticos ⁶ Hormônios ⁹ Idade gestacional ao nascimento (pré-termo x a termo) ¹⁰ Paridade Variação diária entre as lactações ¹¹ Sazonalidade

Adaptado de Jensen, 1999

1) Mandel et al., 2005; 2) Yamawaki et al., 2005; 3) Fidler & Koletzko, 2000; 4) Cunha et al., 2005; 5) Prado et al., 2001; 6) Anderson et al., 2005; 7) Innis & King, 1999; 8) Hayat et al., 1999; 9) McManaman & Neville, 2003 (estudo em ratos); 10) Bitman et al., 1983; 11) Kent et al., 2006.

Mandel e colaboradores (2005) estimaram o conteúdo de gordura do leite humano pelo método do crematócrito, que consiste na mensuração das quantidades de creme e de soro, após a centrifugação de capilares contendo uma alíquota de leite humano. Também, mensuraram o conteúdo de energia do leite humano, por bomba calorimétrica. A amostra contemplou 34 mulheres com um período de lactação maior que 1 ano e 27 mulheres com período de lactação de 2 a 6 meses. Os resultados indicaram uma correlação positiva e significativa entre os níveis de gordura e o conteúdo de energia com o período de amamentação superior a 1 ano. Verificou-se, após uma análise de regressão multivariada, que os teores de gordura e de energia não foram influenciados pela idade materna, dieta e índice de massa corporal. Este estudo, sendo do tipo transversal, não

permitiu avaliar a evolução do teor lipídico e do conteúdo de energia do leite. Assim, para a verificação mais minuciosa de uma possível interferência da alimentação materna seria indicado um estudo prospectivo, que além de permitir a análise de tal evolução possibilitaria aplicar mais de um questionário de consumo alimentar, com maior detalhamento da ingestão ao longo do período.

A fase de lactação – colostro, leite de transição e leite maduro – também influencia o conteúdo total de lipídios (Jensen 1999; Yamawaki et al. 2005). O Quadro 2 relaciona as principais classes lipídicas do leite humano em diferentes períodos de lactação. Observa-se que os triacilgliceróis são os componentes mais abundantes e não sofrem grandes alterações entre as fases de lactação. Diferentemente ocorre para os fosfolipídios e o colesterol, que podem sofrer alterações de mais de 50 e 60%, respectivamente, no primeiro trimestre de lactação.

Quadro 2: Principais classes de lipídios do leite humano em diferentes períodos de lactação

Classe de Lipídio	Período de lactação (número de dias)				
	Colostro (3 dias)	Transição (7 dias)	Maduro (21 dias)	Maduro (42 dias)	Maduro (84 dias)
Lipídios Totais, % ^a	2,04	2,89	3,45	3,19	4,87
Colesterol, % ^b	1,3	0,7	0,5	0,5	0,4
mg/dL	34,5	20,2	17,3	17,3	19,5
Fosfolipídios, % ^b	1,1	0,8	0,8	0,6	0,6
Triacilglicerol, % ^b	97,6	98,5	98,7	98,9	99

Adaptado de Jensen (1999).

a) Porcentagem no leite (g/dL).

b) Teor expresso em peso%, em relação ao conteúdo total de lipídios.

Apesar do conteúdo de colesterol do leite humano reduzir com os períodos de lactação é considerado alto se comparado ao leite de vaca, sendo que no leite humano maduro o teor encontra-se entre 10 a 20 mg/dL (Jensen 1999; Euclides, 2001). A elevada ingestão de colesterol pelo recém-nascido, comparado à ingestão do adulto, tem sido sugerida como um fator benéfico, uma vez que o colesterol está envolvido na síntese de

mielina, indispensável para o desenvolvimento do sistema nervoso central, além de ser utilizado para a produção de ácidos biliares e hormônios. Porém, o feto humano é capaz de sintetizá-lo a partir da 11ª semana de gestação e a justificativa para esses altos teores presentes no leite não está totalmente elucidada (Euclides, 2001).

Jensen (1999) sugere que as diferenças nos níveis de colesterol entre os estágios de lactação se devem ao diâmetro e espessura dos glóbulos de gordura secretados pelas células alveolares mamárias. Esse autor relata ainda, que os únicos componentes do leite que podem ser modulados pela alimentação materna são os ácidos graxos.

Em um estudo com 1197 nutrízes, de diferentes regiões do Japão, foi avaliada a composição do leite em diferentes estágios de lactação (1 a 365 dias pós-parto). As amostras foram coletadas no verão (julho a setembro de 1998) e no inverno (dezembro de 1998 a março de 1999) japonês. O conteúdo lipídico aumentou durante os estágios de lactação, sendo encontrado em maior teor no período de 11 a 20 dias (3,90 g/dL) e 21 a 89 dias (3,75 g/dL); os quais apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao colostro (2,68 g/dL), ao leite de transição (2,77 g/dL), ao leite maduro de 90 a 180 dias (3,20 g/dL) e ao leite maduro de 181 a 365 dias (3,17 g/dL). Não foram encontradas diferenças entre as estações do ano e nem entre as regiões dos indivíduos. Os autores concluíram que a composição do leite humano é afetada por fatores como o estágio da lactação e fatores individuais, como a adiposidade. Relatam ainda, que as atuais modificações do hábito alimentar japonês, com maior consumo de alimentos processados, parece influenciar negativamente a composição do leite dessas mulheres (Yamawaki et al. 2005). Essas quantidades corroboram aquelas demonstradas no Quadro 2, exceto para o leite maduro de 84 dias, cujo teor foi maior no estudo de Jensen (1999).

É possível que a alimentação materna seja o principal fator que modula o perfil de ácidos graxos do leite humano. Tal fato é relatado por Fidler & Koletzko (2000), em uma revisão sobre a composição lipídica do colostro de 16 regiões geográficas e confirmado por Serra et al (1997), que encontraram altos níveis de monoinsaturados no leite de mulheres italianas, indicando que o hábito alimentar Mediterrâneo, rico em ácidos

graxos monoinsaturados e baixo consumo de ácidos graxos saturados, influencia em tal conteúdo.

Sobre a influência da alimentação materna, Anderson et al (2005) relatam que o consumo de ácidos graxos *trans* (AGT) reduz o conteúdo total de lipídios do leite. Neste estudo, a alimentação de 12 mulheres foi randomizada com o objetivo de avaliar o efeito de 3 produtos: margarina regular com alto teor de gordura vegetal parcialmente hidrogenada – GVPH (rica em AGT), margarina com baixo teor de GVPH (abaixo teor de AGT) e manteiga (alto teor de AGT hidrogenados naturalmente). Os resultados demonstraram que o consumo de margarina regular, rica em *trans*, comparado ao consumo de margarina com baixo teor desse tipo de ácido graxo diminuiu o percentual lipídico do leite. No estudo de Innis & King (1999) foi investigada a relação entre os AGT do leite de nutrizes (n=103) e sua incorporação nos triacilgliceróis de recém-nascidos em amamentação exclusiva (n=62). Os resultados sugerem uma incorporação dos AGT, oriundos da alimentação materna, nos tecidos dos recém-nascidos, uma vez que foi detectada a presença destes isômeros no leite materno e nos triacilgliceróis plasmáticos dos lactentes.

Cunha et al. (2005), em um estudo envolvendo 77 nutrizes de baixa renda residentes em Brasília - DF (Brasil), observaram uma mescla de hábitos alimentares tradicionais e ocidentais, com consumo elevado de gordura e de açúcar; caracterizando a transição nutricional dessa população. A distribuição de macronutrientes na alimentação materna foi similar à de mulheres norte-americanas em amamentação, fato que refletiu na composição de ácidos graxos do leite. Por outro lado, em um estudo realizado no município de Viçosa - MG (Brasil), com 8 nutrizes durante 10 semanas, observou-se que o alto consumo de AGP pelas nutrizes foi refletido em um alto conteúdo de ácido linoléico e ácido α -linolênico no leite (Silva et al., 2005). Resultados semelhantes ao do estudo de Silva et al. (2005) foram encontrados por Patin et al. (2006), que investigaram a ingestão de sardinha fresca, rica em ácidos graxos da série n-3, sobre a composição de ácidos graxos do leite de 31 nutrizes brasileiras. Cada indivíduo recebeu 4 kg de sardinha (2 kg no início do experimento e 2 kg no 15º dia) e foram instruídas a ingerir tal alimento ao menos duas vezes

por semana. O leite das voluntárias foi analisado no pós-parto imediato, aos 15 e 30 dias pós-parto e foram comparados ao Recordatório de 24h. Os resultados demonstraram que a incorporação de 300g de sardinha por semana na alimentação das nutrizes contribuiu para aumentar os teores de ácidos graxos da série n-3 no leite. Os autores sugerem que para manter elevado o teor destes ácidos graxos as nutrizes devem ingerir peixes de água salgada duas a três vezes por semana.

Bener et al (2000) estudaram o efeito do jejum sobre a composição lipídica do leite de mulheres muçulmanas, durante o mês do Ramadan nos Emirados Árabes Unidos. Foram recrutadas 26 voluntárias, sendo 9 clinicamente obesas, com idade entre 20 a 38 anos. Os autores não observaram diferença estatisticamente significativa do perfil lipídico do leite antes e após o período de estudo. Porém, neste trabalho os autores não analisaram a influência da alimentação materna em nenhum dos momentos, a qual poderia ser realizada utilizando-se a análise de regressão multivariada. Esse tipo de análise estatística permite controlar variáveis de confusão que poderiam mascarar a composição e conteúdo lipídico como o teor de carboidratos consumidos pela nutriz, o índice de massa corporal materno, a paridade e a idade materna. Por outro lado, em um outro estudo com população também muçulmana, Hayat et al (1999) investigaram o teor de lipídios do leite materno de mulheres do Kuwaiti, cuja alimentação é rica em gordura, carboidrato e proteína. Neste estudo o conteúdo de ácidos graxos do leite humano foi afetado significativamente pela alimentação materna.

Estes estudos demonstram que o perfil de ácidos graxos do leite humano pode ser modulado pela escolha alimentar, pelo hábito alimentar e pelo estilo de vida materno.

Por outro lado, Koletzko et al. (2001) relataram que em estudos com isótopos estáveis, a maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados não é oriunda da alimentação materna, mas do metabolismo lipídico dos estoques corporais maternos. Segundo os autores, do total de ácido linoléico excretado no leite humano 70% originam-se de depósitos corporais e 30% são oriundos da alimentação materna. Corroborando esta afirmativa, Prado et al. (2001) relatam que a alimentação de populações

rurais do México é composta de 70% de carboidrato e 17% de lipídios do total de energia consumida. Neste estudo, objetivou-se avaliar a contribuição da dieta e da síntese endógena de ácido araquidônico (AA) no leite de 10 mulheres, com consumo alimentar nas mesmas proporções de macronutrientes da população rural. As mulheres receberam por via oral 2,5mg de [¹³C]ácido linoléico/kg de peso corporal. Os resultados indicaram que os estoques maternos são os principais responsáveis pela presença de AA no leite, bem como de seu precursor o ácido linoléico; tal como relata Koletzko et al. (2001).

Os diferentes graus de oxidação dos ácidos graxos estocados nos tecidos maternos também podem contribuir para a modificação da composição destes componentes no leite. Segundo DeLany et al. (2000), o ácido láurico (C12:0) é altamente oxidado no tecido humano, seguido pelos ácidos graxos essenciais e pelo ácido oléico (C18:1). Além disso, quanto maior a cadeia carbônica do ácido graxo saturado menor será seu poder de oxidação, o que resulta em um maior estoque e, possivelmente, uma maior mobilização destes ácidos graxos para o leite.

Assim, a modulação dos ácidos graxos do leite humano também está, em grande parte, relacionada à composição corporal da nutriz. Não obstante, a alimentação materna é um dos principais fatores, senão o principal, responsáveis por essa composição. Desse modo, os estudos que avaliam a relação entre a composição corporal materna e o perfil de ácidos graxos do leite humano devem também considerar a alimentação materna, com o objetivo de excluir a interferência deste fator.

Outros fatores, menos estudados, podem também contribuir para a modulação da fração lipídica do leite humano. Bitman et al. (1983) relataram maiores teores de AGP de cadeia longa no leite de mulheres que tiveram filhos pré-termo em relação ao leite de mães de filhos a termo. Porém, tal fato não foi comprovado nos estudos de Genzel-Boroviczeny et al. (1997) e de Rueda et al. (1998).

McManaman & Neville (2003), em estudo com ratos, sugerem que hormônios podem regular a secreção lipídica do leite. Além disso, destacam que diversas vias de transporte e complexos processos

secretoras das células alveolares mamárias modulam a composição do leite.

Kent et al. (2006) em um estudo com 71 nutrizes, com filhos de 1 a 6 meses de idade, objetivaram avaliar a relação entre o número de amamentações diárias e o conteúdo de gordura do leite. Os resultados demonstraram que em cada amamentação a criança ingere 67% do conteúdo total de leite disponível. O conteúdo lipídico das voluntárias variou de 2,23 a 6,16 g/dL de leite, podendo também variar durante e entre as amamentações, porém a quantidade de lipídios ingeridos pelo lactente independe da frequência.

Além dos fatores inerentes ao par mãe/filho, alguns fatores metodológicos podem interferir nas análises desse conteúdo, como por exemplo: amostras não representativas, tipos de metodologias empregadas na extração de ácidos graxos, na identificação e na determinação dos ácidos graxos. Além disso, a forma de expressar os resultados dificulta as comparações entre os teores lipídicos (Jensen, 1999).

Em resumo, a modulação lipídica do leite não se dá por efeitos isolados; mas por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos à nutriz, que agem de forma concomitante e, assim, dificultando a avaliação de tal modulação. Ressalta-se que são poucos os estudos que avaliam a modulação dos ácidos graxos do leite humano pelo consumo materno desses nutrientes. Neste sentido, destaca-se que a alimentação materna, se não considerada, pode ser um gerador de *bias* nos estudos; o que sugere sua criteriosa avaliação.

2.1.5. Teor de ácidos graxos do leite humano de diferentes regiões

A análise do perfil de ácidos graxos do leite humano é tema de investigação em diversas regiões do mundo, como pode ser observado nos estudos: na Espanha (Sala-Vila et al., 2005), Austrália (Mitoulas et al., 2003), Canadá (Innis & King, 1999; Chen et al., 1995), Alemanha (Genzel-Boroviczény et al., 1997; Koletzko et al., 1988), França (Chardigny et al., 1995), Argentina (Marín et al., 2005), Brasil (Cunha et al., 2005; Silva et al.,

2005), Cuba (Krasevec et al., 2002), Região do Caribe (Smit et al., 2002), Kuwaiti (Hayat et al., 1999), Nigéria e Nepal (Glew et al., 2002).

Nesta revisão, com objetivo de comparar os níveis de ácidos graxos do leite humano de diferentes regiões foram selecionados 5 estudos realizados em países desenvolvidos (Espanha, Austrália, Canadá, Alemanha e França) e 5 estudos realizados em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (Brasil, Argentina, Cuba e Região do Caribe) (Quadro 3, 4 e 5). A região caribenha compreende as seguintes regiões: Antígua, Belize, Curaçao, Dominica, Santa Lúcia, São Vicente e Suriname (Smit et al., 2002).

Nos estudos apresentados nos Quadros 3, 4 e 5, a composição de ácidos graxos do leite humano de países da América Latina é semelhante aos níveis relatados nos estudos de países industrializados. Porém, observa-se que o leite das nutrizes brasileiras, em relação às quantidades encontradas nos demais países, apresenta um melhor perfil de ácidos graxos essenciais e de seus metabólitos (AA e DHA) e menor teor de ácidos graxos *trans* e de saturados. Possivelmente, a alimentação materna e a adiposidade sejam os principais fatores que contribuem para esse perfil.

2.1.6. Efeitos dos ácidos graxos saturados

A quantidade de ácidos graxos saturados (AGS) apresentados nos estudos do Quadro 3 variou de 37,80 % do total de ácidos graxos (Canadá) a 56,52 mol % (Caribe). Menores percentuais foram também descritos por Hayat et al. (1999), os quais encontraram 42,86 peso% no leite de 19 mulheres kuwaitianas e por Patin et al. (2006), que descreveram um conteúdo de 41,44 % do total de ácidos graxos no leite maduro de 31 mulheres brasileiras. Semelhante aos teores encontrados no Caribe, Kuipers et al. (2005) também encontraram altos níveis de AGS no leite de mulheres que residem em Doromoni (Tanzânia), com mediana de 55,57 mol % (mínimo: 40,75 e máximo: 73,39) e na população vegetariana de Mwangi (Tanzânia), com mediana de 56,08 mol% (mínimo: 41,80 e máximo: 66,94).

Estes ácidos graxos são considerados como fonte energética ou como substrato para síntese de compostos intermediários (Giovannini et al, 1991). Além disso, parte dos teores desses ácidos graxos, encontrados no leite, pode ser sintetizada pela via *de novo* na glândula mamária, a partir da glicose, cujo primeiro resultado é a formação de AGS com 10 a 14 átomos de carbono. A geração desses ácidos graxos é intensificada quando a alimentação materna é composta por baixos teores de lipídios e alto teor de carboidratos (Koletzko et al., 2001). Tal fato foi comprovado no estudo de Glew et al. (2002), os quais relatam que do total de calorias consumidas pelos Fulani, nômades do norte da Nigéria, 50% é composta de AGS e entre os Kanuri, nômades do mesmo país, que possuem alimentação composta basicamente por cereais. O teor de AGS e o total referente à síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0) de 34 mulheres Fulani foi de 51,22 peso% e 21,9 peso% e os mesmos parâmetros em 89 mulheres Kanuri foi de 54,80 peso% e 29,2 peso%. Silva et al. (2005) encontraram 15,9 peso% de AGS advindos da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0), no leite maduro de mulheres brasileiras.

Entretanto, Carlson et al. (1997) considera que os ácidos láurico (C12:0) e o ácido mirístico (C14:0) são potencialmente mais colesterolêmicos que os ácidos graxos *trans* e estes são mais colesterolêmicos que seus isômeros *cis*. Dessa forma, o elevado consumo de carboidratos podem originar ácidos graxos promotores do processo aterosclerótico.

Aproximadamente 60% do total de ácido palmítico (C16:0) encontrado no leite ocupa a posição *sn*-2 (posição β) do triacilglicerol (Koletzko et al., 2001). Durante o processo de digestão, a lipase pancreática atua nas posições *sn*-1 e *sn*-3, gerando ácidos graxos livres e 2-monoacilglicerol (López-López et al, 2001). A absorção do monoacilglicerol é facilitada quando o ácido palmítico está presente, por ser mais polar que os demais monoacilgliceróis e por ser mais solúvel em água do que o C16:0 livre (Koletzko et al., 2001). Dessa forma, a ocorrência de um alto teor C16:0 no leite materno garante maior digestibilidade, facilitando seu uso como fonte energética, para a geração de outros ácidos graxos ou, ainda, para ser estocado pelo recém-nascido.

Nos estudos apresentados no Quadro 3 os níveis de C16:0 apresentam-se sem grandes diferenças, exceto no estudo de Silva et al. (2005), que encontraram os menores teores desse ácido graxo (17,3 peso%).

O ácido esteárico (C18:0) é encontrado em níveis mais moderados, em relação ao ácido palmítico; além disso, no tecido humano, esse componente é rapidamente convertido a ácido oléico (C18:1) (Jensen, 1999). Os demais ácidos graxos apresentam pequenas proporções.

2.1.7. Importância dos ácidos graxos monoinsaturados

Nos estudos apresentados no Quadro 4 não se observa grandes diferenças nas quantidades de ácidos graxos monoinsaturados (AGM). Porém, foram encontrados menores teores no Brasil (27,60 peso%) (Silva et al., 2005) e na região do Caribe (28,06 mol%) e níveis superiores na Espanha e no Canadá. Kuipers et al. (2005) encontraram um menor conteúdo de AGM na população de Doromani (Tanzânia), com mediana de 22,38 mol% e teores semelhantes (37,25 peso%) foram relatados por Hayat et al. (1999) no Kuwaiti.

Embora possam ser sintetizados pelo organismo humano, a composição e o percentual de AGM do leite humano podem ser modificados pela alimentação materna. Estes ácidos graxos são utilizados pelo recém-nascido como fonte energética e para compor a estrutura de membrana (Giovannini et al, 1991; Jensen, 1999), sendo o C18:1 (oléico) o tipo mais encontrado. Como já foi relatado o ácido esteárico (C18:0) é dessaturado rapidamente a oléico no tecido humano, porém Jensen (1999) relata que o mesmo não ocorre na glândula mamária humana.

Outro aspecto interessante da presença dos AGM, juntamente aos ácidos graxos poliinsaturados (APG), é o fato de auxiliarem na manutenção da viscosidade e fluidez da porção lipídica do leite humano, devido às duplas ligações de suas moléculas (Jensen, 1999).

2.1.8. Malefícios dos ácidos graxos *trans*

No Quadro 4, apenas os estudos realizados na Austrália, Canadá, Alemanha, França e Brasil (Silva et al., 2005) relatam a presença de ácidos graxos *trans* (AGT). Os maiores percentuais foram encontrados no Canadá

(7,10%) e a menor quantidade foi encontrada na França (1,91 peso%). Koletzko et al. (2001) relataram que os altos teores de AGT no leite de nutrizes da América do Norte e da Europa em relação aos países africanos sugerem que o conteúdo desses isômeros no leite reflete o hábito alimentar materno, pois os AGT não podem ser sintetizados pelo organismo humano. Em geral, as concentrações de *trans* consumidos pela lactante estão associadas às concentrações encontradas no leite materno, sendo dose-dependente (Larqué et al., 2000).

Os AGP, como os ácidos graxos essenciais linoléico (C18:2n-6) e α -linolênico (C18:3n-3), são importantes para a formação de membranas celulares e são precursores para a síntese de eicosanóides. Para tal, esses ácidos graxos devem sofrer um aumento de sua cadeia carbônica, sob a ação de enzimas elongases, e inserção de duplas ligações, pelas enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturase. Os isômeros *trans* do ácido α -linolênico competem com o ácido α -linolênico (C18:3n-3) pela $\Delta 6$ -dessaturase. O AGT C18:3n-3 também é capaz de inibir a $\Delta 5$ -dessaturase e conseqüentemente impedir a formação de ácido araquidônico (Scrimgeour et al., 2001). Portanto, os isômeros *trans* podem inibir a biossíntese de compostos importantes para o organismo humano.

Outro fato agravante seria a possibilidade desses ácidos graxos contribuírem para a gênese precoce do processo aterosclerótico. A hipótese para tal fato estaria relacionada à deficiência de ácido linoléico ocasionada pela ação dos AGT (Chiara et al., 2002).

Os AGT também podem exercer efeito negativo sobre a saúde fetal. No estudo de Elias & Innis (2001) foi pesquisada a associação entre as condições de nascimento e as concentrações de AGT e de DHA dos triacilgliceróis plasmáticos de recém-nascidos. A ingestão materna de AGT, no período gestacional, foi significativamente associada ($P < 0,05$) às concentrações plasmáticas desses isômeros presentes nos fosfolipídios, ésteres de colesterol e triacilgliceróis maternos. Observaram ainda uma relação inversa e significativa entre as concentrações de AGT dos triacilgliceróis plasmáticos dos recém-nascidos com o comprimento ao nascer. A mesma relação foi observada entre as concentrações de *trans* e de DHA presentes nos triacilgliceróis plasmáticos dos recém-nascidos. Os

resultados deste estudo sugerem que os efeitos deletérios dos AGT podem iniciar-se na fase intra-uterina.

A teoria da “origem fetal das doenças” sugere que a má nutrição e disfunções endócrinas no feto resultam em um processo de adaptação permanente com modificações na estrutura, na fisiologia e no metabolismo dos indivíduos. Assim, várias doenças crônicas não transmissíveis, incluindo doenças cardiovasculares, hipertensão e diabetes do tipo 2 podem ter sido “programadas”, ou seja, terem sua origem na fase fetal (Godfrey & Barker, 2000). O consumo de AGT pela nutriz e a conseqüente presença desses isômeros no leite, somada a uma predisposição a doenças, talvez possa potencializar os malefícios provocados à saúde do recém-nascido.

Dessa forma, os estudos apontam para um efeito negativo do consumo de AGT. Porém, os mecanismos que sustentam essa afirmativa não estão totalmente elucidados, o que sugere novos estudos, em especial, relacionados à saúde materno-infantil.

2.1.9. Benefícios dos ácidos graxos poliinsaturados

A Figura 1 apresenta o teor de ácidos graxos poliinsaturados do leite humano dos países analisados, bem como o total de ácidos graxos da série n-3 e da série n-6 e sua relação. Observa-se que os dois estudos realizados no Brasil e o realizado em Cuba apresentam os maiores teores de AGP totais e de ácidos graxos da série n-6. A verificação da relação n-6/n-3 é importante, pois se sabe que as séries de ácidos graxos (n-3, n-6, n-7 e n-9) competem entre si pelas vias metabólicas de alongamento e dessaturação e tal harmonia é importante para o adequado funcionamento do organismo (Calder, 2001). Somente os estudos desenvolvidos na Austrália, Canadá, Alemanha, Brasil (Cunha et al., 2005) e Caribe apresentaram uma relação adequada, que segundo Simopoulos (2002) é de 5:1 a 10:1. Por outro lado, altas relações podem ser observadas nos estudos realizados na Argentina e na Espanha.

De acordo com o Quadro 5, os maiores percentuais de ácidos graxos essenciais foram encontrados nos dois estudos realizados no Brasil. Nóbrega et al. (1986) relatam que a população brasileira apresenta

um alto consumo de alimentos ricos em ácido linoléico (C18:2n-6), o que sugere um alto consumo de óleo de soja e de peixes de água doce. Os maiores níveis de ácido α -linolênico (C18:3n-3,) encontrados nos estudos brasileiros, pode ser devido ao consumo de peixes de águas frias, embora as cidades destes estudos não sejam litorâneas. Por outro lado, menores conteúdos de C18:3n-3 foram encontrados no leite de mulheres da Espanha e da região do Caribe, localidades em que o acesso a produtos marinhos é maior. Essa aparente controvérsia, entre os resultados de ácidos graxos essenciais observados nos estudos brasileiros e nos demais, pode ser devido à adiposidade materna, ao estado nutricional, à metodologia de extração empregada ou mesmo devido a uma possível discrepância entre o tipo de alimentação da população estudada, em relação às reais características alimentares desses países. Hayat et al. (1999), no Kuwaiti, encontraram níveis semelhantes de C18:2n-6 (17,44 peso%) e menores teores de C18:3n-3 (0,37 peso%), em relação aos estudos do Quadro 5. Da mesma forma, foi observado no estudo de Glew et al. (2002), em que a quantidade de C18:2n-6 do leite humano nas tribos Kanuri e Fulani foi de 14,1 e 13,4 peso%, respectivamente; e o teor de C18:3n-3 nas mesmas tribos foi de 0,51 e 0,21 peso%, respectivamente.

A presença do ácido araquidônico (AA) (C20:4n-6), metabólito do C18:2n-6, e a presença do ácido eicosapentaenóico (EPA) (C20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA) (C22:6n-3), metabólitos do C18:3n-3, foram maiores no Brasil (Cunha et al., 2005). Estes ácidos graxos merecem uma atenção especial, pois o cérebro, retina e outros tecidos neurais são ricos em ácidos graxos essenciais e em seus metabólitos. Além disso, esses ácidos graxos são precursores de eicosanóides, cuja função é regular a atividade de células e tecidos corporais (Uauy et al., 2001).

Dessa forma, esses metabólitos, especialmente o DHA e o AA, estão relacionados com o desenvolvimento neurológico e com a acuidade visual dos indivíduos. Hart et al. (2006) encontraram associação positiva entre as concentrações de DHA no leite e os pontos obtidos no teste NBAS (*Neonatal Behavioral Assessment Scale*), que avalia o comportamento neurológico do neonato. Os resultados confirmam que o DHA, presentes no leite materno, é importante para um comportamento neurológico ótimo

dos neonatos. Dijck-Brouwer et al. (2005) analisaram os ácidos graxos da veia umbilical de 317 neonatos a termo e classificaram as crianças segundo o teste NOS (*Neurological Optimality Score*). As crianças classificadas como neurologicamente anormais apresentaram menor teor de DHA e de ácidos graxos essenciais da veia umbilical. Além disso, encontraram relação positiva entre os pontos obtidos na escala e os níveis de ácidos graxos essenciais, AA e DHA. Os autores concluíram que baixos teores destes ácidos graxos parecem influenciar negativamente a condição neurológica do neonato.

Makrides et al. (1995) demonstraram atraso na acuidade visual de crianças de 4 a 6 meses de vida que receberam fórmula deficiente em DHA. Ainda, as crianças em aleitamento materno por mais de 16 semanas apresentaram um melhor potencial visual em relação às amamentadas por um curto período. Semelhante a esses resultados, Lauritzen et al. (2004) observaram associação positiva entre a acuidade visual e os níveis de DHA das hemácias de crianças aos 4 meses de idade. Tais resultados sugerem que esses ácidos graxos estão relacionados à maturação visual.

Dessa forma, os estudos evidenciam a importância do consumo de alimentos ricos em ácidos graxos essenciais pela mãe, os quais, compondo o leite materno, assegurarão o adequado desenvolvimento infantil.

2.1.10. Conclusão

Como demonstrado, a modulação lipídica do leite não se dá por efeitos isolados, mas por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos à nutriz, que agem de forma concomitante. Nessas circunstâncias, destaca-se a importância de estudos na área com o objetivo de aclarar a ação de tais fatores sobre a composição lipídica, especialmente sobre o perfil de ácidos graxos. Ainda como aspecto metodológico, salienta-se que a alimentação materna, se não considerada, pode ser um gerador de *bias* nos estudos, o que sugere sua criteriosa avaliação.

De um modo geral, a composição de ácidos graxos do leite humano, relatados nos estudos realizados na América Latina, é semelhante aos teores descritos nos estudos de países industrializados. Porém, observa-se

que o perfil de ácidos graxos do leite das nutrizes brasileiras apresenta-se mais adequado em relação aos demais, no que condiz aos ácidos graxos essenciais.

Até o momento, não estão totalmente elucidados todos os benefícios dos ácidos graxos essenciais e seus metabólitos no leite humano, todavia sabe-se que se deficientes podem comprometer o desenvolvimento fetal e do recém-nascido. Não estão determinados, ainda, os possíveis malefícios dos ácidos graxos *trans* sobre a saúde desses indivíduos, o que sugere moderação no consumo de alimentos ricos nesses isômeros.

O conhecimento do conteúdo lipídico e do perfil de ácidos graxos do leite de diferentes regiões é de grande importância devido às peculiaridades dos efeitos dos ácidos graxos sobre a saúde materno-infantil, o que demonstra a necessidade de novas pesquisas nessa área.

2.1.11. Referências Bibliográficas

1. Anderson NK, Beerman KA, McGuire MA, Dasgupta N, Griinari JM, Williams J, McGuire MK. Dietary fat type influences total milk fat content in lean women. *J Nutr* 2005;135:416-21.
2. Bener A, Galadari S, Gillett M, Osman N, Al-Taneiji H, Al-Kuwaiti MHH, Al-Sabosy MMA. Fasting during the holy month of Ramadan does not change the composition of breast milk. *Nutrition Research* 2001;21:859-64.
3. Bitman J, Wood L, Hamosh M, Hamosh P, Mehta NR. Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1983;156(2):300-12.
4. Buts JP. Les facteurs trophiques du lait. *Arch Pédiatr* 1998;5:298-306.
5. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutrition Research* 2001;21:309-41.
6. Carlson SE, Clandinin MT, Cook HW, Emken EA, Filer Jr LJ. *trans* Fatty acids: infant and fetal development. *Am J Clin Nutr* 1997;66:717S-36S.

7. Chardigny JM, Wolff RL, Mager E, Sébédio JL, Martine L, Juanéda P. *Trans* mono- and polyunsaturated fatty acids in human milk. *European Journal of Clinical Nutrition* 1995;49:523-31.
8. Chen ZY, Pelletier G, Hollywood R, Ratnayake WMN. *Trans* fatty acid isomers in Canadian human milk. *Lipids* 1995;30(1):15-21.
9. Chiara VL, Silva R, Jorge R, Brasil AP. Ácidos graxos trans: doenças cardiovasculares e saúde materno-infantil. *Rev Nutr* 2002;15:341-49.
10. Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-income women from Brasília, Brazil. *Early Human Development* 2005;81:303-311.
11. DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2000;72:905-11.
12. Dijck-Brouwer DAJ, Hadders-Algra M, Bouwstra H, Decsi T, Boehm G, Martini IA, Boersma ER, Muskiet FAJ. Lower fetal status of docosahexaenoic acid, arachidonic acid and essential fatty acids is associated with less favorable neonatal neurological condition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;72:21-28.
13. Elias SL, Innis SM. Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoléico acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. *Am J Clin Nutr* 2001;73:807-14.
14. Euclides MP. *Nutrição do Lactente: Base científica para uma alimentação adequada*. 2ª ed. rev. atual. Viçosa: 2000. 488p.
15. ESPGAN Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. III Recommendations for infant feeding. *Acta Paediatr Scand* 1982;302(Suppl.):1-27.
16. Fidler N, Koletzko B. The fatty acid composition of human colostrum. *Eur J Nutr* 2000;39:31-7.
17. Genzel-Boroviczeny O, Wahle J, Koletzko B. Fatty acid composition of human milk during the 1st month after term and preterm delivery. *Eur J Pediatr* 1997;156(2):142-7.
18. Giovannini M, Agostoni C, Salari PC. The role of lipids in nutrition during the first months of life. *J Inter Med Res* 1991;19:351-62.

19. Glew RH, Elliot JA, Huang YS, Chuang LT, VanderJagt DJ. Constancy of the fluidity of the milk lipids of three different human populations. *Nutrition Research* 2002;22:1231-41.
20. Godfrey KM, Barker DJP. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1344S-52S.
21. Hart SL, Boylan LM, Carroll SR, Musick YA, Kuratko C, Border BG, Lampe RM. Brief Report: Newborn behavior differs with docosahexaenoic acid levels in breast milk. *Journal of Pediatric Psychology* 2006;31(2):221-6.
22. Hayat L, Al-Sughayer MA, Afzal M. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999;124(Part B):261-7.
23. Innis SM, King DJ. *Trans* Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential *all-cis* and n-3 fatty acids and determine *trans*, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1999;70:383-90.
24. Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids* 1999;34(12):1243-71.
25. Kent JC, Mitoulas LR, Cregan M, Ramsay DT, Doherty D. Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. *Pediatrics* 2006;117(3):e387-95.
26. Koletzko B, Mroczek M, Bremer HJ. Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *Am J Clin Nutr* 1988;47:954-9.
27. Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development* 2001;65(Supl):S3-S18.
28. Krasevec JM, Jones PJ, Cabrera-Hernandez A, Mayer DL, Connor WE. Maternal and infant essential fatty acid status in Havana, Cuba. *Am J Clin Nutr* 2002;76:834-44.
29. Kuipers RS, Fokkema MR, Smit EN, Meulen J, Boersma ER, Muskiet FAJ. High contents of both docosahexaenoic and arachidonic acids in milk of women consuming fish from lake Kitangiri (Tanzania): Targets for infant formulae close to our ancient diet? Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2005;72:279-88.

30. Lauritzen L, Jorgensen MH, Mikkelsen TB, Skovgaard IM, Straarup EM, Olsen SF, Hoy CE, Michaelsen KF. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids* 2004;39(3):195-206.
31. Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *J Nutr* 2000;130:847-51.
32. López-López A, Castellote-Bargalló AI, Campoy-Folgozo C, Rivero-Urgel M, Tormo-Carnicé R, Infante-Pina D, López-Sabater MC. The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *Early Human Development* 2001;65(suppl):S83-S94.
33. Makrides M, Neumann M, Simmer K, Peter J, Gibson R. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995;345:1463-68.
34. Marín MC, Sanjurjo A, Rodrigo MA, Alaniz. Long-chain polyunsaturated fatty acids in breast milk in La Plata, Argentina: Relationship with maternal status. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;73:355-60.
35. McManaman JL, Neville MC. Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003;55:629-41.
36. Mandel D, Lubetzky R, Dollberg S, Barak S, Mimouni FB. Fat and energy contents of expressed human breast milk in prolonged lactation. *Pediatrics* 2005;116:432-5.
37. Mitoulas LR, Gurrin LC, Doherty DA, Sherriff JL, Hartmann PE. Infant intake of fatty acids from human milk over the first year of lactation. *British Journal of Nutrition* 2003;90:979-86.
38. Nóbrega FJ, Amâncio OMS, Moraes RM, Marin P. Leite de nutrizes de alto e baixo nível econômico, eutróficas e desnutridas II. Ácidos graxos saturados e insaturados. *Jornal de Pediatria* 1986;60(1/2):29-36.
39. Patin RV, Vítolo MR, Valverde MA, Carvalho PO, Pastore GM, Lopez FA. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. *J Pediatr* 2006;86(1):63-9.
40. Prado MD, Villalpando S, Elizondo A, Rodríguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to

human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* 2001;74:242-7.

41. Rodriguez M, Koletzko B, Kunz C, Jensen R. Nutritional and biochemical properties of human milk, part II. Lipids, micronutrients and bioactive factors. *Clinics in Perinatology* 1999;26:335-59.

42. Rueda R, Ramirez M, Garcia-Salmeron JL, Maldonado J, Gil A. Gestational age and origin of human milk influence total lipid and fatty acid contents. *Ann Nutr Metab* 1998;42(1):12-22.

43. Sala-Vila A, Castellote AI, Rodriguez-Palmero M, Campony C, López-Sabater MC. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition* 2005;21:467-73.

44. Scrimgeour CM, Macvean A, Fernie CE, Sébédio JL, Riemersma RA. Dietary trans α -linolenic acid does not inhibit Δ 5- and Δ 6-desaturation of linoléico acid in man. *Eur J Lipid Sci Technol* 2001;103:341-49.

45. Serra G, Marletta A, Bonacci W, Campone F, Bertini I, Lantieri P, Risso D, Ciangherotti S. Fatty acids composition of human milk in Italy. *Biol Neonate* 1997;72:1-8.

46. Silva MHL, Silva MTC, Brandão SCC, Gomes JC, Peternelli LA, Franceschini SCC. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chemistry* 2005;93:297-303.

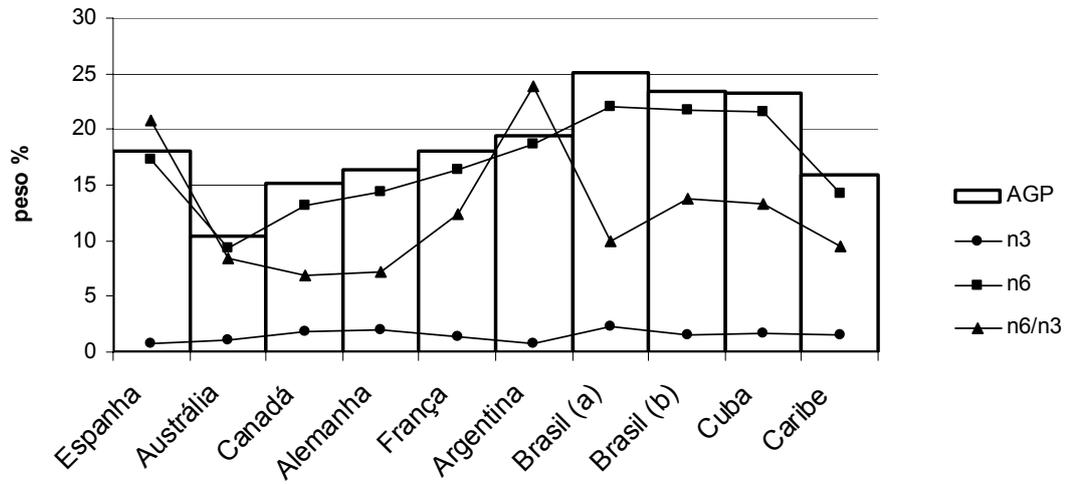
47. Simopoulos AP. The importance of ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 2002;56:365-79.

48. Smit EN, Martini IA, Mulder H, Boersma ER, Muskiet FAJ. Estimated biological variation on the mature human milk fatty acid composition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002;66(5-6):549-55.

49. Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 2001;36(9):885-95.

50. 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;19:171-81.

Figura 1: Teor de ácidos graxos polinsaturados (AGP) totais e AGP da série n-6 e n-3 do leite humano em diferentes países



Brasil (a): Cunha, *et al.* (2005)

Brasil (b): Silva, *et al.* (2005)

Quadro 3 – Composição de ácidos graxos saturados do leite humano em diferentes regiões

Referência	Sala-Vila et al. (2005)	Mitoulas et al. (2003)	Innis & King (1999)	Genzel- Boroviczény et al. (1997)	Chardigny et al. (1995)	Marín et al. (2005)	Cunha et al. (2005)	Silva et al. (2005)	Krasevec et al. (2002)	Smit et al. (2002)
País	Espanha	Austrália	Canadá	Alemanha	França	Argentina	Brasil (a)	Brasil (b)	Cuba	Caribe
n	19	69	103	38	10	21	77	80	52	159
Período	15-30 d	60 d	60 d	30 d	DEL	30-90 d	15 d	30-97	60	DEL
Unidade	Peso %	Peso %	%	%	Peso %	Peso %	Peso %	Peso %	%	mol %
C8:0	ND	ND	ND	ND	0,19	ND	0,11	0,20	0,17	0,67
C10:0	ND	1,23	0,60	1,01	1,23	0,91	1,35	1,68	1,57	3,62
C12:0	ND	5,24	4,10	5,21	5,15	4,67	5,30	6,88	7,81	13,82
C14:0	ND	7,43	6,10	6,90	6,93	6,02	5,64	7,02	8,97	11,54
C15:0	ND	0,48	ND	ND	0,50	0,43	0,53	0,27	ND	ND
C16:0	21,08	25,14	19,40	22,47	21,74	20,58	19,21	17,3	19,39	20,89
C17:0	ND	0,43	ND	ND	0,36	ND	0,40	0,32	ND	ND
C18:0	7,62	9,14	7,20	7,40	7,64	9,78	7,94	5,43	4,62	5,45
C20:0	ND	0,71	0,20	ND	0,22	0,26	0,28	0,12	ND	0,20
C22:0	ND	0,07	0,10	ND	ND	0,05	0,13	ND	ND	0,09
C24:0	ND	0,07	0,10	ND	ND	ND	0,20	ND	ND	0,07
Σ AGS	44,15 ^a	49,94	37,80	44,30 ^a	44,32 ^a	54,30 ^a	41,46 ^a	39,7 ^a	42,54	56,52 ^a

Σ: Somatório; AGS: Ácidos Graxos Saturados; d: dias pós-parto; DEL: diferentes estágios de lactação; ND: não demonstrado no estudo; a)

Inclui ácidos graxos não apresentados.

Quadro 4 – Composição de ácidos graxos monoinsaturados do leite humano em diferentes regiões

Referência	Sala-Vila et al. (2005)	Mitoulas et al. (2003)	Innis & King (1999)	Genzel- Boroviczény et al. (1997)	Chardigny et al. (1995)	Marín et al. (2005)	Cunha et al. (2005)	Silva et al. (2005)	Krasevec et al. (2002)	Smit et al. (2002)
País	Espanha	Austrália	Canadá	Alemanha	França	Argentina	Brasil (a)	Brasil (b)	Cuba	Caribe
n	19	69	103	38	10	21	77	80	52	159
Período	15-30 d	60 d	60 d	30 d	DEL	30-90 d	15 d	30-97	60	DEL
Unidade	Peso %	Peso %	%	%	Peso %	Peso %	Peso %	Peso %	%	mol %
C16:1	ND	2,62	0,30	ND	2,15	3,22	2,45	1,99	4,07	2,58
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,17	ND	ND
C18:1 n-9t	ND	1,12	ND	ND	1,91	ND	ND	2,25	ND	ND
C18:1 n-9c	34,57	31,40	33,90	31,50	32,15	33,36	30,12	25,00	29,68	21,38
C20:1	ND	0,27	ND	ND	0,78	0,08	0,60	0,26	0,51	0,38
C24:1 n-9	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,05
Σ AGM	37,14 ^a	34,29	39,30 ^a	31,50	35,58 ^a	36,94 ^a	33,31 ^a	27,60 ^a	34,25 ^a	28,06 ^a
Σ AGT	ND	2,19 ^a	7,10 ^a	1,13 ^a	1,91	ND	ND	2,36 ^a	ND	ND

Σ: somatório; AGM: Ácidos Graxos Monoinsaturados *cis*; AGT: Ácidos Graxos Monoinsaturados *trans*; d: dias pós-parto; DEL: diferentes estágios de lactação; ND: não demonstrado no estudo; a) Inclui ácidos graxos não apresentados.

Quadro 5 – Composição de ácidos graxos poliinsaturados do leite humano em diferentes regiões

	Sala-Vila et al. (2005)	Mitoulas et al. (2003)	Innis & King (1999)	Genzel- Boroviczény et al. (1997)	Chardigny et al. (1995)	Marín et al. (2005)	Cunha et al. (2005)	Silva et al. (2005)	Krasevec et al. (2002)	Smit et al. (2002)
País	Espanha	Austrália	Canadá	Alemanha	França	Argentina	Brasil (a)	Brasil (b)	Cuba	Caribe
n	19	69	103	38	10	21	77	80	52	159
Período	15-30 d	60 d	60 d	30 d	DEL	30-90 d	15 d	30-97	60	DEL
Unidade	Peso %	Peso %	%	%	Peso %	Peso %	Peso %	Peso %	%	mol %
C18:2 n-6	15,93	8,43	12,10	11,33	14,67	16,61	20,62	20,30	19,37	11,26
C18:3 n-3	0,49	0,69	1,40	0,90	0,70	0,47	1,72	1,43	0,92	0,67
C20:2 n-6	0,50	0,12	0,30	0,30	0,52	0,36	0,75	0,42	ND	0,32
C20:3 n-6	0,37	0,32	0,30	0,38	0,39	0,40	ND	0,42	0,47	0,38
C20:4 n-6	0,41	0,36	0,40	0,45	0,50	0,45	0,71	0,53	0,67	0,50
C20:5 n-3	0,06	0,08	0,10	0,05	0,02	0,09	0,16	ND	0,12	0,05
C22:4 n-6	0,02	0,08	0,10	0,08	0,17	0,09	ND	ND	0,15	0,12
C22:5 n-3	0,10	0,16	0,20	0,15	0,16	0,03	ND	ND	0,15	0,13
C22:6 n-3	0,18	0,17	0,20	0,23	0,32	0,13	0,34	0,14	0,43	0,33
∑ AGP	18,06	10,41	15,10	16,34 ^a	18,07 ^a	19,39 ^a	25,03 ^a	23,40 ^a	23,20 ^a	15,85 ^a
∑ n-6	17,23	9,31	13,20	14,34 ^a	16,39 ^a	18,61 ^a	22,08	21,80 ^a	21,58 ^a	14,20 ^a
∑ n-3	0,83	1,1	1,90	2,00 ^a	1,32 ^a	0,78 ^a	2,22	1,59 ^a	1,62	1,50 ^a
n-6/n-3	20,75	8,46	6,94	7,17	12,41	23,85	9,94	13,71	13,32	9,46

∑: somatório; AGP: Ácido Graxo Poliinsaturado; d: dias pós-parto; DEL: diferentes estágios de lactação; ND: não demonstrado no estudo; a)

Inclui ácidos graxos não apresentados.

2.2. ARTIGO DE REVISÃO 2

Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídios.

2.2.1. Resumo

É de interesse em estudos populacionais a adequada avaliação da ingestão lipídica por meio de inquéritos alimentares, visto que os lipídios estão envolvidos tanto no desenvolvimento quanto na prevenção de doenças arteriais coronarianas. Os inquéritos de consumo alimentar consistem em métodos indiretos de avaliação do estado nutricional, que estão sujeitos a erros inerentes ao indivíduo e à metodologia do estudo. É fundamental que tais métodos, particularmente o questionário de frequência de consumo alimentar e o recordatório de 24 horas, sejam validados para a população em estudo. Dentre os principais erros que envolvem a avaliação de consumo de lipídios, incluem-se a variabilidade intrapessoal, que pode ser minimizada com o aumento do número de recordatórios analisados ou por técnicas estatísticas. O uso de biomarcadores para estimar o consumo alimentar a longo prazo é cada vez mais utilizado e apresenta um importante papel na correta avaliação do consumo real de lipídios. Neste contexto, pretende-se com este trabalho discutir aspectos metodológicos para estimar a ingestão de lipídios pela população. Discutem-se aspectos relacionados aos erros de avaliação da ingestão alimentar, aspectos relacionados à utilização do questionário de frequência de consumo alimentar e do recordatório de 24 horas, a importância de estudos utilizando biomarcadores e a utilização de inquéritos alimentares para estimar o consumo de lipídios.

Palavras chave: registros de dietas, hábitos alimentares, consumo de alimentos, ácidos graxos.

2.2.2. Abstract

It is important in population studies the correct evaluation of lipid intake through dietary instruments, since lipids are involved in the

development and in the prevention of chronic heart diseases. The dietary instruments consist of indirect methods for the nutritional status evaluation. These methods are subject to errors inherent in the individual and the methodology of the study. It is crucial that such methods, particularly the food frequency questionnaire and 24-hour recall, be validated for the population in study. Among the main errors involving lipid intake evaluation is the intrapersonal variation, which can be minimized with the increase in the number of recalls analyzed or by statistical techniques. The use of biomarkers as indicators to estimate long term dietary intake is increasing, and they play an important role in the correct evaluation of the real lipid intake. In this context, this work proposed to discuss methodological aspects to estimate the lipid intake of the population. Aspects related to errors of food intake evaluation, the use of the food frequency questionnaire and 24-hour recall, the importance of studies using biomarkers and the use of dietary instruments to estimate lipid intake are discussed.

Keywords: diet records, dietary habits, eating, fatty acids.

2.2.3. Introdução

O inquérito dietético consiste em um método indireto de avaliação do estado nutricional do indivíduo¹. Dessa forma, os instrumentos dietéticos, particularmente o questionário de frequência de consumo alimentar (QFCA) e o recordatório 24 horas (R24h), estão sujeitos a erros inerentes ao indivíduo e ao planejamento, aplicação e análise dos dados^{2,3,4,5,6}. No entanto, atualmente, as pesquisas contam com técnicas estatísticas, que têm a finalidade de aproximar as informações relatadas pelos entrevistados com a real ingestão de nutrientes e de energia^{2,7,8,9}.

Os elevados níveis de ácidos graxos saturados, que compõem as dietas ocidentais, estão envolvidos com o aumento da incidência de doenças arteriais coronarianas (DAC). Os tipos de lipídios da dieta são capazes de modular os níveis plasmáticos de colesterol^{10,11}. Este é o principal fator dietético envolvido na ocorrência de DAC¹². De acordo com Wilson¹³, dados do clássico estudo de *Framingham* sugerem que níveis sanguíneos aumentados de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e

diminuídos de lipoproteínas de alta densidade (HDL) estão associados com o aumento do risco dessas doenças. Além disso, evidências epidemiológicas, obtidas a partir de estimativas da ingestão de ácidos graxos *trans*, utilizando-se inquéritos alimentares, apresentam uma forte correlação entre o consumo desses tipos de lipídios com a incidência de DAC¹⁴. Por outro lado, a ingestão de ácidos graxos monoinsaturados, da série n-9, e poliinsaturados, da série n-3, está associada à redução do risco de DAC^{10,11,12}.

Dessa forma, é de grande interesse em estudos populacionais a adequada avaliação da ingestão de lipídios por meio dos inquéritos alimentares. Neste contexto, pretende-se com este trabalho discutir aspectos metodológicos para estimar a ingestão de lipídios pela população, enfocando os erros relacionados à avaliação do consumo alimentar individual e populacional, utilizando-se questionário de frequência de consumo alimentar e do recordatório de 24 horas, bem como a importância de estudos utilizando-se biomarcadores.

2.2.4. Avaliação da ingestão alimentar populacional

É de interesse das pesquisas de caráter populacional o conhecimento da proporção de indivíduos que apresentam ingestão acima ou abaixo das recomendações dietéticas, uma vez que, o planejamento de ações de saúde; monitoramento, intervenção ou regulamentação de atividades comerciais; requer o conhecimento prévio do consumo de nutrientes pela população^{2,15}.

Os dados sobre consumo alimentar integrados com outros indicadores do estado nutricional, segurança alimentar, morbidade e risco de doenças; são as bases para o monitoramento das tendências dietéticas e definição de políticas para agricultura, economia e saúde. Paralelo a isso, esses dados podem auxiliar no desenvolvimento de guias dietéticos e materiais de educação nutricional¹⁵, que são fundamentais para o desenvolvimento e condução de pesquisas científicas; estes contribuem para a produção de novos estudos sobre consumo alimentar.

Segundo Harrison¹⁵, os estudos de consumo alimentar em países em desenvolvimento devem considerar: a integração do consumo

alimentar com outros dados, como saúde, estado nutricional e/ou despesas domésticas; o tamanho e a distribuição geográfica da amostra; a variação sazonal da ingestão alimentar; o desenvolvimento adequado do protocolo de estudo; utilização dos instrumentos dietéticos adequados; variação intrapessoal e interpessoal da ingestão dietética; aspectos culturais específicos e comparação dos dados com os de outros países ou regiões.

Dentre as metodologias empregadas para avaliação do estado nutricional, os métodos dietéticos são os mais adequados para detectar a deficiência nutricional em seu estágio inicial, sendo por isso, utilizados em estudos epidemiológicos de associação entre exposição ao fator e desfecho¹⁶.

Willett & Stampfer¹⁷ alertam para a complexidade da relação entre os fatores dietéticos e a ocorrência de doenças, visto que, os determinantes biológicos e a exposição a outros fatores podem gerar vieses durante as análises. Dessa forma, os autores salientam que a coleta de dados, para avaliação dietética, deve ser feita de forma criteriosa.

2.2.5. Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos relacionados à sua utilização

Os métodos de inquérito de consumo alimentar podem ser classificados em retrospectivos (história dietética e QFCA), que avaliam o consumo passado (recente e remoto), e os prospectivos (registro dietético e análise bromatológica dos alimentos consumidos), que tem a finalidade de avaliar a ingestão atual²⁰. Ferro-Luzzi¹⁸ classifica o R24h como um método retrospectivo, porém devido à característica de tal método em avaliar o consumo alimentar 24 horas anteriores à entrevista é mais prudente classificá-lo como um método prospectivo.

Devido às variações da ingestão alimentar inerentes aos indivíduos e, também, à falta de padronização dos instrumentos de inquérito alimentar e à de treinamento dos entrevistadores⁵ é impossível que o consumo alimentar seja avaliado sem erros⁶.

O QFCA consiste em um “checklist” de um número de alimentos, que podem variar de acordo com os objetivos do estudo. Ele foi desenvolvido por Wiehl em 1960 e é freqüentemente utilizado em estudos

em que há limitações financeiras e de tempo, sendo rotineiramente empregado em estudos epidemiológicos^{18,19} que relacionam a dieta com a ocorrência de doenças crônicas^{20,21,22}.

Hoje, existem variações do QFCA em relação ao seu desenho original, como o QFCA qualitativo, que visa avaliar os tipos de alimentos consumidos e sua frequência e o semi-quantitativo, que visa, além de avaliar os principais alimentos consumidos, estimar o seu consumo. O QFCA tanto em sua forma original quanto em suas variações são capazes de avaliar a frequência de consumo alimentar diária, semanal, quinzenal, mensal ou sazonal¹⁸.

Segundo McPherson *et al.*¹⁹, a utilização do QFCA é um método relativamente simples, objetivo e facilmente adaptável à população em estudo. Jiménez & Martín-Moreno²³ acrescentam que uma das vantagens da utilização do QFCA é a rapidez e, de acordo com Willett²⁴, ele oferece a possibilidade de uma correta estratificação dos resultados em quartis de consumo, o que possibilita analisar níveis extremos de ingestão.

Por outro lado, o QFCA sendo uma listagem de alimentos pré-estabelecida, pode não contemplar todos os alimentos disponíveis para o consumo, além de utilizar medidas padronizadas²⁴. Villar⁵ acrescenta que o pesquisador necessita de um esforço preliminar no desenho do questionário antes de utilizá-lo em campo.

O R24h foi utilizado pela primeira vez por Wiehl e consiste em quantificar todo o consumo de alimentos 24 horas anteriores à entrevista ou durante o dia anterior²⁴. Por ser um método que descreve uma grande variedade de alimentos, o R24h é utilizado quando se deseja comparar a ingestão de nutrientes e energia de diferentes populações²⁵.

Dentre as vantagens de utilização desse método incluem-se a rápida aplicação, recordação recente do consumo²⁵, a população estudada não precisa ser alfabetizada, além de ser o método que menos propicia alteração no comportamento alimentar⁵.

Por outro lado, esse método requer memória e cooperação do entrevistado, assim como da capacidade do entrevistador em estabelecer um diálogo com o entrevistado⁵. A idade, sexo e nível de escolaridade têm influência sobre a habilidade do entrevistado em informar corretamente o

consumo²⁶. Além disso, um único recordatório não reflete a ingestão habitual do indivíduo, devido à variação intrapessoal.

Segundo Villar⁵, o QFCA, comparado ao R24h, requer menos treinamento do entrevistador e pode ser aplicado em entrevista pessoal ou auto-administrado e postado ao centro de estudo.

2.2.6. Variação intrapessoal da ingestão de lipídios

Os tipos de erros para avaliação dietética, particularmente inerente ao R24h, são devido às tabelas de composição de alimentos; às diferentes interpretações dos tipos de alimentos ou preparações, bem como o peso dos alimentos; aos alimentos informados erroneamente; à sazonalidade da alimentação e aos erros sistemáticos (*bias*), como a variação intrapessoal. Por outro lado, os erros relacionados ao QFCA são os mesmos descritos para o R24h, exceto a sazonalidade da alimentação. O método mais adequado para avaliação dietética seria a pesagem de alimentos, porém é um método de maior custo e mais invasivo que os demais³.

Assim, um dos principais erros dos estudos envolvendo consumo alimentar está relacionado à medida de variabilidade diária de ingestão alimentar. Entende-se como variação intrapessoal a probabilidade do consumo refletir o verdadeiro hábito dietético do indivíduo, a qual pode ser minimizada aumentando-se o número de dias analisados^{3,4}.

A variabilidade da dieta do indivíduo está sujeita à variação real dos alimentos consumidos, influenciada pela diversificação e heterogeneidade da dieta e pelas preferências². Além disso, a sazonalidade; dias da semana, como por exemplo, um dia atípico; seqüência da aplicação do inquérito, induzindo o indivíduo a não responder de forma fidedigna o real consumo e a aplicação do inquérito por diferentes entrevistadores pode gerar erros na avaliação da ingestão²⁴.

Segundo Beaton *et al.*⁷, é possível calcular o número de dias necessários para estimar a real ingestão diária individual de um determinado nutriente, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$n = (Z_{\alpha} CV_w / D_0)^2$$

Na qual:

n = o número de dias necessários

Z_{α} = desvio padrão na curva normal reduzida

CV_w = coeficiente de variação intrapessoal

D_0 = especificidade limite (porcentagem máxima que se pretende no coeficiente de variação intrapessoal)

Utilizando-se os dados de Willett²⁴, o número de dias necessários para avaliação do consumo de lipídios, considerando 1,96 (desvio padrão, ao nível de significância de 5%) e 10% de especificidade limite, estão apresentados na Tabela 1. Observa-se que quando as médias de consumo são ajustadas para o total de energia consumida, utilizando-se análise de regressão, o coeficiente de variação diminui.

Tabela 1: Número de dias necessários para se estimar a ingestão de lipídios totais, ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM), ácidos graxos poliinsaturados (AGP) e colesterol; ajustados ou não para o total de energia consumida, considerando uma especificidade limite de 10%.

	Média (g)	CV _w (%)	Número de dias necessários
Energia (kcal)	1620	27,0	28
Lipídios Totais A	68,6	38,4	57
B		27,3	29
AGM A	24,2	42,5	69
B		27,8	30
AGP A	11,1	64,2	158
B		47,3	86
Colesterol A	311	62,2	149
B		61,5	145

Dados baseados em recordatórios de 194 mulheres (Willett²⁴)

A) Não ajustado para o total de energia consumida.

B) Ajustado para o total de energia consumida, utilizando análises de regressão.

Segundo Bingham³, para uma adequada avaliação do consumo de lipídios em adultos, com uma média de variação intrapessoal de 31% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários 10 recordatórios de um mesmo indivíduo. Por outro lado, para avaliação energética, com uma variação média intrapessoal de 23% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários apenas 5 recordatórios de um mesmo indivíduo. Superior a isso, é a avaliação da ingestão de vitamina C, com uma média de variação intrapessoal de 60% e precisão de $\pm 20\%$, são necessários 36 recordatórios.

Analisando os dados de Willett²⁴ e de Bingham³, observa-se que a variabilidade intrapessoal difere não somente entre os nutrientes analisados, mas também entre os diferentes estudos e entre os grupos

populacionais. Dessa forma, não se tem uma variação intrapessoal estabelecida como regra e universalmente aplicável. Além disso, observa-se que quanto maior o coeficiente de variação intrapessoal maior serão os dias necessários para uma correta avaliação da ingestão real. Portanto, uma adequada avaliação dos objetivos do estudo é fundamental para definir o número de inquéritos a serem aplicados, assumindo os erros inerentes à variabilidade intrapessoal. O uso de análise de regressão ajustando os dados para energia é adequado para minimizar o efeito de erros sistemáticos.

A aplicação de um maior número de inquéritos, como forma de minimizar o erro devido à variação intrapessoal, implica em questões logísticas, como a distância entre diferentes localidades, além de um maior custo e de um maior tempo de estudo²⁴. Outra forma de aproximação à real ingestão seria a utilização de métodos estatísticos, os quais fazem uma aproximação semi-paramétrica para transformar os dados de ingestão observado, que não apresentam uma distribuição normal, em dados com distribuição normal, removendo a variação intrapessoal^{18,27}. A utilização destes métodos estatísticos possibilita amenizar a variabilidade do dia-a-dia, de forma que a distribuição reflita somente a variação interpessoal².

De forma semelhante, para se calcular a prevalência de inadequação de consumo, com base na EAR (“Estimated Average Requirement”, que é definida como o valor de ingestão do nutriente estimado para cobrir as necessidades de aproximadamente 50% dos indivíduos saudáveis de determinado estágio de vida e gênero²), utiliza-se a seguinte fórmula²⁴:

$$Y = \mu + \text{indivíduo}_i + \varepsilon$$

Na qual:

Y = ingestão do nutriente ou energia

μ = média do consumo verdadeiro

Indivíduo $_i$ = efeito da variância interpessoal

ε = termo erro (erro de medição do instrumento utilizado – diferença encontrada entre o valor observado e a verdadeira ingestão)

Observa-se que nesta equação a variação intrapessoal não é incluída, uma vez que, por cálculos estatísticos e matemáticos, esta variação é amenizada². Para tal, deve-se verificar a normalidade das variáveis energia e nutriente e para aqueles que não apresentarem distribuição normal, deve-se transformá-los em seu logaritmo natural e novamente testá-los quanto à normalidade. Por análise de variância calcula-se a variação intrapessoal e interpessoal, obtendo-se um resíduo comum²⁸. Por fim, utiliza-se uma equação para remover a variabilidade intrapessoal, obtendo-se o valor ajustado do nutriente, que será utilizado para verificar a prevalência de inadequação no grupo populacional².

2.2.7. Reprodutibilidade e validade de instrumentos dietéticos na avaliação da ingestão lipídica

Reprodutibilidade, replicabilidade ou precisão²⁹ é a capacidade de um instrumento reproduzir a mesma estimativa em mais de uma ocasião, assumindo que nenhuma variação tenha ocorrido nos diferentes momentos dos procedimentos^{29,30}. A reprodutibilidade pode certificar, em parte, a validade de um instrumento; descobrir problemas na aplicação do instrumento e atuar como um controle de qualidade³⁰. López²⁹ relata que, na prática, pode indicar a consistência e concordância dos dados.

Segundo Block & Hartman³⁰, os estudos mostram uma correlação entre as repetições de QFCA na ordem de 0,5 a 0,8; porém esses valores não são para nutrientes específicos e, segundo López²⁹ os períodos de estudo podem oscilar de 1 há vários anos, como ocorre no estudo de Hu *et al.*¹¹ com um intervalo de 1 ano entre as aplicações dos QFCA e no estudo de Willett *et al.*³¹ com um intervalo de aplicação de 3 a 4 anos. Intervalos menores (6 meses) entre as repetições dos QFCA foram utilizados por Pietinen *et al.*³².

Dentre os fatores que afetam a reprodutibilidade incluem-se a incapacidade de estimar a dieta, idade e nível de escolaridade³³. Além disso, a complexidade do instrumento é outro fator que afeta a reprodutibilidade de um instrumento²⁸.

Diferentemente, a validade de um instrumento é a sua capacidade de mensurar o que, realmente, deve ser mensurado^{29,30}. Segundo López²⁹ diz-se que um instrumento é válido quando ele está isento de erros sistemáticos, que superestimam ou subestimam o que se pretende aferir.

Em geral, a validação de instrumentos necessita de um padrão ouro com o qual será comparado. Assim, para que um método seja validado deve haver uma forte correlação entre eles, porém os erros de cada instrumento não devem estar correlacionados²⁹. Comumente, a validação de inquéritos dietéticos se dá pela sua correlação com parâmetros bioquímicos e/ou pela sua correlação com outro instrumento dietético que seja mais fidedigno ao real consumo, como por exemplo, a pesagem de alimentos e o registro alimentar. Não existe padrão-ouro para estimar a ingestão habitual, visto que todos os instrumentos dietéticos contêm erros em diferentes graus²⁸.

Segundo Fisberg *et al.*²⁸, para o planejamento e execução de um estudo de validação, deve-se considerar o propósito da avaliação dietética, eleger a técnica mais apropriada, ter definido o marco de referência e identificar os fatores de confusão do processo de validação.

Os estudos sobre reprodutibilidade e validade dos instrumentos dietéticos são elaborados considerando grupos populacionais de regiões específicas como o estudo de Pisani *et al.*³⁴ com italianos; Ocké *et al.*²⁰ com alemães; Woo *et al.*³⁵ com chineses e Sichieri *et al.*³⁶ com brasileiros. Podem também ser realizados com grupos populacionais com características específicas, como o estudo de Salvo & Gimeno³⁷ com indivíduos obesos e Erkkola *et al.*³⁸ que avaliaram gestantes. Neste último estudo, os pesquisadores encontraram, no estudo de reprodutibilidade, uma correlação para o QFCA intraclasses de 0,62 a 0,67 para diferentes tipos de lipídios analisados e no estudo de validade encontraram uma correlação entre o QFCA e registro de alimentos de 0,48; 0,64; 0,55; 0,34; 0,47; 0,39 e 0,49 para lipídios totais, triacilgliceróis, AGS, AGM, AGP, ácidos graxos da série n-3 e ácidos graxos da série n-6, respectivamente. Correlações mais fortes, no estudo de validação, foram encontradas por Pietinen *et al.*³², utilizando o registro de alimentos como método de referência, na ordem de 0,75; 0,79; 0,68; 0,85 e 0,75 para lipídios totais,

AGS, AGM, AGP e colesterol, respectivamente e no estudo de reprodutibilidade, encontraram uma correlação semelhante (0,63 a 0,73). De acordo com esses estudos, apenas os dois últimos utilizaram o registro de alimentos como instrumento de referência, os demais utilizaram o R24h.

Comparando o QFCA e R24h, quanto à reprodutibilidade, observa-se que uma aplicação repetida e imediata do inquérito dietético pode gerar uma reprodutibilidade artificial, devido à memória recente; por outro lado, se a aplicação necessitar da memória remota pode gerar uma reprodutibilidade baixa. Neste caso, a utilização do QFCA é mais recomendada. Por outro lado, em populações de países subdesenvolvidos a reprodutibilidade, possivelmente, é elevada devido à monotonia da dieta. Assim, a utilização do R24h talvez seja mais aconselhável.

2.2.8. Avaliação do consumo de lipídios relacionado a marcadores bioquímicos

O uso de biomarcadores para avaliar o consumo de alimentos tem sido cada vez mais empregado, pois são métodos com maior acurácia, refletem a ingestão a longo prazo, não requerem memória e não sofrem interferências de erros sistemáticos (*bias*). Por outro lado, a concentração de nutrientes dos tecidos e de fluidos corpóreos pode ser afetada por fatores genéticos, tabagismo, obesidade, atividade física e metabolismo²⁴. Acrescentam-se ainda as doenças, que mesmo na forma sub-clínica podem afetar os níveis dos marcadores bioquímicos.

Ocké & Kaaks³⁹ desenvolveram um método de avaliação da ingestão (“método da tríade”) baseado na correlação entre três variáveis, quais sejam o QFCA, um método de referência e um biomarcador. O método assume que todos os padrões de análise são passíveis de erro, no entanto, é um método que pode ser empregado para estudos de validação de QFCA²⁴, uma vez que se corrige o erro devido a *bias*⁴⁰. A figura 1 ilustra o que foi explicitado, em que as letras maiúsculas representam QFCA (A), marcador bioquímico (B) método de referência (C), correlação entre QFCA e marcador bioquímico (X), correlação entre QFCA e método de referência (Y) e correlação entre marcador bioquímico e método de referência (Z). As

letras minúsculas a, b e c representam os coeficientes de validação e são determinados pelas seguintes fórmulas:

$$a = \sqrt{((Y \times X) / Z)}$$

$$b = \sqrt{((X \times Z) / Y)}$$

$$c = \sqrt{((Z \times Y) / X)}$$

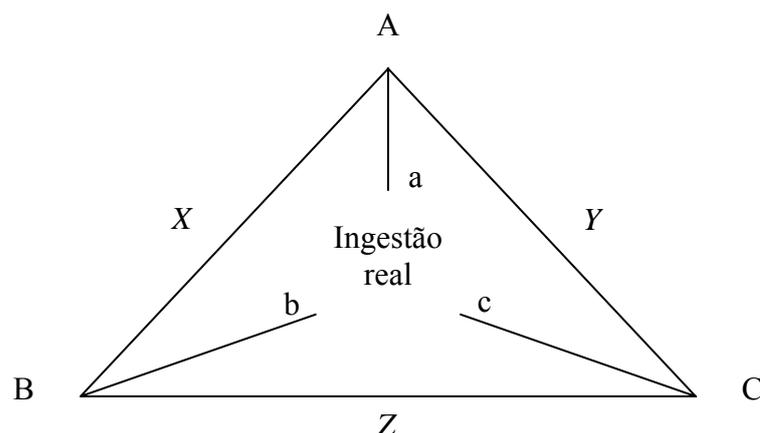


Figura 1: A) QFCA; B) marcador bioquímico; C) método de referência; a, b e c são coeficientes de validação e X, Y e Z são correlações entre as variáveis. As linhas externas e internas do triângulo representam as correlações entre os parâmetros analisados e a correlação com a ingestão real, respectivamente. Adaptado de Willett, 1998.

Kabagambe *et al.*⁴⁰ utilizaram tal metodologia em seu estudo e detectaram que as análises do tecido adiposo dos voluntários apresentaram fracas correlações com a ingestão de AGS e AGM, informados no R24h e QFCA, porém apresentaram boa correlação para os AGP. Concluíram que os biomarcadores utilizados no estudo não foram tão eficazes na avaliação da ingestão em relação ao QFCA.

Hu *et al.*⁴¹ estudaram a reprodutibilidade e validade da dieta padrão de homens participantes de um estudo prospectivo sobre os fatores de risco associados ao câncer e às doenças cardiovasculares. Foram recrutados 127 voluntários que completaram por duas vezes um mesmo

QFCA (131 itens), com intervalo de um ano entre cada aplicação e foram coletadas amostras de sangue para análise de triacilgliceróis e colesterol plasmático. Apenas indivíduos fumantes (n=11) foram excluídos das análises bioquímicas e não houve controle de idade dos participantes, tampouco controle de outros parâmetros que poderiam influenciar nos níveis de lipídios plasmáticos. Houve correlação positiva entre os níveis de triacilgliceróis e colesterol total plasmáticos dos voluntários que consumiam a dieta ocidental, rica em colesterol e AGS. Por outro lado, houve correlação negativa entre os mesmos parâmetros plasmáticos dos voluntários que consumiam uma dieta adequada, com baixos teores de colesterol e AGS.

Woo *et al.*³⁵, em um estudo semelhante ao de Hu *et al.*⁴¹, encontraram correlação positiva entre o consumo de lipídios totais com os níveis plasmáticos de HDL ($p \leq 0,05$). Assim também, entre a ingestão de AGS com os níveis plasmáticos de HDL ($p \leq 0,01$) e correlação negativa entre consumo de AGS e triacilgliceróis plasmáticos ($p \leq 0,05$). Os pesquisadores encontram poucas associações significantes entre a ingestão e os níveis plasmáticos de lipídios, porém concluíram que o QFCA desenvolvido é satisfatório em estudos de avaliação do consumo alimentar para a população analisada.

Em um estudo na Costa Rica, envolvendo 503 indivíduos, correlacionou-se a média de consumo de alimentos relatada em QFCA com 50 amostras de tecido adiposo dos participantes. Após os ajustes para idade, sexo, índice de massa corporal e tabagismo o coeficiente de correlação foi calculado. De acordo com os resultados o ácido graxo C15:0 e C17:0 apresentaram-se como os melhores marcadores para avaliação da ingestão de AGS e para produtos lácteos. Os ácidos graxos da série n-6 consumidos apresentaram correlações significantes com os encontrados no tecido adiposo: C18:2 ($r=0,58$) e C18:3 ($r=0,24$). Para os ácidos graxos *trans* os melhores indicadores foram o C18:2ct n-6 e C18:2tc n-6⁴². Lemaitre *et al.*⁴³ também encontraram correlação significantes de 0,67, para homens, e de 0,58, para mulheres, entre o total de ácidos graxos *trans* encontrados no tecido adiposo e a ingestão de *trans*, relatada em QFCA. Após os ajustes para ingestão energética, idade e índice de massa

corporal a correlação elevou-se para homens ($r=0,76$) e reduziu-se para mulheres ($r=0,52$).

Fornés *et al.*⁴⁴ em um estudo no Brasil, avaliaram a associação a frequência de consumo de grupos de alimentos com os níveis séricos de lipoproteínas, em adultos. Os dados apresentaram uma correlação positiva e significativa para o consumo de carne processada, frango, carne vermelha, ovos e produtos lácteos com os níveis de LDL. Por outro lado, o consumo diário de frutas e vegetais foram envolvidos na redução da LDL. Em 2002, Fornés *et al.*⁴⁵, compararam os valores médios de lipoproteínas com os escores quintilares de alimentos considerados de risco para DAC (R) e escores quintilares de alimentos considerados protetores para DAC (P). Observou-se um aumento significativo dos níveis de colesterol total e LDL relacionados ao consumo de R e de forma inversa e significativa para o consumo de P. Romon *et al.*⁴⁶ sugeriram que o conteúdo de ácido oléico presente em eritrócitos é um marcador para avaliar a ingestão real de ácidos graxos saturados e monoinsaturados.

No estudo de Vriese *et al.*⁴⁷ foi avaliada a ingestão de AGP durante o primeiro e terceiro trimestre de gravidez e sua relação com os teores de fosfolípidios presentes no plasma materno e umbilical. Verificaram correlação positiva entre o ácido linoléico, eicosapentaenócio (EPA) e docosahexaenócio (DHA) do plasma materno com a ingestão desses ácidos graxos durante o período de gravidez. Da mesma forma, no plasma umbilical, houve correlação entre a presença de EPA e do total de ácidos graxos da série n-6 com a ingestão materna desses ácidos graxos. Porém, não houve correlação entre o consumo materno de ácidos graxos essenciais (C18:2 e C18:3) e sua presença no plasma umbilical.

2.2.9. Conclusão

Os erros presentes nos estudos envolvendo consumo alimentar são inerentes ao próprio método utilizado (instrumentos dietéticos), aos fatores presentes no delineamento do estudo, ao tamanho amostral, à heterogeneidade dos padrões de consumo alimentar, destacando-se a variabilidade intrapessoal, e relacionados às análises dos dados. Porém, os estudos contam com o auxílio de modelos estatísticos que permitem

minimizar tais erros, aproximando o que foi relatado à ingestão real do indivíduo.

O questionário de frequência de consumo alimentar é um instrumento eficaz para avaliar o consumo passado de lipídio alimentar, desde que seja validado com instrumentos de referência, como o recordatório de 24 horas ou registro alimentar. No entanto, tais instrumentos também devem ser validados para o grupo populacional que se deseja estudar.

A utilização de biomarcadores, presentes no plasma e em tecidos, é uma excelente contribuição para os estudos de avaliação da ingestão de lipídios, visto que, alguns deles podem correlacionar-se ao desenvolvimento ou à prevenção de doenças crônico-degenerativas não transmissíveis.

Devido às dificuldades de se avaliar o consumo alimentar de um indivíduo e devido à necessidade de planejamento de estratégias de intervenção nutricional para combater as doenças relacionadas ao elevado consumo de lipídios, esforços devem ser feitos para o aprimoramento das técnicas de avaliação deste consumo em populações.

Assim, o estímulo ao uso de biomarcadores em estudos epidemiológicos, que reflitam com maior acurácia a ingestão real, associados a instrumentos dietéticos validados para a população em estudo é uma estratégia para otimizar a avaliação do consumo lipídico.

2.2.10. Referências Bibliográficas

1. Buzzard JM. Rationale for the international conference series on dietary assessment methods. *Am J Clin Nutr.* 1994;59 (suppl):143-5.
2. Slater B, Marchioni DL, Fisberg RM. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. *Rev Saúde Pública.* 2004;38(4):599-605.
3. Bingham AS. The dietary assessment of individuals; methods, accuracy, new techniques and recommendations. *Nutr Abstr Rev.* 1987;57:705-42.

4. Tarasuk V, Beaton GH. Statistical estimation of dietary parameters: implications of patterns in within-subject variation – a case study of sampling strategies. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:22-7.
5. Villar BS. Desenvolvimento e validação de um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar para adolescentes [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2001.
6. Beaton GH. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:253-61.
7. Beaton *et al.* Sources of variance in 24-hour dietary recall data: implications for nutrition study design and interpretation. *Am J Clin Nutr.* 1979;32:2546-59.
8. Aickin *et al.* A general method for adjusting dietary data to obtain stable estimates of usual intakes. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:303S.
9. Carriquiry RH, Jensen HH, Fuller WA, Guenther P. Methods for estimating usual intake distributions. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:305S.
10. Cordain L, *et al.* Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:341-54.
11. Hu FB, *et al.* Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:1001-08.
12. Tang JL, Armitage JM, Lancaster T. Systematic review of dietary intervention trials to lower blood total cholesterol in free-living subjects. *Br Med J.* 1998;316:1213-20.
13. Wilson PW. High-density lipoprotein, low-density lipoprotein and coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1990;66(6):7A-10A.
14. Ascheiro A, Willett W. Health effects of trans fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(suppl):1006S-10S.
15. Harrison GG. Methodological considerations in descriptive food-consumption surveys in developing countries. *Food Nutr Bull.* 2004;24(4):415-19.
16. Lopes ACS, Caiaffa WT, Mingoti AS, Lima-Costa MFF. Ingestão alimentar em estudos epidemiológicos. *Rev Bras Epidemiol.* 2003;6(3):209-18.

17. Willett W, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol.* 1986;124(1):17-27.
18. Ferro-Luzzi A. Measurement and assessment of food deprivation and undernutrition. *International Scientific Symposium FAO 2002*:101-25.
19. McPherson RS *et al.* Dietary assessment methods among school-age children: validity and reliability. *Prev Med.* 2000;31:S11-S33.
20. Ocké MC *et al.* The Dutch EPIC food frequency questionnaire. I. Description of the questionnaire, and relative validity and reproducibility for food groups. *Intern J Epidemiol.* 1997;26 (suppl 1):S37-S48.
21. Willett WC. Future directions in the development of food-frequency questionnaires. *Am J Clin Nutr.* 1994;59 (suppl):171S-4S.
22. Sampson L. Food frequency questionnaires as a research instrument. *Clin Nutr.* 1985;4:171-8.
23. Jiménez LG, Martín-Moreno JM. Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario. In: Majem LIS, Bartrina JA, Verdú MJ. *Nutrición y Salud Pública – Métodos, bases científicas y aplicaciones.* España: Masson; 1995. p.120-5.
24. Willett WC. *Nutritional Epidemiology.* 2.ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. 514p.
25. Buzzard M. 24-hours dietary recall and food record methods. In: Willett WC. *Nutritional Epidemiology.* 2.ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. p.50-73.
26. Majem LIS, Barba LR. Recordatorio de 24 horas. In: Majem LIS, Bartrina JA, Verdú MJ. *Nutrición y Salud Pública – Métodos, bases científicas y aplicaciones.* España: Masson; 1995. p.113-9.
27. World Health Organization. *Preventing and Managing the Global Epidemic.* Geneva: WHO; 1998.
28. Fisberg RM, Slater B, Marchioni DML, Martini LA. *Inquéritos Alimentares: métodos e bases científicas.* Barueri: Manole; 2005. 350p.
29. López JV. Validez de la evaluación de la ingesta dietética. In: Majem LIS, Bartrina JA, Verdú MJ. *Nutrición y Salud Pública – Métodos, bases científicas y aplicaciones.* España: Masson; 1995. p.132-6.
30. Block G, Hartman AM. Issues in reproducibility and validity of dietary studies. *Am J Clin Nutr.* 1989;50:1133-8.

31. Willett *et al.* The use of a self-administered questionnaire to assess diet four years in the past. *Am J Epidemiol.* 1988;127:188-99.
32. Pietinen *et al.* Reproducibility and validity of dietary assessment instruments. *Am J Epidemiol.* 1988;128(3):655-66.
33. Hansson LM *et al.* Factors affecting reproducibility of dietary reports using food frequency questionnaires. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:658-64.
34. Pisani P, Faggiano F, Krogh V, Palli D, Vineis P, Berrino F. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the italian EPIC centers. *Int J Epidemiol.* 1997;26(1):S152-S160.
35. Woo J, Leung SSF, Ho SC, Lam TH, Janus ED. A food frequency questionnaire for use in the Chinese population in Hong Kong: description and examination of validity. *Nutr Res.* 1997;17:1633-41.
36. Sichieri R, Everhart JE. Validity of a brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. *Nutr Res.* 1998;18:1649-59.
37. Salvo VLMA, Gimeno SGA. Reprodutibilidade e validade do questionário de frequência de consumo de alimentos. *Rev Saúde Pública.* 2002;36(4):505-12.
38. Erkkola M, Karppinen M, Javanainen J, Räsänen L, Knip M, Virtanen SM. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant finnish women. *Am J Epidemiol.* 2001;154(5):466-76.
39. Ocké MC, Kaaks RJ. Biochemical markers as additional measurements in dietary validity studies: application of the method of triads with examples from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:1240-5.
40. Kabagambe EK, Baylin A, Allan DA, Siles X, Spiegelman D, Campos H. Application of the method of triads to evaluate the performance of food frequency questionnaire and biomarkers as indicator of long-term dietary intake. *Am J Epidemiol.* 2001,154(12):1126-35.
41. Hu *et al.* Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:243-9.
42. Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, Campos H. Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:750-7.

43. Lemaitre RN, King IB, Patterson RE, Psaty BM, Kestin M, Heckbert SR. Assessment of trans-fatty acid intake with a food frequency questionnaire and validation with adipose tissue levels of trans-fatty acids. *Am J Epidemiol.* 1998;148(11):1085-93.
44. Fornés NS, Martins IS, Hernan M, Velásquez-Meléndez G, Ascherio A. Food frequency consumption and lipoproteins serum levels in the population of an urban area, Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2000;34(4):380-7.
45. Fornés NS, Martins IS, Velásquez-Meléndez G, Latorre MRDO. Escores de consumo alimentar e níveis lipêmicos em população de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2002;36(1):12-8.
46. Romon M *et al.* Comparison between fat intake assessed by a 3-day food record and phospholipid fatty acid composition of red blood cells: results from the Monitoring of Cardiovascular Disease-Lille Study. *Metabolism.* 1995;44(9):1139-45.
47. Vriese SR, Matthys C, Henauw S, Backer G, Dhont M, Christophe AB. Maternal and umbilical fatty acid status in relation to maternal diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2002;67(6):389-96.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a evolução da composição de ácidos graxos do leite humano no primeiro trimestre de lactação e sua relação com a alimentação materna e com o crescimento do recém-nascido.

3.2. Específicos

- Determinar a evolução do conteúdo em ácidos graxos do leite humano durante o período de lactação.
- Verificar a associação entre composição em ácidos graxos do leite humano com variáveis maternas (período de lactação, escolaridade, idade, tipo de parto, paridade e etnia) e dos recém-nascidos (peso ao nascer, ganho de peso e idade gestacional).
- Investigar o perfil de ácidos graxos dos alimentos consumidos pelas nutrizes durante o período de estudo.
- Correlacionar os teores de lipídios totais, de energia e de ácidos graxos do leite humano com os mesmos parâmetros consumidos pelas nutrizes.

4. METODOLOGIA GERAL

4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal, de seleção incompleta, observacional e tendo como unidade de estudo o indivíduo.

4.2. CASUÍSTICA

Foram recrutadas 272 nutrízes no pós-parto imediato e seus respectivos recém-nascidos, no período de 01 de outubro a 10 de dezembro de 2005. A maioria dos pares mãe/filho (57%) não participou do estudo por morarem na zona rural de Viçosa ou em outros municípios e 18% dos indivíduos não aceitaram participar ou já haviam recebido alta hospitalar no momento do recrutamento. Aproximadamente 3% das mães não puderam participar do estudo por apresentar alguma enfermidade, sendo observadas, principalmente, diabetes, pré-eclampsia e distúrbios neurológicos. Cerca de 6% dos recém-nascidos não puderam ser incluídos no estudo por apresentar baixo peso, por ser pré-termo ou por estar retido na Unidade de Tratamento Intensiva.

Do total de indivíduos aptos a participar, 8 mães não quiseram continuar ou a mãe não conseguia amamentar ou a criança retornou ao hospital para algum tipo de tratamento. Assim, 33 pares mães/filhos (12,1%) foram acompanhados até o terceiro mês pós-parto.

O estudo foi realizado nos setores de Alojamento Conjunto e Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) do Hospital São Sebastião, Viçosa – MG;

4.2.1. Critérios de inclusão e exclusão

Foram adotados critérios de inclusão para conferir maior homogeneidade a amostra e os de exclusão que justificariam alterações na produção do leite, que poderiam causar viés ao estudo, e devido a aspectos éticos.

Os seguintes critérios de inclusão foram adotados:

- Ausência de enfermidades crônicas antes ou durante a gestação;
- Idade gestacional entre 37 e 42 semanas;
- Parto único;
- Mulheres residentes na zona urbana do município de Viçosa.

Como critérios de exclusão foram considerados:

- Retenção do recém-nascido na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal ou Berçário Intermediário;
- Bebês portadores de anomalias congênitas;
- Baixo peso ao nascer (< 2500g)
- Mulheres fumantes;

4.3. MÉTODO

4.3.1. Coleta de dados

Inicialmente, propôs-se acompanhar as mulheres no pós-parto imediato e aos 7, 30, 60 e 90 dias subseqüentes ao parto, tendo um desvio padrão igual a ± 1 . Entretanto, esse acompanhamento foi feito o mais próximo possível das datas previstas, de acordo com a disponibilidade da população (Quadro 1).

Quadro 1: Períodos de acompanhamento pós-parto dos pares mãe/filho, Viçosa – MG.

Encontros	Idade de recém-nascido correspondente ao dia do acompanhamento de cada par mãe/filho	
	X ± DP	Mi
1º	1,1 ± 0,4	1
2º	8,3 ± 3,1	7
3º	35,5 ± 8,3	32
4º	63,5 ± 6,3	62
5º	94,4 ± 6,4	91

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana

Os procedimentos adotados nos 5 encontros são descritos abaixo:

1º encontro:

As mulheres, atendidas no setor particular e do Sistema Único de Saúde do Hospital São Sebastião, foram convidadas a participar do estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para sua inclusão e a de seu filho na amostra (Anexo 1), previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal de Viçosa. Após, prosseguiu-se com a coleta de dados com informações auto-referidas e com busca em prontuários:

- Aplicação de uma entrevista estruturada (Anexo 2) contendo informações pessoais, caracterização socioeconômica, condições de habitação, dados obstétricos e gestacionais, dados do recém-nascido e dados da nutriz.
- Verificação do tipo de aleitamento do lactente (Anexo 2);
- Neste primeiro encontro não foi realizada a avaliação antropométrica do recém-nascido, pois tais dados foram obtidos dos prontuários de suas respectivas mães;
- Aferição do peso e estatura maternos;
- Aplicação do inquérito de Ingestão Habitual (Anexo 3) para avaliar o hábito alimentar recente;

- Aplicação do primeiro Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (Anexo 4) e Lista de Disponibilidade de Alimentos (Anexo 5) para avaliar o hábito alimentar recente;
- Coleta do leite humano;
- Agendamento para o 2º encontro.

2º encontro:

As mulheres e seus filhos foram atendidos em seus respectivos domicílios ou no Centro de Saúde da Mulher e da Criança da Prefeitura Municipal de Viçosa – MG, quando a mãe levava seu filho para fazer o Teste do Pezinho (5º ao 11º dia pós-parto).

- Verificação do tipo de aleitamento do lactente;
- Avaliação antropométrica do recém-nascido;
- Aferição do peso materno;
- Aplicação do primeiro Recordatório de 24 Horas (Anexo 6);
- Coleta do leite humano;
- Agendamento para o 3º encontro.

O 3º, 4º e 5º atendimento de cada par mãe/filho foi realizado preferencialmente no Programa de Apoio à Lactação (PROLAC), porém quando a mãe não podia comparecer foi realizado atendimento domiciliar.

3º encontro:

- Verificação do tipo de aleitamento do lactente;
- Avaliação antropométrica do recém-nascido;
- Aferição do peso materno;
- Aplicação do segundo Recordatório de 24 Horas (Anexo 6);
- Coleta do leite humano;
- Agendamento para o 4º encontro.

4º encontro:

- Verificação do tipo de aleitamento do lactente;
- Avaliação antropométrica do recém-nascido;

- Aferição do peso materno;
- Aplicação do terceiro Recordatório de 24 Horas (Anexo 6);
- Coleta do leite humano;
- Agendamento para o 5º encontro.

5º encontro:

- Verificação do tipo de aleitamento do lactente;
- Avaliação antropométrica do recém-nascido;
- Aferição do peso materno;
- Aplicação do quarto Recordatório de 24 Horas (Anexo 6);
- Aplicação do segundo Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (Anexo 4) e Lista de Disponibilidade de Alimentos (Anexo 5) relativo aos 3 últimos meses;
- Coleta do leite humano.

Apesar da característica do estudo ser do tipo observacional em todos os atendimentos foi incentivado o aleitamento materno exclusivo, bem como, foi enfocada a importância de uma alimentação saudável. Esta conduta foi adotada devido aos aspectos éticos, porém não foi oferecido à nutriz qualquer tipo de plano alimentar.

4.4. ANTROPOMETRIA

As técnicas para obtenção do peso e comprimento do lactente e do peso e estatura maternos foram as propostas por Jelliffe (1966).

- **Peso do lactente**

Foi verificado com balança pediátrica com capacidade de 16 kg e divisão de 10g.

- **Comprimento do lactente**

Foi verificado em antropômetro infantil, com extensão de 150 cm, dividido em centímetros e subdividido em milímetros.

- **Peso materno**

Foi obtido pela pesagem em balança eletrônica, da marca TANITA®, com capacidade de 150 kg e divisão de 50g.

- **Estatuta materna**

Foi obtida com o auxílio de um estadiômetro, com extensão de dois metros, dividido em centímetros e subdividido em milímetros, com visor plástico e esquadro acoplado a uma de suas extremidades.

- **Índice de Massa Corporal**

A partir das medidas de peso e estatura da nutriz, foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC), que representa a relação kg/m^2 (WHO, 1995).

4.5. AVALIAÇÃO DIETÉTICA

Foram aplicados, individualmente, os seguintes inquéritos alimentares: Questionário de Ingestão Habitual (IH), Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA), Recordatório de 24 Horas (R24H) e Lista de Disponibilidade de Alimentos (LDA).

Os instrumentos dietéticos foram aplicados por 5 observadores, sendo dois nutricionistas e três estudantes do curso de Nutrição. Todos os observadores foram previamente treinados para tal finalidade.

4.5.1. Recordatório de 24 horas

O R24H foi aplicado em quatro encontros: 2º, 3º, 4º e 5º.

As voluntárias foram orientadas a relatarem todos os alimentos sólidos e líquidos, com exceção de água, consumidos no dia anterior, informando os horários de consumo e as quantidades em medidas caseiras ou unidades (Serra-Majem & Aracenta-Bartrina, 1995).

4.5.2. Questionário de Ingestão Habitual

O IH foi aplicado uma única vez, no período em que a nutriz permaneceu no hospital, ou seja, no 1º encontro.

Semelhante ao R24H, as voluntárias foram orientadas a relatarem todos os alimentos sólidos e líquidos, com exceção de água, consumidos em sua alimentação habitual, informando os horários de consumo e as quantidades em medidas caseiras ou unidades (Serra-Majem & Aracenta-Bartrina, 1995).

4.5.3. Questionário de Frequência de Consumo Alimentar

O QFCA foi desenvolvido para este estudo e foi elaborado a partir de um levantamento em supermercados, do município de Viçosa, dos principais alimentos ricos em lipídios e que eram consumidos freqüentemente pela população do município.

O formato do instrumento compreende um questionário com 70 itens alimentares. Estabeleceram-se 11 unidades de tempo como categorias de resposta à freqüência do consumo alimentar, sendo: uma vez por dia, duas vezes por dia, de 1 a 6 vezes por semana, quinzenal, mensal e não consome / raramente. O QFCA foi do tipo semi-quantitativo, contendo informações quanto à quantidade consumida dos alimentos listados.

Essas características do instrumento foram estabelecidas com o objetivo de promover maior aproximação do consumo real, possibilitando o relato de alimentos do padrão alimentar da população, da freqüência consumida e da quantidade.

O QFCA foi aplicado em dois momentos do estudo: no 1º encontro o QFCA foi aplicado, com o objetivo de avaliar o consumo alimentar da nutriz no período gestacional, e no 5º encontro, com o objetivo de avaliar o consumo alimentar nos três meses subseqüentes ao parto.

4.5.4. Lista de Disponibilidade de Alimentos

A LDA foi aplicada juntamente com o QFCA, ou seja, no 1º e 5º encontros, considerando a freqüência de compra/aquisição/doação de gêneros alimentícios pela família e considerando sua quantidade. Para o cálculo da quantidade disponível para o consumo bruto per capita diário, foi dividida a quantidade mensal de alimentos pelo número de moradores da casa, maiores que 1 ano, e pelo número de dias do respectivo mês.

O formato da LDA compreende um questionário contendo 8 alimentos que são de difícil avaliação do consumo, tanto dos entrevistados quanto dos entrevistadores. Destes alimentos, 6 são fontes importantes de lipídios (óleo, gordura vegetal parcialmente hidrogenada, banha animal, manteiga, margarina e torresmo) e 2 alimentos (açúcar e sal), que apesar de não serem fontes lipídicas, são frequentemente utilizados para caracterização do consumo alimentar de uma população.

Estabeleceram-se como adequadas, para óleo e açúcar, as quantidades per capita diárias propostas pelo guia da pirâmide alimentar adaptada à população brasileira, sendo 2 colheres de sopa de óleo (16 mL) e açúcar (56g) (Philippi et al, 1999). Para o sal estabeleceu-se como adequada a proposta da I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, sendo 6 g/dia (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005).

4.5.5. Recursos visuais

Foram utilizados como recursos visuais um álbum fotográfico (Zabotto et al., 1996) e medidas caseiras, para auxiliar na estimativa da quantidade de alimentos e das porções relatadas.

Os utensílios para medidas caseiras utilizados foram:

- Caneca
- Colher de Café
- Colher de Chá
- Colher de Servir Grande
- Colher de Servir Média
- Colher de Servir Pequena
- Colher de Sobremesa
- Colher de Sopa
- Colher para sorvete
- Concha Grande
- Concha Pequena
- Copo Americano
- Copo de Massa de Tomate
- Copo de Requeijão
- Copo Duplo
- Copo Duplo Americano
- Escumadeira Grande
- Escumadeira Pequena
- Faca de Mesa Arredondada
- Faca de Mesa Pontaguda
- Garfo de Mesa
- Garfo de Sobremesa
- Pegador de Macarrão
- Pires de Chá
- Prato de Sobremesa
- Prato Fundo
- Prato Raso
- Xícara de Café
- Xícara de Chá

4.5.6. Padronização e conversão das medidas caseiras

A padronização e conversão das quantidades em medidas caseiras e/ou unidades relatadas pelas nutrizes em peso e volume, foram realizadas segundo Barbosa (2006).

Os cálculos dietéticos foram realizados utilizando-se o programa de análises de dietas *DietPro*®, versão 4.0 (Esteves et al, 1998).

4.5.7. Adequação dietética

Analisou-se a partir dos instrumentos dietéticos: energia, proteína, carboidrato, lipídios totais, colesterol e ácidos graxos.

A adequação de energia foi avaliada segundo a *Estimated Energy Requirement* (EER) do Instituto de Medicina (2002). Para avaliar o percentual de proteína, carboidrato, lipídios totais, colesterol, ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados em relação a Valor Energético Total (VET); utilizou-se a proposta I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2005).

4.6. COLETA DO LEITE HUMANO

A coleta do leite humano foi realizada por ordenha manual em todos os 5 encontros, de acordo com as técnicas preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>). Foram retirados até 5 mL de leite humano em cada coleta, de acordo com a disponibilidade materna. O período de cada coleta está descrito no Quadro 1.

O colostro, correspondente ao 1º encontro, foi coletado durante a internação hospitalar, no momento e em quantidade que não prejudicasse a alimentação do recém-nascido.

O leite de transição, correspondente ao 2º encontro, foi coletado no domicílio de cada par mãe-filho ou quando a mãe levava o recém-nascido para a realização do teste do pezinho no Centro de Saúde da Mulher e da Criança do município de Viçosa – MG, após uma mamada com duração entre 10 e 15 minutos.

O leite maduro, encontros 3º, 4º e 5º, foram coletados durante as consultas agendadas no Programa de Apoio à Lactação (PROLAC), após uma mamada com duração entre 10 e 15 minutos.

4.7. ANÁLISES LABORATORIAIS

A análise do teor de gordura e de energia foi realizada no setor de Banco de Leite Humano do Hospital São Sebastião, Viçosa – MG.

A extração e a determinação de ácidos graxos foram realizadas no Laboratório de Análises Bioquímicas e de Alimentos e no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

4.7.1. Análise do teor de gordura e de energia do leite humano

Após a coleta do leite humano foi realizada determinação do teor de creme pela técnica do crematócrito, originalmente descrita por Lucas et al. (1978) e adaptada para a rotina operacional da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>).

Os capilares contendo uma alíquota variável de leite foram centrifugados, por 15 minutos, em uma centrífuga micro-hematócrito da marca Evlab® a 11.500 rotações por minuto. A centrifugação provoca a separação do creme e do soro do leite, em que o creme ocupa a parte posterior do capilar e corresponde à fração de coloração mais densa, enquanto o soro apresenta-se abaixo do creme.

Para mensurar o teor de creme utilizou-se o cremômetro, que consiste de uma régua milimetrada e de uma lupa acoplados a uma lâmpada para leitura capilar. Foi mensurado o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total do produto (coluna de creme e coluna de soro, expressos em mm). Após a mensuração, o leite foi armazenado a -20°C até o momento da extração lipídica.

De posse desses valores, utilizou-se a seguinte fórmula para estimar o percentual de creme do leite (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>):

$$\text{Teor de creme (\%)} = [\text{Coluna de creme (mm)} / \text{Coluna total de produto (mm)}] \times 100$$

A partir do teor de creme pode-se estimar o teor de gordura e o teor de energia, de acordo com as seguintes fórmulas (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>):

$$\text{Teor de gordura (\%)} = [\text{Teor de creme (\%)} - 0,59] / 1,46$$

$$\text{Energia (Kcal/litro)} = 66,8 \times \text{Teor de creme (\%)} + 290$$

O teor de gordura foi convertido para teor de lipídios totais (g/100mL de leite) e o teor de energia foi expresso em kcal/litro de leite. Tais procedimentos foram realizados em duplicatas e utilizaram-se as médias para as análises estatísticas.

4.7.2. Extração de ácidos graxos do leite humano

A utilização dessa metodologia para extração de ácidos graxos se justifica devido à sua rapidez, por requerer pequenas quantidades de amostra e, principalmente, por ser uma técnica que permite uma melhor extração de ácidos graxos do leite humano, com um aumento de 15,8% na

concentração de ácidos graxos, em relação à clássica técnica de Folch (1957) (Lepage & Roy, 1986).

A extração dos ácidos graxos foi feita segundo a metodologia de trans-esterificação direta, proposta por Lepage & Roy (1986), de acordo com o seguinte protocolo:

1) As amostras foram agitadas em Vórtex e 100µL de leite materno foi adicionado em um tubo de vidro;

2) Adicionou-se à amostra 2mL de álcool metílico P.A. (Vetec®) – benzeno (Labsynth®) na proporção de 4:1 e 100µg de padrão interno - C13:0 (Sigma-Aldrich®), previamente pesado e dissolvido à solução de metanol-benzeno;

3) Acrescentou-se uma pequena barra magnética ao tubo;

4) Sob agitação, adicionou-se vagarosamente, por um período de 1 minuto, 200µL de cloreto de acetila (Vetec®);

5) Retirou-se a barra magnética do tubo com o auxílio de uma pinça;

6) Os tubos foram fechados com tampa de rosca, revestida com Teflon®;

7) Os tubos foram levados para o processo de metanólise a 100° C, por um período de 60 minutos;

8) Transcorrido esse tempo, os tubos foram esfriados em água ambiente, por um período de 3 minutos;

9) Adicionou-se vagarosamente 5mL de K₂CO₃ P.A. (Vetec®) a 6% com o objetivo de neutralizar a mistura;

10) Os tubos foram agitados em um agitador de tubos por 30 segundos;

11) Os tubos foram centrifugados a 2.500 rotações por minuto, por um período de 10 minutos;

12) Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur transferiu-se o sobrenadante para um tubo âmbar, o qual foi armazenado a -20°C até o momento da determinação de ácidos graxos.

4.7.3. Determinação e identificação dos ácidos graxos do leite humano

O perfil de ácidos graxos do leite humano foi determinado em cromatografia a gás, utilizando um aparelho Shimadzu Modelo 17A, equipado com um detector de ionização de chama e *software* Class-CG 10 versão 2.0. Os ácidos graxos foram separados em coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polysiloxane) de 100m de comprimento e 0,25mm de diâmetro. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C com aquecimento de 10°C por minuto até atingir a temperatura de 180°C e então aquecimento de 1°C por minuto até atingir a temperatura de 240°C, permanecendo nessa temperatura por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector de 270°C. O gás de arraste foi o hidrogênio (Aga®) com velocidade linear de 14,8 cm/seg. A razão de divisão da amostra no injetor foi de 1:40. Injetou-se 1µL da solução.

Os ácidos graxos das amostras foram identificados por comparação entre o tempo de retenção dos picos gerados com o tempo de retenção dos picos da mistura de 37 ésteres metílicos (C4:0 – C22:6) (Supelco®, Bellefonte, PA, USA), utilizados como padrão externo.

4.7.4. Quantificação dos ácidos graxos do leite humano

A quantificação dos ácidos graxos procedeu-se segundo Satchithanandam et al. (2002), em que se empregam fatores de correção e de conversão para aproximação do teor real, em peso, dos ácidos graxos da amostra. Os passos para a quantificação adotada foram os seguintes:

a) Padronização e calibração do cromatógrafo a gás – cálculo do fator resposta (FR) para cada ácido graxo do padrão externo, em relação às condições do cromatógrafo:

$$FR = (APE) (P_{C13:0}) / (A_{C13:0}) (PPE)$$

Onde: APE = área do pico de cada ácido graxo do padrão externo; $P_{C13:0}$ = peso (mg) de C13:0 do padrão externo; $A_{C13:0}$ = área do pico de C13:0 do padrão externo; PPE = peso (mg) de cada ácido graxo do padrão externo (Quadro 2).

b) Cálculo do teor de cada ácido graxo (TAG) da amostra, correspondendo a ésteres metílicos:

$$TAG = (AA) (PA_{C13:0}) (1,006) / (AA_{C13:0}) (FR)$$

Onde: AA = área do pico de cada ácido graxo da amostra; $PA_{C13:0}$ = peso (mg) do padrão interno (C13:0) adicionado na amostra (neste estudo foi de 100µg); 1,006 = fator de conversão de C13:0 na forma de triacilglicerol para C13:0 na forma de éster metílico; $AA_{C13:0}$ = área do pico do padrão interno (C13:0) adicionado na amostra; FR = fator resposta para cada ácido graxo.

c) Cálculo do teor de cada ácido graxo, ajustado de acordo com os fatores de conversão teóricos (DeVries et al., 1999) (Quadro 2) para cada ácido graxo (TAGFC):

$$TAGFC = (TAG) (FC)$$

Onde: TAG = teor de cada ácido graxo, correspondendo a ésteres metílicos; FC = fator de conversão teórico para cada ácido graxo.

O teor de ácido graxo pode ser expresso em mg / 100µL de leite, porém neste estudo optou-se por expressar o teor de ácidos graxos em mg / 100mg de gordura, ou seja, mg%; como efetuado pela regra de 3 simples, do próximo cálculo:

d) Cálculo do teor de ácido graxo em mg% (TAG mg%):

$$\frac{\text{TAGFC}}{\text{TAG mg\%}} = \frac{\text{PG}}{100 \text{ mg}}$$

Onde: PG = peso (mg) de gordura de cada amostra, obtida pela análise de crematócrito; 100 mg = fração correspondente a 100%; TAGFC = teor de cada ácido graxo, após ajuste com os fatores de conversão teóricos.

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Devido ao tamanho amostral e à assimetria das variáveis optou-se por utilizar testes não paramétrico.

Utilizou-se a *Análise de Variância por postos de Friedman* para acompanhar a evolução dos percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia nos cinco momentos do estudo (1, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto). Para os resultados que apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) complementou-se com o teste de Comparações Múltiplas de *Dunn*.

O teste de *Mann-Whitney* foi aplicado para comparar o nível de escolaridade (≤ 8 e ≥ 8 anos de estudo), peso ao nascer (≤ 2999 e ≥ 3000 g), tipo de parto (cesária ou normal), paridade (primípara ou múltipara) com os percentuais médios de ácidos graxos, lipídios totais e energia do leite humano.

Utilizou-se o teste de *Kruskall Wallis* para relacionar a etnia observada das nutrizes com as médias de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia. Quando os resultados apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) complementou-se com o teste de Comparações Múltiplas de *Dunn*.

O teste de *Spearman* foi utilizado para correlacionar entre si as quantidades médias de ácidos graxos essenciais, de n-6, de n-3, de ácido araquidônico, de ácidos graxos poliinsaturados totais e de ácidos graxos

totais. Esse mesmo teste foi utilizado para correlacionar a idade gestacional, a média de ganho de peso por período de estudo (1 e 7 dias, 7 e 32 dias; 32 e 62 dias e 62 e 91 dias) com as médias de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia.

Foi utilizado o teste de *Spearman* para correlacionar as médias de consumo de ácidos graxos, de lipídios totais, de carboidrato e de energia dos quatro R24H com os percentuais médios desses mesmos parâmetros, exceto de carboidratos, presentes no leite humano. O mesmo teste foi empregado para correlacionar as quantidades médias, em g ou em mL, de alimentos do QFCA e da LDA com as médias de ácidos graxos essenciais, bem como de saturados, de monoinsaturados, de poliinsaturados, de ácidos graxos *trans*, de lipídios totais e de energia presentes no leite.

Para a compilação dos dados utilizou-se o programa *Excell* e para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Sigma Statistic® for Windows* versão 2.03 (Fox et al., 1994). O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 0,05.

Quadro 2: Característica do padrão externo de ésteres metílicos (Supelco®, Bellefonte, PA, USA) e valores dos fatores de conversão para ácidos graxos livres.

Padrão de ésteres metílicos				
Pico	Cadeia Carbônica	Ácido Graxo	Quantidade mg/mL	Fator de Conversão
1	C4:0	Butírico	0,4	ND*
2	C6:0	Capróico	0,4	0,8923
3	C8:0	Caprílico	0,4	0,9114
4	C10:0	Cáprico	0,4	0,9247
5	C11:0	Undecanóico	0,2	ND*
6	C12:0	Láurico	0,4	0,9346
7	C13:0	Tridecanóico	0,2	0,9386(PI)
8	C14:0	Mirístico	0,4	0,9421
9	C14:1	Miristoléico	0,2	0,9416*
10	C15:0	Pentadecanóico	0,2	0,9453
11	C15:1	cis-10-Pentadecenóico	0,2	ND*
12	C16:0	Palmitico	0,6	0,9481
13	C16:1	Palmitoléico	0,2	0,9477
14	C17:0	Hepatadecanóico	0,2	0,9507
15	C17:1	cis-10-Heptadecenóico	0,2	0,9503
16	C18:0	Estearico	0,4	0,9530
17	C18:1 <i>trans</i>	Elaidico	0,2	0,9526
18	C18:1	Oléico	0,4	0,9527
19	C18:2 <i>trans</i>	Linoelaídico	0,2	0,9524*
20	C18:2n-6	Linoléico	0,2	0,9524
21	C20:0	Araquídico	0,4	0,9570
22	C18:3n-6	Gama-Linolênico	0,2	0,9520
23	C20:1	cis-11-Eicosenóico	0,2	0,9568
24	C18:3n-3	Alfa-linolênico	0,2	0,9520
25	C21:0	Heneicosanóico	0,2	ND
26	C20:2	Eicosadienóico	0,2	0,9604**
27	C22:0	Behênico	0,4	0,9604
28	C20:3n-6	Eicosatrienóico	0,2	0,9950**
29	C22:1n-9	Erúico	0,2	ND*
30	C20:3n-3	Eicosatrienóico	0,2	0,9950**
31	C20:4n-6	Araquidônico	0,2	0,9950
32	C23:0	Tricosanóico	0,2	ND*
33	C22:2n-6	Docosadienóico	0,2	0,9633**
34	C24:0	Lignocérico	0,4	0,9633
35	C20:5n-3	Eicosapentaenóico	0,2	0,99***
36	C24:1n-6	Nervônico	0,2	0,9632
37	C22:6n-3	Docosahexaenóico	0,2	0,97***

ND = Não determinado por DeVries et al. (1999); PI = utilizado como padrão interno; * Não utilizado para os cálculos neste estudo, devido a não determinação do ácido graxo; ** Não determinado por DeVries et al. (1999). Neste estudo, utilizou-se o mesmo fator de conversão do ácido graxo mais próximo; *** Determinado por AOCS (1993).

4.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOCS Official Method Ce 1b-89. Sampling and analysis of commercial fats and oils: Fatty acid composition by GLC. 1993.
2. Barbosa KBF. Métodos para avaliação do consumo alimentar e sua relação com marcadores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes do sexo feminino. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2006. 228p.
3. Devries Wj, Kjos I, Groff I, Martin B, Cernohous K, Patel H, Payne M, Leichtweis L, Shay M, Newcomer I. Studies in Improvement of Official Method 996.06. Journal of AOAC International 1999;82(5):1146-1155.
4. Esteves EA, Siqueira AD, Monterio JBR, Ludwig A. Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas. Archivos Lationamericanos de Nutrición. 1998;48:236-241.
5. Fox E, Kuo J, Tilling L, Ulrich C. User's manual – Sigma Stat: Statistical Software for Windows. Germany: Jandel Scientific Software, 1994.
6. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2005;84(Supl I).
7. Jelliffe DB. The assessment if the nutrition status of the community. Geneva, WHO, 1966.
8. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. J Lipid Res 1986;27:114-120.
9. Lucas A, Gibs JAH, Lyster RLJ, Baun JD. Crematocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. Br Med J 1978;1:1018-20.
10. Phillippi ST, Latterza AR, Cruz ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para a escolha dos alimentos. Revista de Nutrição 1999;12(1): 65-80.
11. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano. Disponível em <http://www.redeblh.fiocruz.br/>.

12. Satchithanandam S, Fritsche J, Rader J. Gas chromatographic Analysis of infant formulas for total fatty acids, including *trans* fatty acids. Journal of AOAC International 2002;85(1): 86-94.
13. Serra-Majem L, Aracenta-Bartrina J. Introducción a la epidemiología nutricional. In: SERRA-MAJEM, L.; ARACENTA-BARTRINA, J.; MATAIX-VERDÚ, J. Nutrición y Salud Pública. Barcelona: Masson, 59-65, 1995.
14. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2005;84(Supl 1).
15. World Health Organization. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva, WHO, 1995. (Technical Report Series, 854).
16. Zobotto CB, Viana RPT, Gil MF. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Campinas, SP: UNICAMP; Goiânia: UFG, 1996. 74p.

5) RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

5.1.2. Recrutamento

Dos 272 pares mãe/filho recrutados 92,65% (252 pares) foram atendidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS); 56,99% das gestantes tiveram partos normais e 52,63% eram múltiparas. Do total de filhos 52,63% era do sexo masculino. A idade da mãe no parto, o peso e o comprimento ao nascer estão caracterizados no Quadro 1.

Quadro 1: Idade materna no parto, peso ao nascer (PN) e comprimento ao nascer (CN) dos indivíduos da fase de recrutamento (n=272)

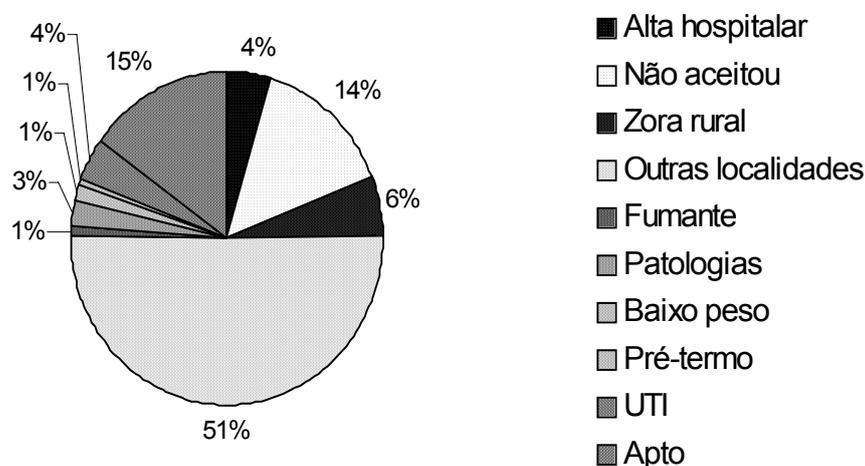
Variáveis	X (DP)	Mediana	Min	Max
Idade materna (anos)	25 (± 6)	24	15	41
Peso ao nascer (g)	3130 (± 521)	3185	2535	3920
Comprimento ao nascer (cm)	49,1 ($\pm 2,6$)	49	46,0	54,5

X: média; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máximo

A Figura 1 caracteriza os indivíduos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão adotados. Observa-se que a maioria dos pares mãe/filho (57%) não participou do estudo por morarem na zona rural de Viçosa ou em outros municípios e 18% dos indivíduos não aceitaram participar ou já haviam recebido alta hospitalar no momento do recrutamento. Aproximadamente 3% das mães não puderam participar do

estudo por apresentar alguma patologia, sendo observadas, principalmente, diabetes, pré-eclâmpsia e distúrbios neurológicos. Cerca de 6% dos recém-nascidos não puderam ser incluídos no estudo por apresentar baixo peso, por ser pré-termo ou por estar retido na Unidade de Tratamento Intensiva. Não foi encontrada nenhuma mãe praticante do vegetarianismo.

Figura 1: Caracterização dos indivíduos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão na fase de recrutamento



5.1.3. Indivíduos estudados

Do total de indivíduos aptos em participar (41 pares mãe/filho) 8 não quiseram continuar ou a mãe não conseguia amamentar ou a criança retornou ao hospital para algum tratamento, o que inviabilizou a permanência desses indivíduos no estudo. Portanto, foram acompanhados 33 pares mãe/filho do pós-parto imediato aos 90 dias de vida da criança.

De acordo com os dados socioeconômicos 78,8% dos pais eram casados ou tinham relação estável. Das 33 mães, 14 (42,4%) não trabalhavam ou eram “do lar” e 16 (48,5%) trabalhavam em emprego formal (36,4%) ou informal (12,1%) e 3 mães (9,1%) estavam desempregadas. A maioria das mães era doméstica (33,3%). Entre os

pais, 29 (87,9%) trabalhavam, sendo 60,6% em emprego formal e 27,3% em emprego informal; 3 pais (9,1%) estavam desempregados e 1 não trabalhava. Os dados sobre escolaridade dos pais, renda, número de dependentes, número de pessoas residentes no domicílio, número de quartos e cômodos estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2: Caracterização das condições socioeconômicas dos pais (n=33)

Variáveis	X (\pm DP)	Mediana	Min	Max
Escolaridade materna (anos)	8,8 (\pm 2,5)	8	3	15
Escolaridade paterna (anos)	8,0 (\pm 3,3)	8	3	17,5
Renda familiar (R\$)	651,60 (\pm 367,10)	600,00	150,00	2500,00
Número de dependentes da renda	4,4 (\pm 1,8)	4	2	10
Número de residentes no domicílio	4,3 (\pm 1,8)	4	2	10
Número de cômodos do domicílio	6,2 (\pm 2,5)	6	2	10
Número de quartos do domicílio	2,4 (\pm 1,1)	2	3	14

X: média; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máximo

Sobre as condições de moradia 100% dos indivíduos tinham abastecimento de água, energia elétrica, coleta pública de lixo e tinham o esgoto como destino dos dejetos.

De acordo com os dados obstétricos e gestacionais, 100% das mães relataram ter feito pelo menos uma consulta de pré-natal e 51,5% das crianças nasceram por parto normal, sendo 19 do sexo feminino (57,6%). A mediana do peso ao nascer foi de 3070 gramas (mínimo: 2535 e máximo: 3920) e a mediana do comprimento ao nascer foi de 49 cm (mínimo: 46 e máximo de 54,5). A média da idade materna no parto foi de 25,4 anos (\pm 6,9), com mediana de 24 anos (mínimo: 15 e máximo: 41). Entre as mães o Índice de Massa Corporal médio, em kg/m^2 , foi de 22,7(\pm 3,5) e mediana de 22,1. Outros dados obstétricos e gestacionais são apresentados no Quadro 3.

Quadro 3: Caracterização dos dados obstétricos e gestacionais (n=33)

Variáveis	X (\pm DP)	Mediana	Min	Max
Número de gestações	1,5 (\pm 0,8)	1	1	4
Número de consultas pré-natal	5,8 (\pm 2,2)	6	1	13
Idade gestacional (semanas)	39,1 (\pm 1,3)	39	37	42
Peso pré-gestacional (kg)	54,3 (\pm 8,3)	54	39	77
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	22,7 (\pm 3,5)	22,1	17,6	31,6
Ganho de peso na gestação (kg)	11,8 (\pm 3,8)	12	4	18

X: média; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máximo

Durante o período estudado observou-se modificação no tipo de aleitamento oferecido aos recém-nascidos (Quadro 4). O principal argumento das mães sobre o não aleitamento exclusivo foi o fato da necessidade de se ausentarem para trabalhar. Entretanto, em todos os encontros foi enfocada a importância do aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de vida.

Quadro 4: Frequência do tipo de aleitamento materno

	AME	AMP	AM
Pós-parto imediato	100% (n=33)	-	-
7 dias	84,8% (n=28)	15,2% (n=5)	-
32 dias	74,2% (n=23)	16,1% (n=5)	9,7% (n=3)
62 dias	77,4% (n=24)	12,9% (n=4)	9,7% (n=3)
91 dias	71,0% (n=22)	9,7% (n=3)	19,3% (n=6)

AME: aleitamento materno exclusivo (apenas leite materno); AMP: aleitamento materno predominante (leite e outros alimentos líquidos); AM: aleitamento misto (leite materno e outros tipos de leite).

5.2. ARTIGO ORIGINAL 1

Composição de ácidos graxos do leite humano relacionado às variáveis maternas e às dos recém-nascidos: um estudo prospectivo em Viçosa, MG.

5.2.1. Resumo

A fração lipídica do leite humano é especialmente importante para o recém-nascido. Este estudo prospectivo analisou os percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia do leite humano de 33 nutrizes do município de Viçosa – MG, ao longo de três meses de lactação (períodos medianos de 1, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto). Relacionou-se o comportamento desses parâmetros frente as variáveis maternas e as do recém-nascido. Encontraram-se diferenças significativamente menores ($p < 0,001$) para C10:0 e C14:0 no período de 1 dia em relação aos outros períodos. O ácido palmítico de 32 dias foi significativamente menor ($p = 0,03$) que no período de 1 dia. Em relação ao ácido palmitoléico os menores percentuais foram observados para o período de 1 dia em relação aos demais períodos ($p = 0,01$). A relação n-6:n-3 e o total de ácidos graxos oriundos da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0), ao longo do estudo, foi de 10 a 14 e de 5,6 a 17,9 mg%; respectivamente. Os percentuais de lipídios totais (LT) e de energia foram significativamente menores ($p = 0,03$ para cada) no período de 1 dia em relação aos períodos de 32 e 91 dias. Fortes correlações ($p < 0,001$) foram verificadas entre o C18:2n-6 com o C18:3n-3, com o somatório de n-3, de AGP e de AG totais. Assim também ocorreu para o conteúdo de C18:3n-3 relacionado ao somatório de n-6, de AGP e de AG totais. Por outro lado, a escolaridade, o peso ao nascer, o tipo de parto, a paridade e idade gestacional não influenciaram os parâmetros analisados no leite humano. A média geral de ganho de peso do recém-nascido correlacionou-se de forma inversa e significativa com os percentuais de C12:0 ($r = -0,468$; $p = 0,03$), C14:0 ($r = -0,062$; $p < 0,001$) e AGS ($r = -0,443$; $p = 0,02$). Esse estudo confirma que o conteúdo lipídico do leite humano sofre modificações ao longo do período de lactação, com tendência a aumentar, possivelmente devido à alimentação e adiposidade materna, uma vez que as variáveis maternas e dos recém-nascidos

estudados não demonstraram efeitos. Destaca-se que na literatura científica há poucos estudos prospectivos como este que avalia a evolução do teor lipídico e de ácidos graxos ao longo dos estágios de amamentação.

Palavras chave: leite humano, ácidos graxos, amamentação, mulheres brasileiras.

5.2.2. Abstract

The lipid fraction of human milk is especially important to newborns. This prospective study analyzed the percentages of fatty acids, lipids, and the energy of human milk of 33 mothers of Viçosa – MG, Brasil, during three months of lactation (median periods of 1, 7, 32, 62, and 91 days after delivery). These parameters were related to maternal and newborn variables. We found little significant differences ($p < 0.001$) for C10:0 and C14:0 for the 1-day period in relation to the other periods. The 32-day palmitic fatty acid content was significantly lower ($p = 0.03$) than that of the 1-day period. In relation to palmitoleic fatty acid, a lower percent content was observed for the 1-day period in relation to those of other periods ($p = 0.01$). The n-6:n-3 ratio and the total *de novo* synthesis (C10:0, C12:0 and C14:0) were from 10 to 14 and from 5.6 and 17.9 mg%, respectively, throughout the study. The percentages of total lipids (LT) and energy were significantly lower ($p = 0.03$ each) in the 1-day period in relation to those of the 32- and 91-day periods. Strong correlations ($p < 0.001$) were observed between C18:2n-6 and C18:3n3, total n-3, total PUFA and total fatty acids. The same occurred for the C18:3n-3 content relative to the total n-6, total PUFA and total fatty acid. On the other hand, the education level, weight at birth, type of delivery, parity, and gestational age did not affect the human milk parameters analyzed significantly. The newborn's average weight gain correlated inversely and significantly with the percentages of C12:0 ($r = -0.468$; $p = 0.03$), C14:0 ($r = -0.062$; $p = < 0.001$) and SFA ($r = -0.443$; $p = 0.02$). This study confirms that the lipid content of human milk varies throughout the lactation period, possibly due to the maternal diet and adiposity while the maternal and the newborn variables studied did not demonstrate any effect. It is highlighted that few prospective studies in the

scientific literature investigate the fatty acid content and its evolution throughout the breast-feeding period as done here.

Keywords: human milk, fatty acid, breast-feeding, Brazilian women.

5.2.3. Introdução

O leite humano é considerado um alimento completo e suficiente para suprir as necessidades nutricionais de recém-nascidos durante os seis primeiros meses de vida (ESPGAN Committee, 1982; Uauy et al., 2001). Biologicamente é ainda considerado um fluido complexo, devido aos seus inúmeros componentes, entre os quais estão presentes macronutrientes, micronutrientes, nutrientes essenciais, substâncias imunocompetentes, além de fatores tróficos ou moduladores de crescimento (Buts, 1998; Jensen, 1999; Euclides, 2000).

Não obstante, a superioridade biológica desse alimento está relacionada ao seu conteúdo lipídico, o qual é a principal fonte de energia para o recém-nascido, contribuindo com 40 a 55% do total de energia consumida pelo recém-nascido em aleitamento materno exclusivo (Jensen, 1999; Koletzko, 2001). Ainda, é responsável por prover, a esses indivíduos, de ácidos graxos essenciais (ácido linoléico – C18:2n-6 e ácido α -linolênico – C18:3n-3), além de seus importantes metabólitos, como o ácido araquidônico – AA (C20:4n-6), o ácido eicosapentaenóico – EPA (C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico – DHA (C22:6n-3) (Koletzko, 2001). Esses ácidos graxos são particularmente interessantes, pois são componentes fundamentais do cérebro, retina e outros tecidos neurais, além de serem precursores de eicosanóides (Uauy et al., 2001). Assim, a presença desses metabólitos no leite está relacionada ao adequado desenvolvimento neurológico e à acuidade visual dos indivíduos (Makrides et al., 1995; Dijck-Brouwer et al., 2005; Hart et al., 2006).

Da mesma forma que veicula ácidos graxos essenciais, o leite humano pode também ser um carreador de ácidos graxos *trans* (AGT) para o recém-nascido, os quais podem competir pelas enzimas de dessaturação dos ácidos graxos essenciais (Scrimgeour et al., 2001). Entre os efeitos adversos desses isômeros, Elias & Innis (2001) observaram uma relação

inversa e significativa entre as concentrações de AGT dos triacilgliceróis plasmáticos de recém-nascidos com o comprimento ao nascer. Segundo Larqué et al. (2000) e comprovado por Assumpção et al. (2004) as concentrações de AGT consumidos pela nutriz estão associadas às concentrações de *trans* encontradas no leite, sendo dose-dependente.

Vale ressaltar que há possibilidade desses isômeros contribuírem para a gênese do processo aterosclerótico devido à deficiência de ácidos essenciais ocasionada pela ação dos AGT, podendo reduzir a fluidez da membrana endotelial (Chiara et al., 2002).

Sabe-se que o conteúdo total de lipídios e a composição de ácidos graxos do leite humano são variáveis. Esse é um tema de investigação em diversas partes do mundo, como na França (Chardigny et al., 1995), em Cuba (Krasevec et al., 2002), na Austrália (Mitoulas et al., 2003), na Espanha (Sala-Vila et al., 2005), na Argentina (Marín et al., 2005) e no Brasil (Cunha et al., 2005; Silva et al., 2005). Diversos fatores contribuem para essa modulação, entre os principais destacam-se o estágio de lactação (Mandel et al., 2005; Yamawaki et al., 2005), o hábito alimentar materno (Hayat et al., 1999; Innis & King, 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Prado et al., 2001; Cunha et al., 2005; Anderson et al., 2005) e a adiposidade materna (Koletzko et al., 2001; Prado et al., 2001). Porém, outros fatores menos estudados, mas relatados por Jensen (1999), também podem contribuir para esse efeito, como a paridade e a idade gestacional.

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a evolução do perfil de ácidos graxos, do percentual de lipídios totais e do conteúdo de energia do leite humano, ao longo de 3 meses, bem como verificar a interferência de variáveis maternas e dos recém-nascidos sobre esses parâmetros.

5.2.4. Metodologia

5.2.4.1. Casuística

O estudo foi realizado nos setores de Alojamento Conjunto e Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) do Hospital São Sebastião, Viçosa – MG.

Foram recrutadas 272 nutrízes no pós-parto imediato e seus respectivos recém-nascidos, no período de 01 de outubro a 10 de dezembro de 2005. Do total de indivíduos, 33 pares mães/filhos (12,1%) encaixaram-se no perfil deste estudo e foram acompanhados até o terceiro mês pós-parto.

Os critérios de exclusão adotados foram: retenção do recém-nascido na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal ou Berçário Intermediário; crianças portadoras de anomalias congênitas; baixo peso ao nascer (< 2500g); mulheres fumantes e mulheres vegetarianas. Da mesma forma, foram adotados critérios de inclusão: ausência de enfermidades crônicas antes ou durante a gestação; idade gestacional entre 37 e 42 semanas; parto único e mulheres residentes na zona urbana de Viçosa.

As mães assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para sua inclusão e a de seu filho na amostra, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa.

5.2.4.2. Coleta de dados

Cada par mãe/filho foi avaliado nos períodos medianos de: pós-parto imediato (1 dia), 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto.

No primeiro encontro (pós-parto imediato) as voluntárias responderam a um questionário contendo as seguintes informações: identificação, caracterização socioeconômica, condições de habitação, dados obstétricos e gestacionais, dados do recém-nascido e dados da nutriz.

Em todos os encontros foram avaliados o peso e o comprimento da criança, de acordo com a metodologia proposta por Jelliffe (1966). A coleta de leite humano foi realizada por ordenha manual em todos os 5 encontros,

de acordo com as técnicas preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>). Foram retirados até 5 mL de leite humano em cada coleta, de acordo com a disponibilidade materna, após uma mamada com duração de aproximadamente 10 minutos, exceto no pós-parto imediato.

5.2.4.3. Análise da quantidade de lipídios totais e de energia do leite humano

Após a coleta do leite humano foi realizada determinação do teor de lipídios totais pela técnica do crematócrito, originalmente descrita por Lucas et al. (1978) e adaptada para a rotina operacional da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>).

Os capilares contendo uma alíquota de leite foram centrifugados, por 15 minutos, em uma centrífuga micro-hematócrito da marca Evlab® a 11.500 rotações por minuto. Foi mensurado o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total do produto (coluna de creme e coluna de soro, expressos em mm) com o auxílio de um cremômetro; que consiste de uma régua milimetrada e de uma lupa acoplados a uma lâmpada para leitura capilar.

De posse desses valores, utilizaram-se fórmulas para estimar as quantidades de lipídios totais e de energia (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>). Os lipídios totais foram expressos em g/dL de leite e o teor de energia foi expresso em kcal/litro de leite. Tais procedimentos foram realizados em duplicata e utilizaram-se as médias para as análises estatísticas. Posteriormente as amostras foram estocadas a -20° C até o momento da extração de ácidos graxos.

5.2.4.4. Extração de ácidos graxos do leite humano

A extração dos ácidos graxos foi realizada segundo a metodologia de trans-esterificação direta, proposta por Lepage & Roy (1986). Primeiramente, as amostras foram agitadas em Vórtex e uma alíquota de 100µL de leite humano foi adicionado em um tubo de vidro. Em seguida, adicionou-se à amostra 2mL de álcool metílico P.A. (Vetec®) e benzeno (Labsynth®) na proporção de 4:1 e 100µg de padrão interno - C13:0

(Sigma-Aldrich®), previamente pesado e dissolvido à solução de metanol-benzeno. Acrescentou-se uma pequena barra magnética e sob agitação, adicionou-se vagarosamente, por um período de 1 minuto, 200µL de cloreto de acetila (Vetec®). Os tubos foram fechados com tampa de rosca, revestida com Teflon® e levados para o processo de metanólise, por 60 minutos a 100°C. Transcorrido esse tempo, os tubos foram resfriados em água a temperatura ambiente por 3 minutos e adicionou-se, vagarosamente, 5mL de K₂CO₃ P.A. (Vetec®) a 6%. Os tubos foram agitados por 30 segundos e conduzidos à centrifugação por 10 minutos a 2500 rotações por minuto. O sobrenadante foi transferido para um tubo âmbar e armazenado a -20°C até o momento da determinação de ácidos graxos.

5.2.4.5. Determinação dos ácidos graxos do leite humano

O perfil de ácidos graxos do leite humano foi determinado por cromatografia a gás (Shimadzu Modelo 17A), equipado com um detector de ionização de chama e *software* Class-CG 10 versão 2.0. Os ácidos graxos foram separados em coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polysiloxane) de 100m e 0,25mm de diâmetro. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C com aquecimento de 10°C por minuto até atingir a temperatura de 180°C e então aquecimento de 1°C por minuto até atingir a temperatura de 240°C, permanecendo nessa temperatura por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector de 270°C. O gás de arraste foi o hidrogênio (Aga®) com velocidade linear de 14,8 cm/seg. A razão de divisão da amostra no injetor foi de 1:40. Injetou-se 1µL da solução.

Os ácidos graxos das amostras foram identificados por comparação entre o tempo de retenção dos picos gerados com o tempo de retenção dos picos da mistura de 37 ésteres metílicos (C4:0 – C22:6) (Supelco®, Bellefonte, PA, USA), utilizados como padrão externo.

A quantificação dos ácidos graxos procedeu-se segundo Satchithanandam et al. (2002), em que se empregam fatores de correção e de conversão para aproximação do teor real, em peso, dos ácidos graxos da amostra. Os percentuais de ácidos graxos foram expressos em mg%.

5.2.4.6. Análise estatística

Devido ao tamanho amostral e à assimetria das variáveis foram aplicados testes não paramétrico.

Utilizou-se a *Análise de Variância por Postos de Friedman* para acompanhar a evolução dos percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia nos cinco momentos do estudo (1, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto). Para os resultados que apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) complementou-se com o teste de Comparações Múltiplas de *Dunn's*.

O teste de *Mann-Whitney* foi aplicado para comparar o nível de escolaridade (\leq a 8 e \geq a 8 anos de estudo), peso ao nascer (\leq a 2999 g e 3000 g), tipo de parto (cesária ou normal), paridade (primípara ou múltipara) com os percentuais médios de ácidos graxos, lipídios totais e energia do leite humano.

Utilizou-se o teste de *Kruskall Wallis* para relacionar a etnia observada das nutrizes com as médias de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia. Quando os resultados apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) complementou-se com o teste de Comparações Múltiplas de *Dunn's*.

O teste de *Spearman* foi utilizado para correlacionar entre si as quantidades médias de ácidos graxos essenciais, de n-6, de n-3, de ácido araquidônico, de ácidos graxos poliinsaturados totais e de ácidos graxos totais. Esse mesmo teste foi utilizado para correlacionar a escolaridade, o peso ao nascer, a idade gestacional, a média de ganho de peso da criança por período de estudo (1 e 7 dias, 7 e 32 dias; 32 e 62 dias e 62 e 91 dias) e a média geral de ganho de peso com as médias de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia.

Para a compilação dos dados utilizou-se o programa *Excell* e para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Sigma Statistic® for Windows* versão 2.03 (Fox et al., 1994). O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 0,05 (5%).

5.2.5. Resultados

Do total de indivíduos recrutados (272 pares mãe/filho) a maioria (57%) não participou do estudo por morarem na zona rural de Viçosa ou em outros municípios e 18% dos indivíduos não aceitaram participar ou já haviam recebido alta hospitalar no momento do recrutamento. Aproximadamente 3% das mães não puderam participar do estudo por apresentar alguma patologia, sendo observadas, principalmente, diabetes, pré-eclampsia e distúrbios neurológicos. Cerca de 6% dos recém-nascidos não puderam ser incluídos no estudo por apresentarem baixo peso, por serem pré-termo ou por estarem retidos na Unidade de Tratamento Intensiva. Não foi encontrada mãe praticante do vegetarianismo.

Do total de indivíduos aptos em participar (41 pares mãe/filho) 8 não quiseram continuar ou a mãe não conseguia amamentar ou a criança retornou ao hospital para algum tratamento, o que inviabilizou a permanência desses indivíduos no estudo.

Em relação aos indivíduos efetivamente acompanhados (n=33), 51,5% das crianças nasceram por parto normal, sendo 19 do sexo feminino (57,6%). Dados obstétricos e gestacionais são apresentados na Tabela 1. Entre as nutrizes, a média de escolaridade materna foi de 8,8 ($\pm 2,5$) anos de estudo e a etnia observada foi de: 36,4% brancas; 33,3% negras e 30,3% pardas.

A Tabela 2 apresenta a média da composição de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia das 156 amostras de leite humano. Os resultados dos percentuais de ácidos graxos foram agrupados de acordo com a presença de insaturação e do número e do tipo de duplas ligações que possui: ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM), AGT e ácidos graxos polinsaturados (AGP). Da mesma forma, agruparam-se o total de ácidos graxos oriundos da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0) e agruparam-se os ácidos graxos da série n-6 e da série n-3, além do somatório de todos os ácidos graxos (AG totais).

Os percentuais de lipídios totais (LT) e de energia foram significativamente menores ($p=0,03$ para cada) no período de 1 dia em relação aos períodos de 32 e 91 dias. As Tabelas 3 e 4 demonstram a

evolução dos ácidos graxos, dos lipídios totais e de energia ao longo do período experimental. Foram encontradas diferenças significativamente menores ($p < 0,001$) para C10:0 e C14:0 no colostro (período de 1 dia), em relação aos demais tempos experimentais. O total da síntese *de novo* para os períodos 1, 7, 32, 62 e 91 dias foi, respectivamente, 5,6; 15,1; 15,6; 17,9 e 17,1 mg%. Também com relação ao colostro o C16:0 do período de 32 dias foi significativamente menor ($p = 0,03$). Para o C16:1 os menores percentuais foram encontrados para o período do colostro em relação aos períodos de 32, 62 e 91 dias ($p = 0,01$). O isômero *trans* identificado em todos os períodos foi o C18:1n9t e em nenhum momento foi determinada a presença de EPA e DHA. Para os períodos de 1, 7, 32, 62 e 91 dias a relação n-6:n-3 comportou-se da seguinte forma: 9,8; 12,5; 13,8; 11,6 e 11,8; respectivamente.

Foram observadas correlações negativas (Tabela 5), mas não significantes entre o somatório de AGT com o ácido α -linolênico e o ácido araquidônico (Tabela 5). Por outro lado, fortes correlações ($r = 0,79$; $p < 0,001$) foram verificadas entre o C18:2n6c com o C18:3n3, com o somatório de n-3 ($r = 0,87$; $p < 0,001$), de AGP ($r = 0,98$; $p < 0,001$) e de AG totais ($r = 0,85$; $p < 0,001$). Assim também, procedeu-se o conteúdo de C18:3n3 relacionado ao somatório de n-6, de AGP e de AG totais. Esses resultados demonstram que estatisticamente não houve competição, entre os ácidos graxos poliinsaturados e AGT, pelas enzimas de dessaturação Δ -5 e Δ -6. Porém não foram encontrados os ácidos graxos EPA e DHA, metabólitos dos ácidos graxos essenciais, no leite humano.

Com relação às variáveis maternas, não foram observadas diferenças significantes entre a escolaridade (≤ 8 e ≥ 8 anos de estudo) (Tabela 6), o peso ao nascer (≤ 2999 e ≥ 3000 g) (Tabela 7), o tipo de parto (normal ou cesária) (Tabela 8) e paridade (primíparas ou multíparas) (Tabela 9). Correlações significantes e negativas foram verificadas entre os ácidos C12:0 ($r = -0,34$; $p < 0,05$) e C20:2 ($r = -0,43$; $p < 0,05$) com o peso ao nascer (Tabela 7).

Em relação à etnia materna (Tabela 10), observou-se diferença significativa do conteúdo de C20:1 entre as mães de etnia branca e aquelas

pardas ($p=0,006$). Assim também, foi observado entre as mães negras e pardas para o C20:2 ($p=0,033$).

Para a média de ganho de peso por período de estudo (Tabelas 11 e 12), verificou-se diferença significativa e negativa ($r=-0,523$; $p=0,03$) somente para o C16:1 quando comparado ao ganho de peso inicial (período de 1 a 7 dias). Entretanto, a média geral de ganho de peso correlacionou-se de forma inversa com os AGS, sendo que apresentaram diferença estatisticamente significativa os percentuais de C12:0 ($r=-0,468$; $p=0,03$), C14:0 ($r=-0,062$; $p<0,001$) e AGS ($r=-0,443$; $p=0,02$). Da mesma forma ocorreu para o C20:2 ($r=-0,437$; $p=0,02$).

Com relação à idade gestacional, não foram observadas correlações significantes ($p>0,05$) com os parâmetros investigados no leite materno (Tabela 11 e 12).

5.2.6. Discussão

Os percentuais médios de ácidos graxos demonstrados neste estudo são semelhantes aos dados de outros estudos realizados em diversas partes do mundo (Chardigny et al., 1995; Genzel-Boroviczény et al., 1997; Innis & King, 1999; Krasevec et al., 2002; Smit et al., 2002; Mitoulas et al., 2003; Sala-Vila et al., 2005; Marín et al., 2005). Foi encontrada uma média de 4,5 g/dL de lipídios totais, os quais são semelhantes aos percentuais do leite maduro (4,87%), descritos por Jensen (1999).

A Tabela 2 demonstra percentuais menores de AGS e AGM (36,84 e 26,20 mg%, respectivamente) em relação aos teores descritos em Cuba (42,54 e 34,25 mol%) (Krasevec et al., 2002), na Austrália (49,94 e 34,29 peso%) (Mitoulas et al., 2003), na Espanha (44,15 e 37,14 peso%) (Sala-Vila et al., 2005) e na Argentina (54,30 e 36,94 peso%) (Marín et al., 2005).

Os AGS são considerados como fonte energética ou como substrato para a síntese de compostos intermediários (Giovannini et al., 1991) e sua ocorrência no leite humano pode ser intensificada quando a alimentação materna é composta por baixos teores de lipídios e rica em carboidratos (Koletzko et al., 2001).

Semelhante aos AGS, os AGM são utilizados pelo organismo humano como fonte energética e participam da estrutura das membranas celulares (Giovannini et al., 1991; Jensen, 1999). No presente estudo, o C18:1n9c foi o que apresentou os maiores percentuais no leite humano, porém esse ácido graxo apresentou menores quantidades em relação aos percentuais descritos na literatura (Chardigny et al., 1995; Genzel-Boroviczény et al., 1997; Innis & King, 1999; Krasevec et al., 2002; Mitoulas et al., 2003; Sala-Vila et al., 2005; Marín et al., 2005). Tal fato pode ser devido a uma menor mobilização, desse ácido graxo, dos estoques corporais maternos para compor os ácidos graxos do leite humano.

De acordo com os percentuais de AGT (Tabela 2), observaram-se percentuais semelhantes aos demonstrados por Mitoulas et al. (2003) (2,19 peso%) e Chardigny et al. (1995) (1,91 peso%). Para esse mesmo parâmetro Innis & King (1999), no Canadá, encontraram quantidades bem mais elevadas (7,10%). Esses isômeros não podem ser produzidos no organismo humano, portanto a ocorrência destes no leite humano pode demonstrar a qualidade da alimentação materna. Assim, as concentrações de *trans* consumidas pela lactante estão associadas às concentrações encontradas no leite, sendo dose-dependente (Larqué et al., 2000).

Em relação ao estudo de Cunha et al. (2005) realizado em Brasília e, especialmente, ao estudo de Silva et al. (2005) realizado no município de Viçosa nossos dados apresentaram uma grande semelhança. No que se refere ao total de ácidos graxos sintetizados pela via *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0) (Tabela 2), a partir da glicose, nossos dados corroboram os estudos destes autores, que encontraram 15,9 peso% (Silva et al., 2005) e aproximadamente 13 peso% (Cunha et al., 2005) de AGS oriundos dessa via. De acordo com a razão n-6:n-3, nossos resultados mantiveram-se entre 10:1 a 14:1, o que demonstra um equilíbrio desses ácidos graxos e dentro do padrão desejável descrito na literatura que é de 5:1 a 15:1. Assim também, foi verificado no estudo de Cunha et al. (2005) e de Silva et al. (2005), que encontraram 10:1 e 14:1; respectivamente.

A similaridade entre esses estudos pode ser devido à característica da alimentação da população brasileira, com alto consumo de gordura e de

açúcar, refletindo a transição nutricional com tendência para a dieta ocidental. Outra semelhança estaria no fato do estudo de Silva et al. (2005) ter sido realizado em uma cidade de baixa renda per capita e a população estudada por Cunha et al. (2005) ter apresentou um baixo poder aquisitivo, apesar de ter sido realizado na capital brasileira, onde a renda per capita é alta. Ainda, a população de nosso estudo apresentou o Índice de Massa Corporal (IMC) médio de 22,7 ($\pm 3,5$) e a média da idade materna foi de 25,4 (6,9) anos (Tabela 1); semelhante ao estudo de Cunha et al., em que a população apresentou IMC de 23,7 ($\pm 3,2$) e idade materna de 23,6 ($\pm 4,5$) anos. Tais similaridades entre esses estudos reforçam a premissa de que as condições socioeconômicas e o estado nutricional das mulheres podem influenciar na composição de ácidos graxos do leite humano.

Os percentuais de AGP e de ácidos graxos essenciais encontrados foram maiores em relação aos demonstrados na literatura. As quantidades de AA foram semelhantes neste estudo em relação aos percentuais descritos na literatura (Chardigny et al., 1995; Genzel-Boroviczény et al., 1997; Innis & King, 1999; Smit et al., 2002; Mitoulas et al., 2003; Sala-Vila et al., 2005; Marín et al., 2005). Assim também ocorreu para os teores de C20:3n6 (Smit et al., 2002; Marín et al., 2005; Silva et al., 2005). Além disso, encontraram-se elevados percentuais de C20:3n3, que normalmente são encontrados em quantidades bem menores em outros estudos (Marín et al., 2005; Cunha et al., 2005) ou são relatados como traços (Silva et al., 2005) ou não são citados (Smit et al., 2002). Os percentuais elevados de AA e de C20:3n3 e a ocorrência de C20:3n6, sugere uma possível metabolização dos ácidos graxos essenciais, oriundos dos estoques corporais maternos. Tal fato pode ser entendido de acordo com o estudo de DeLany et al. (2000), que descreveram uma maior facilidade de oxidação dos ácidos graxos essenciais em relação a outros tipos de ácidos graxos. Entretanto, em nosso estudo não foi detectada a presença de EPA e de DHA, semelhante aos resultados encontrados por Silva et al. (2005) que encontraram quantidades muito pequenas de EPA e 0,14 peso% de DHA, sendo menores que os percentuais descritos por outros autores (Krasevec et al., 2002; Smit et al., 2002; Cunha et al., 2005).

Destaca-se a importância do EPA e do DHA, produtos intermediários derivados do ácido α -linolênico, e do AA, produto intermediário derivado do ácido linoléico, por comporem as células neuronais do cérebro e da retina, por serem precursores de eicosanóides e por participarem de muitas outras funções fisiológicas (Uauy et al., 2001). Assim, esses ácidos estão envolvidos no desenvolvimento neurológico e na acuidade visual dos recém-nascidos (Uauy et al., 2001; Lauritzen et al., 2004; Dijck-Brower et al., 2005; Hart et al., 2006). Soma-se a isso, a essencialidade desses ácidos graxos para recém-nascidos pré-termos, em que a incorporação destes ácidos ocorre no último trimestre de gestação (Al et al., 2000). Dessa forma, a adequada alimentação das gestantes e das nutrizes, com consumo de peixes, de óleos e de vegetais ricos em ácidos graxos essenciais e seus metabólitos, é fundamental para o desenvolvimento do feto e para garantir uma melhor qualidade do leite humano.

As Tabelas 3 e 4 demonstram, de forma geral, que os percentuais de ácidos graxos são menores no colostro (1 dia) e maiores no leite maduro (32, 62 e 91 dias). Ao longo do período de lactação observa-se para o total de AGS um aumento dos percentuais e para os AGM e AGP observa-se uma constância. Apesar de nossos resultados apresentarem, no período do colostro, menores percentuais para C12:0, C14:0, C16:0 e C16:1 em relação a outros estágios de lactação não se pode sugerir uma ascendência do teor de ácidos graxos do leite humano. Possivelmente, isso se deve ao tamanho amostral deste estudo ou uma modulação efetiva da alimentação materna ou, ainda, a uma modificação da composição corporal das nutrizes. Nessa última hipótese, Franceschini (1999), em um estudo prospectivo de 180 dias com 50 mulheres de baixa renda do município de São Paulo, concluiu que a composição corporal no período pós-parto sofre alterações em função da idade, da paridade, do índice de massa corporal pré-gestacional e do estado nutricional durante a gestação. Paralelo a isso, os resultados do presente estudo apresentaram uma evolução do conteúdo de AG totais, LT e de energia. Para os LT e energia os resultados foram maiores que os obtidos por Yamawaki et al. (2005), que também constataram um aumento do conteúdo desses parâmetros ao

longo do período de lactação, sendo menores nos períodos do colostro (2,68 g/dL e 60 kcal/dL) e de 6 a 10 dias pós-parto (2,77 g/dL e 63 kcal/dL) e significativamente maiores ($p < 0,05$) para os períodos de 11 a 20 (3,9 g/dL e 68,5 kcal/dL) e de 21 a 89 dias pós-parto (3,75g/dL e 69,1 kcal/dL). De acordo com os dados de LT relatados por Jensen (1999) os resultados do presente estudo foram também mais expressivos. Contudo, destaca-se a deficiência de estudos prospectivos relacionados ao perfil de ácidos graxos do leite humano, fato esse que dificulta as comparações dos resultados.

Na Tabela 5 (n=156), observou-se correlação negativa, porém não significativa, entre o conteúdo de AGT com os percentuais de ácido α -linolênico e AA. A ação do AGT sobre o ácido α -linolênico pode ser devido ao acaso, uma vez que para o ácido linoléico não foi verificada correlação negativa. O efeito sobre o AA pode ser devido a uma competição pela enzima de dessaturação Δ -5 do ácido α -linolênico (Innis & King, 1999; Larqué et al., 2000; Chiara et al., 2002). As fortes correlações ($r=0,79$, $p < 0,001$) obtidas entre os ácidos graxos essenciais e, da mesma forma as verificadas entre o ácido linoléico e o somatório de n-3 e de AGP ($p < 0,001$) e entre os percentuais de α -linolênico com o somatório de n-6 e de AGP ($p < 0,001$) são de grande importância para a saúde do recém-nascido; pois sabe-se que os ácidos graxos da série n-3, n-6, n-7 e n-9 competem entre si pelas vias metabólicas de alongamento e de dessaturação (Calder, 2001). As altas correlações dos ácidos graxos essenciais com os AG totais podem ser devido à presença desses ácidos graxos na alimentação das nutrizes.

O nível de escolaridade da nutriz e o peso ao nascer podem, de certa forma, afetar o conteúdo lipídico do leite humano. No estudo de Simard et al. (2005) objetivou-se avaliar os fatores que influenciavam a iniciação e a duração do aleitamento materno de 196 mulheres de baixa renda do Canadá. Os resultados encontrados sugerem que mulheres que receberam educação universitária (completa ou não) e aquelas com filhos com baixo peso ao nascer (< 2500 g) tiveram maior probabilidade em iniciar a amamentação mais cedo. Em relação à escolaridade, uma maior formação acadêmica pressupõe uma melhor condição de vida, melhor

estado nutricional materno e melhor entendimento da importância da amamentação. Por outro lado, mães de filhos com baixo peso ao nascer são incentivadas a permanecer no hospital por mais tempo, em relação àquelas com filhos acima de 2500 g, e neste ambiente são mais estimuladas pela equipe de saúde. Soma-se a isso, o fato de que o conteúdo de lipídios e o tipo de ácido graxo do leite materno podem ser influenciados pelo estágio da lactação (Jensen, 1999; Mandel et al., 2005; Yamawaki et al., 2005). Assim, a escolaridade materna e o peso ao nascer podem influenciar na iniciação da amamentação e, conseqüentemente, na composição lipídica do leite humano. Entretanto, os estudos não apresentam a interferência desses fatores. Encontraram-se diferenças significantes entre a divisão em classes da escolaridade materna. Somente para os ácidos graxos monoinsaturados, exceto AGT, foram observadas correlações positivas com a escolaridade. Isso pode ser devido a uma melhor seleção dos alimentos consumidos pelas mães com melhor nível de escolaridade, reduzindo o consumo de alimentos ricos em gordura vegetal parcialmente hidrogenada, como produto de padarias, batatas frita, pastelarias, bolos, biscoitos recheados e “snacks”. Semelhante à escolaridade, não foi observada diferenças significantes entre o peso ao nascer dividido em classes (Tabela 6 e 7).

No estudo de Simard et al. (2005) a multiparidade foi positivamente associada com a duração da amamentação, por outro lado Jensen (1999) relata que a paridade afeta negativamente o conteúdo lipídico do leite humano. Nossos resultados não demonstraram diferenças significantes entre primíparas e múltiparas (Tabela 9). Da mesma forma, não se encontrou diferença estatística entre o tipo do parto (cesária ou normal) (Tabela 8) relacionado ao conteúdo de ácidos graxos, de LT e de energia.

De acordo com a Tabela 10, nossos resultados não permitem sugerir diferenças entre a etnia materna e o perfil de ácidos graxos do leite humano. Porém, como já mencionado Yamawaki et al. (2005), em um estudo realizado com mulheres japonesas, relataram menores teores de LT e de energia no leite materno em relação a este estudo. Além disso, sabe-se que o perfil de ácidos graxos do leite é variável em diversas regiões do mundo e a alimentação materna é um modulador da

composição corporal, fato este que parece ser importante na composição dos ácidos graxos do leite humano.

De acordo com as Tabelas 11 e 12, somente os ácidos graxos C12:0, C14:0 e C20:2 apresentaram correlações significantes ($p < 0,05$) com a média geral de ganho de peso das crianças, sendo essas correlações negativas. Da mesma forma comportou-se o somatório de AGS do leite humano para o mesmo parâmetro analisado. A comparação por período de ganho de peso da criança e a comparação da média geral de ganho de peso com os percentuais de ácidos graxos não apresentou de forma clara seu comportamento, uma vez que teores destes ácidos graxos variaram ao e não apresentaram uma linearidade de aumento, como o ganho de peso ao longo dos 3 primeiros meses. Tal fato pode ser observado analisando o comportamento, no decorrer do estudo, dos ácidos graxos que apresentam os maiores percentuais no leite humano (C16:0, C18:1n9c e C18:2n6c). Segundo Rocquelin et al., (2003) a razão linoléico: α -linolênico, estando entre 5:1 e 15:1, conduz ao ganho de peso de crianças nos 5 primeiros meses de vida. No presente estudo, essa relação do leite humano por período foi de 14,6:1 (colostro); 13,7:1 (7 dias); 13,4:1 (32 dias); 12,3:1 (62 dias) e 12,4:1 (91 dias). Assim, a relação manteve-se nos limites desejáveis para todos os períodos estudados, porém de acordo com média geral (n=156) tal relação foi de 17:1.

Todas as gestantes encontravam-se entre 37 e 42 semanas, como critério de inclusão, de maneira que não se pode determinar uma relação entre a idade gestacional e o comportamento de um tipo específico de ácido graxo (Tabela 11 e 12).

5.2.7. Conclusão

Este estudo confirma uma modificação do conteúdo lipídico e de ácidos graxos ao longo da amamentação. Confrontando os nossos resultados com outros estudos realizados no Brasil encontrou-se uma semelhança nos percentuais de ácidos graxos e de lipídios totais. Tal fato sugere que a alimentação materna pode ser um dos principais fatores que modulam o perfil de ácidos graxos do leite humano. Todavia, novos

estudos devem ser realizados com o objetivo de elucidar o efeito da alimentação.

Os elevados percentuais dos produtos poliinsaturados dos ácidos graxos essenciais, encontrados nas fases de lactação, demonstram uma mobilização destes ácidos graxos em detrimento de outros; com melhor fornecimento de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, metabólitos dos ácidos graxos essenciais, para o recém-nascido. Destaca-se a importância de tal fato, uma vez que o fornecimento de tais ácidos graxos preformados ao lactente contribuirá para o adequado crescimento e desenvolvimento.

As variáveis maternas e dos recém-nascidos estudados não apresentaram de forma clara seus efeitos sobre a composição do leite humano. Dessa forma, parece que a modulação se dá por vários fatores intrínsecos e extrínsecos à nutriz.

Destaca-se a escassez de estudos prospectivos que permitam avaliar a evolução do conteúdo lipídico e de ácidos graxos ao longo dos estágios iniciais da amamentação.

5.2.8. Referências Bibliográficas

1. AI MDM, Van-Houwelingen AC, Hornstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids, pregnancy, and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000;471(Suppl.):285S-91S.
2. Anderson NK, Beerman KA, McGuire MA, Dasgupta N, Griinari JM, Williams J, McGuire MK. Dietary fat type influences total milk fat content in lean women. *J Nutr* 2005;135:416-21.
3. Assumpção RP, Santos FD, Andrade PMM, Barreto GF, Carmo MGT. Effect of variation of trans-fatty acids in lactating rats diet on lipoprotein lipase activity in mammary gland, liver, and adipose tissue. *Nutrition* 2004;20:806-11.
4. Buts JP. Les facteurs trophiques du lait. *Arch Pédiatr* 1998;5:298-306.
5. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutrition Research* 2001;21:309-41.

6. Chardigny JM, Wolff RL, Mager E, Sébédio JL, Martine L, Juanéda P. *Trans* mono- and polyunsaturated fatty acids in human milk. *European Journal of Clinical Nutrition* 1995;49:523-31.
7. Chiara VL, Silva R, Jorge R, Brasil AP. Ácidos graxos trans: doenças cardiovasculares e saúde materno-infantil. *Rev Nutr* 2002;15:341-49.
8. Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-income women from Brasília, Brazil. *Early Human Development* 2005;81:303-311.
9. DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2000;72:905-11.
10. Dijck-Brouwer DAJ, Hadders-Algra M, Bouwstra H, Decsi T, Boehm G, Martini IA, Boersma ER, Muskiet FAJ. Lower fetal status of docosahexaenoic acid, arachidonic acid and essential fatty acids is associated with less favorable neonatal neurological condition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;72:21-28.
11. Elias SL, Innis SM. Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoléico acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. *Am J Clin Nutr* 2001;73:807-14.
12. ESPGAN Committee on Nutrition. Guidelines on infant nutrition. III Recommendations for infant feeding. *Acta Paediatr Scand* 1982;302(Suppl.):1-27.
13. Euclides MP. *Nutrição do Lactente: Base científica para uma alimentação adequada*. 2ª ed. rev. atual. Viçosa: 2000. 488p.
14. Fidler N, Koletzko B. The fatty acid composition of human colostrum. *Eur J Nutr* 2000;39:31-7.
15. Fox E, Kuo J, Tilling L, Ulrich C. *User's manual – Sigma Stat: Statistical Software for Windows*. Germany: Jandel Scientific Software, 1994.
16. Franceschini SCC. *Composição corporal no período pós-parto: estudo prospectivo em mulheres de baixa renda do município de São Paulo*. Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, SP. 1999. 151p.

17. Genzel-Boroviczeny O, Wahle J, Koleztko B. Fatty acid composition of human milk during the 1st month after term and preterm delivery. *Eur J Pediatr* 1997;156(2):142-7.
18. Giovannini M, Agostoni C, Salari PC. The role of lipids in nutrition during the first months of life. *J Inter Med Res* 1991;19:351-62.
19. Hart SL, Boylan LM, Carroll SR, Musick YA, Kuratko C, Border BG, Lampe RM. Brief Report: Newborn behavior differs with docosahexaenoic acid levels in breast milk. *Journal of Pediatric Psychology* 2006;31(2):221-6.
20. Hayat L, Al-Sughayer MA, Afzal M. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999;124(Part B):261-7.
21. Innis SM, King DJ. *Trans* Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential *all-cis* and n-3 fatty acids and determine *trans*, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1999;70:383-90.
22. Jelliffe DB. The assessment of the nutrition status of the community. Geneva, WHO, 1966.
23. Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids* 1999;34(12):1243-71.
24. Koleztko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development* 2001;65(Supl):S3-S18.
25. Krasevec JM, Jones PJ, Cabrera-Hernandez A, Mayer DL, Connor WE. Maternal and infant essential fatty acid status in Havana, Cuba. *Am J Clin Nutr* 2002;76:834-44.
26. Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *J Nutr* 2000;130:847-51.
27. Lauritzen L, Jorgensen MH, Mikkelsen TB, Skovgaard IM, Straarup EM, Olsen SF, Hoy CE, Michaelsen KF. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids* 2004;39(3):195-206.
28. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114-120.

29. Lucas A, Gibs JAH, Lyster RLJ, Baun JD. Crematocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J* 1978;1:1018-20.
30. Makrides M, Neumann M, Simmer K, Peter J, Gibson R. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995;345:1463-68.
31. Marín MC, Sanjurjo A, Rodrigo MA, Alaniz. Long-chain polyunsaturated fatty acids in breast milk in La Plata, Argentina: Relationship with maternal status. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;73:355-60.
32. Mandel D, Lubetzky R, Dollberg S, Barak S, Mimouni FB. Fat and energy contents of expressed human breast milk in prolonged lactation. *Pediatrics* 2005;116:432-5.
33. Mitoulas LR, Gurrin LC, Doherty DA, Sherriff JL, Hartmann PE. Infant intake of fatty acids from human milk over the first year of lactation. *British Journal of Nutrition* 2003;90:979-86.
34. Prado MD, Villalpando S, Elizondo A, Rodríguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* 2001;74:242-7.
35. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano. Disponível em <http://www.redeblh.fiocruz.br/>.
36. Rocquelin G, Tapsoba S, Kiffer J, Eymard-Duvernay S. Human milk fatty acids and growth of infants in Brazzaville (The Congo) and Ouagadougou (Burkina Faso). *Public Health Nutrition* 2003;6(3):241-7.
37. Sala-Vila A, Castellote AI, Rodriguez-Palmero M, Campony C, López-Sabater MC. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition* 2005;21:467-73.
38. Satchithanandam S, Fritsche J, Rader J. Gas chromatographic Analysis of infant formulas for total fatty acids, including *trans* fatty acids. *Journal of AOAC International* 2002;85(1): 86-94.
39. Scrimgeour CM, Macvean A, Fernie CE, Sébédio JL, Riemersma RA. Dietary *trans* α -linolenic acid does not inhibit Δ 5- and Δ 6-desaturation of linoléico acid in man. *Eur J Lipid Sci Technol* 2001;103:341-49.

40. Silva MHL, Silva MTC, Brandão SCC, Gomes JC, Peternelli LA, Franceschini SCC. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chemistry* 2005;93:297-303.
41. Simard I, O'Brien HT, Beaudoin A, Turcotte D, Damant D, Ferland S, Marcotte MJ, Jauvin N, Champoux L. Factors influencing the initiation and duration of breastfeeding among low-income women followed by the Canada prenatal nutrition program in 4 regions of Quebec. *J Hum Lact* 2005;21(3):327-37.
42. Smit EN, Martini IA, Mulder H, Boersma ER, Muskiet FAJ. Estimated biological variation on the mature human milk fatty acid composition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002;66(5-6):549-55.
43. Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 2001;36(9):885-95.
44. 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;19:171-81.

Tabela 1: Caracterização dos pares mãe/filho (n=33)

Variáveis	X (\pm DP)	Mi	Min	Max
<i>Dados dos recém-nascidos</i>				
Peso ao nascer (g)	3136 (\pm 347)	3070	2535	3920
Comprimento ao nascer (cm)	49,5 (\pm 1,9)	49	46,0	54,5
<i>Dados maternos</i>				
Idade materna no parto (anos)	25,4 (\pm 6,9)	24	15	41
Número de gestações	1,5 (\pm 0,8)	1	1	4
Número de consultas pré-natal	5,8 (\pm 2,2)	6	1	13
Idade gestacional (semanas)	39,1 (\pm 1,3)	39	37	42
Peso pré-gestacional (kg)	54,3 (\pm 8,3)	54	39	77
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	22,7 (\pm 3,5)	22,1	17,6	31,6
Ganho de peso na gestação (kg)	11,8 (\pm 3,8)	12	4	18
<i>Condições socioeconômicas</i>				
Escolaridade materna (anos)	8,8 (\pm 2,5)	8	3	15
Renda familiar (R\$)	651,60 (\pm 367,10)	600,00	150,00	2500,00
Número de dependentes da renda	4,4 (\pm 1,8)	4	2	10

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Min: mínimo; Max: Máximo

Tabela 2 – Teores médios de ácidos graxos (mg%), lipídios totais (g/dL) e energia (kcal/L) do leite humano (n=156).

Parâmetro	X (\pm DP)	Mi
C6:0	0,30 (\pm 0,16)	0,27
C10:0	1,46 (\pm 0,41)	1,49
C12:0	5,71 (\pm 1,56)	5,55
C14:0	6,29 (\pm 1,97)	5,86
Total <i>de novo</i>	13,46	12,90
C16:0	15,51 (\pm 3,49)	15,35
C17:0	0,74 (\pm 0,84)	0,74
C18:0	7,64 (\pm 2,17)	7,16
C24:0	0,80 (\pm 0,64)	0,59
Σ AGS	36,84 (\pm8,31)	36,59
C16:1	1,47 (\pm 0,42)	1,45
C18:1n9c	23,78 (\pm 5,56)	23,63
C20:1	0,95 (\pm 0,75)	0,81
Σ AGM	26,20 (\pm5,99)	25,72
Σ AGT	1,73 (\pm1,05)	1,29
C18:2n6c	22,80 (\pm 8,10)	20,95
C18:3n3	1,35 (\pm 0,72)	1,25
C20:2	0,84 (\pm 0,48)	0,78
C20:3n6	0,27 (\pm 0,17)	0,22
C20:3n3	0,44 (\pm 0,51)	0,34
C20:4n6	0,42 (\pm 0,25)	0,37
Σ AGP	25,98 (\pm9,01)	23,69
Σ n-6	23,39 (\pm 8,16)	21,39
Σ n-3	1,79 (\pm 0,84)	1,59
n-6:n-3	13,06	14,89
AG Totais	90,75 (\pm20,81)	88,37
LT	4,50 (\pm 1,40)	4,45
Energia	750,66 (\pm 153,22)	748,80

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ : somatório; Total *de novo*: somatório de C10:0, C12:0 e C14:0; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 3 – Evolução do teor, em mg%, de ácidos graxos saturados e monoinsaturados (*cis* e *trans*) do leite humano em diferentes períodos de lactação.

Parâmetro	1 dia (n=31)		7 dias (n=33)		32 dias (n=31)		62 dias (n=31)		91 dias (n=30)		<i>p</i> **
	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	
C6:0	1,91 (±1,42)	1,91	1,04 (±0,39)	1,09	1,09 (±0,65)	0,95	0,82 (±0,48)	0,70	0,95 (±0,54)	0,75	***
C10:0	ND	ND	1,38 (±0,53)	1,27	1,53 (±0,60)	1,45	1,85 (±1,03)	1,57	1,58 (±0,62)	1,59	0,185
C12:0	1,78 (±1,17)	1,43 ^a	6,68 (±2,87)	5,81 ^b	7,04 (±3,18)	7,13 ^b	8,04 (±3,98)	7,09 ^b	7,56 (±3,42)	7,55 ^b	< 0,001 *
C14:0	3,78 (±1,88)	3,68 ^a	6,99 (±2,88)	6,45 ^b	7,03 (±3,70)	6,74 ^b	7,96 (±3,52)	7,11 ^b	7,92 (±3,82)	7,64 ^b	< 0,001 *
C16:0	17,58 (±9,34)	18,49 ^a	16,84 (±5,20)	16,61 ^{a,b}	14,35 (±5,24)	13,56 ^b	17,49 (±6,38)	17,30 ^{a,b}	15,70 (±6,31)	14,79 ^{a,b}	0,030 *
C18:0	10,88 (±7,18)	9,41	7,37 (±2,95)	7,00	6,79 (±2,84)	6,34	7,98 (±3,32)	6,99	7,41 (±3,01)	6,55	0,126
∑ AGS	33,36 (±18,07)	32,89	39,53 (±10,64)	39,32	37,19 (±13,58)	36,34	43,84 (±16,11)	39,28	40,95 (±15,38)	37,08	0,289
C16:1	1,15 (±0,46)	1,17 ^a	1,72 (±0,73)	1,64 ^{a,b}	1,81 (±0,86)	1,53 ^b	2,05 (±1,06)	1,70 ^b	1,69 (±0,76)	1,59 ^b	0,013 *
C18:1n9c	22,92 (12,64)	25,09	26,04 (±9,25)	25,41	22,64 (±8,03)	21,12	28,16 (±11,23)	24,62	25,99 (±12,04)	23,84	0,165
C20:1	ND	ND	1,05 (±0,68)	0,92	0,99 (±0,63)	0,84	0,99 (±0,59)	0,91	1,11 (±0,78)	0,82	***
∑ AGM	25,92 (±13,68)	27,91	28,03 (±10,04)	27,20	25,06 (±9,02)	22,71	31,04 (±12,26)	26,57	28,50 (±12,85)	26,38	0,277
∑ AGT	2,72 (±2,89)	1,65	1,67 (±1,42)	1,24	1,82 (±1,53)	1,25	2,41 (±2,21)	1,46	1,97 (±1,15)	1,73	0,308

Teste de *Friedman* (**) complementado pelo teste de Comparações Múltiplas de *Dunn's* (*), quando $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$). X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; ∑: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; ND: não determinado; (***): Teste de *Friedman* não realizado.

Tabela 4 – Evolução do teor de ácidos graxos poliinsaturados (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) do leite humano em diferentes períodos de lactação.

Parâmetro	1 dia (n=31)		7 dias (n=33)		32 dias (n=31)		62 dias (n=31)		91 dias (n=30)		p**
	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	
C18:2n6c	21,96 (±13,21)	21,63	24,27 (±9,42)	24,66	21,20 (±8,96)	19,87	26,86 (±19,09)	23,61	26,36 (±14,25)	25,57	0,754
C18:3n3	1,50 (±0,67)	1,33	1,75 (±0,73)	1,69	1,58 (±0,66)	1,45	2,18 (±1,81)	1,85	2,13 (±1,25)	1,85	0,284
C20:2	2,28 (±2,21)	1,73 ^a	0,95 (0,33)	0,89 ^a	0,63 (±0,18)	0,56 ^a	0,89 (±0,53)	0,75 ^a	1,08 (±0,59)	0,89 ^a	0,019 *
C20:3n6	0,94 (±0,46)	0,98	0,84 (±0,36)	0,79	0,58 (±0,22)	0,53	0,59 (±0,21)	0,56	0,51 (±0,14)	0,56	***
C20:3n3	2,37 (±2,26)	1,54	1,18 (±0,82)	0,72	0,97 (±0,56)	0,86	0,76 (±0,40)	0,63	1,26 (±0,86)	0,85	***
C20:4n6	1,38 (±0,80)	1,18	0,92 (±0,45)	0,89	0,61 (±0,19)	0,57	0,73 (±0,23)	0,66	0,71 (±0,20)	0,63	***
∑ AGP	26,17 (±15,18)	27,26	27,92 (±10,66)	28,37	24,01 (±9,67)	21,71	29,94 (±20,84)	27,68	29,40 (±15,60)	28,56	0,752
∑ n-6	22,83 (±13,59)	23,09	25,21 (±9,76)	26,37	21,76 (±8,93)	20,36	27,29 (±19,13)	25,05	26,65 (±14,34)	25,73	0,760
∑ n-3	2,32 (±1,80)	2,04	2,01 (±0,98)	1,76	2,01 (±1,00)	1,77	2,35 (±1,89)	1,98	2,26 (±1,36)	1,99	0,300
AG Totais	88,16 (±49,82)	89,71	97,15 (±32,75)	96,14	88,08 (±33,80)	82,02	107,23 (±51,54)	94,99	100,81 (±44,98)	93,75	0,742
LT	2,97 (±2,23)	2,49 ^a	4,58 (±1,70)	4,24 ^{a,b}	5,52 (±2,64)	5,13 ^b	5,14 (±2,55)	4,58 ^{a,b}	5,64 (±2,49)	5,46 ^b	0,003 *
Energia	618,86 (± 217,23)	571,85 ^a	776,43 (±165,41)	743,39 ^{a,b}	868,14 (±257,28)	829,72 ^b	831,06 (±248,32)	775,98 ^{a,b}	879,19 (±242,55)	862,29 ^b	0,003 *

Teste de *Friedman* (**) complementado pelo teste de Comparações Múltiplas de *Dunn's* (*), quando $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$). X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; ∑: somatório; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais; (***): Teste de *Friedman* não realizado.

Tabela 5 – Correlação entre os percentuais de ácidos graxos essenciais e de ácidos graxos *trans* com os ácidos graxos poliinsaturados e os ácidos graxos totais.

Parâmetro (X de n=156)	C18:3n3 (X de n=156)		C18:2n6c (X de n=156)		AGT (X de n=156)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
C18:2n6c	-	-	-	-	0,057	0,747
C18:3n3	-	-	0,790	< 0,001*	-0,147	0,411
C20:4n6	0,252	0,178	0,203	0,280	-0,162	0,389
∑ n-6	0,800	< 0,001*	-	-	0,053	0,764
∑ n-3	-	-	0,871	< 0,001*	0,010	0,953
∑ AGP	0,777	< 0,001*	0,983	< 0,001*	0,092	0,604
AG Totais	0,586	< 0,001*	0,855	< 0,001*	0,225	0,205

Correlação de *Spearman*; (*) $p < 0,05$. X: média; ∑: somatório; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos.

Tabela 6 – Valores medianos de ácidos graxos (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) relacionados à escolaridade materna, sendo ≤ 8 ou ≥ 8 anos de estudo e correlação entre estes parâmetros..

Parâmetro (X de n=156)	≤ 8 anos (n=17)		≥ 8 anos (n=16)		p^*	r^{**}	p^{**}
	X (\pm DP)	Mi	X (\pm DP)	Mi			
C6:0	0,32 (\pm 0,19)	0,27	0,28 (\pm 0,10)	0,25	0,620	-0,264	0,271
C10:0	1,47 (\pm 0,41)	1,49	1,46 (\pm 0,41)	1,49	1,000	0,053	0,764
C12:0	5,75 (\pm 1,49)	5,44	5,66 (\pm 1,69)	6,42	0,732	0,003	0,984
C14:0	6,48 (\pm 2,17)	5,86	6,10 (\pm 1,78)	6,23	0,759	-0,173	0,332
C16:0	15,96 (\pm 3,63)	15,35	15,03 (\pm 3,38)	15,11	0,871	-0,032	0,855
C18:0	7,90 (\pm 2,62)	7,14	7,36 (\pm 1,62)	7,24	0,900	0,003	0,986
Σ AGS	37,90 (\pm9,19)	36,58	35,72 (\pm7,38)	37,86	0,787	-0,025	0,886
C16:1	1,43 (\pm 0,47)	1,39	1,52 (\pm 0,37)	1,61	0,407	0,187	0,295
C18:1n9c	24,12 (\pm 5,80)	23,63	23,43 (\pm 5,47)	23,43	0,957	0,055	0,758
C20:1	1,09 (\pm 0,99)	0,80	0,81 (\pm 0,36)	0,81	0,851	0,070	0,698
Σ AGM	26,61 (\pm6,41)	25,72	25,76 (\pm5,69)	25,80	1,000	0,075	0,674
Σ AGT	1,99 (\pm1,17)	1,62	1,46 (\pm0,85)	1,03	0,135	-0,029	0,869
C18:2n6c	23,62 (\pm 7,42)	21,78	21,93 (\pm 8,93)	20,42	0,305	-0,166	0,353
C18:3n3	1,40 (\pm 0,74)	1,36	1,31 (\pm 0,72)	1,17	0,528	-0,125	0,485
C20:2	0,93 (\pm 0,54)	0,82	0,75 (\pm 0,39)	0,75	0,407	-0,153	0,393
C20:3n6	0,31 (\pm 0,19)	0,24	0,20 (\pm 0,10)	0,20	0,157	-0,342	0,092
C20:3n3	0,52 (\pm 0,65)	0,38	0,35 (\pm 0,26)	0,32	0,614	-0,177	0,356
C20:4n6	0,50 (\pm 0,27)	0,44	0,33 (\pm 0,21)	0,26	0,071	-0,316	0,087
Σ AGP	27,20 (\pm8,25)	25,83	24,69 (\pm9,84)	23,40	0,288	-0,185	0,299
Σ n-6	24,37 (\pm 7,56)	23,03	22,35 (\pm 8,88)	20,99	0,340	-0,150	0,401
Σ n-3	1,89 (\pm 0,79)	1,87	1,59 (\pm 0,89)	1,39	0,986	-0,300	0,089
AG Totais	93,70 (\pm21,22)	88,67	87,62 (\pm20,57)	86,93	0,505	-0,043	0,808
LT	4,58 (\pm 1,72)	4,69	4,42 (\pm 1,01)	4,37	0,815	-0,068	0,702
Energia	756,64 (\pm 188,07)	786,64	744,30 (\pm 110,76)	747,51	0,843	-0,101	0,574

(*) Teste de *Mann Whitney*, (**) Correlação de *Spearman*, obtida a partir da média do parâmetro comparada ao tempo total (anos) de escolaridade. X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ : somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 7 – Valores medianos de ácidos graxos (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) relacionados ao peso ao nascer (peso insuficiente – ≤ 2999 g ou peso normal – ≥ 3000 g) e correlação entre estes parâmetros.

Parâmetro (X de n=156)	≤ 2999 g (n=14)		≥ 3000 g (n=19)		p^{**}	r^{***}	p^{***}
	X (\pm DP)	Mi	X (\pm DP)	Mi			
C6:0	0,27 (\pm 0,09)	0,26	0,34 (\pm 0,21)	0,28	0,713	0,093	0,699
C10:0	1,55 (\pm 0,44)	1,56	1,40 (\pm 0,38)	1,45	0,466	-0,329	0,060
C12:0	6,11 (\pm 1,43)	6,42	5,41 (\pm 1,63)	4,97	0,196	-0,346	0,048*
C14:0	6,97 (\pm 2,21)	7,38	5,80 (\pm 1,65)	5,63	0,109	-0,331	0,059
C16:0	15,93 (\pm 3,64)	15,40	15,20 (\pm 3,44)	14,58	0,841	-0,078	0,660
C18:0	8,09 (\pm 2,67)	7,36	7,31 (\pm 1,72)	7,14	0,455	-0,200	0,263
Σ AGS	38,91 (\pm9,30)	37,04	35,32 (\pm7,38)	36,52	0,334	-0,256	0,149
C16:1	1,36 (\pm 0,37)	1,25	1,56 (\pm 0,44)	1,62	0,216	0,182	0,309
C18:1n9c	23,70 (\pm 5,47)	23,39	23,85 (\pm 5,79)	23,70	0,985	-0,131	0,465
C20:1	1,23 (\pm 1,06)	0,85	0,76 (\pm 0,34)	0,77	0,328	-0,128	0,484
Σ AGM	26,21 (\pm6,14)	25,88	26,18 (\pm6,04)	25,72	0,971	-0,120	0,501
Σ AGT	1,91 (\pm1,24)	1,64	1,60 (\pm0,90)	1,26	0,500	-0,241	0,175
C18:2n6c	21,92 (\pm 7,31)	20,76	23,45 (\pm 8,78)	21,78	0,597	-0,020	0,908
C18:3n3	1,23 (\pm 0,63)	1,23	1,45 (\pm 0,78)	1,25	0,512	0,078	0,663
C20:2	1,03 (\pm 0,59)	0,82	0,71 (\pm 0,32)	0,66	0,196	-0,435	-0,011*
C20:3n6	0,24 (\pm 0,16)	0,20	0,28 (\pm 0,18/)	0,28	0,739	0,121	0,561
C20:3n3	0,52 (\pm 0,78)	0,21	0,39 (\pm 0,26)	0,39	0,369	0,192	0,314
C20:4n6	0,32 (\pm 0,20)	0,29	0,49 (\pm 0,27)	0,45	0,090	0,274	0,141
Σ AGP	25,04 (\pm8,15)	23,47	26,68 (\pm9,75)	25,83	0,572	-0,012	0,943
Σ n-6	22,36 (\pm 7,29)	21,17	24,15 (\pm 8,86)	23,03	0,512	-0,007	0,964
Σ n-3	1,64 (\pm 0,86)	1,49	1,82 (\pm 0,84)	1,67	0,392	0,049	0,783
AG Totais	92,08 (\pm20,72)	86,81	89,78 (\pm21,39)	89,98	0,841	-0,087	0,624
LT	4,54 (\pm 1,56)	4,48	4,48 (\pm 1,32)	4,45	0,884	0,112	0,531
Energia	757,85 (\pm 167,78)	766,50	745,35 (\pm 146,06)	748,80	0,841	0,096	0,589

(**) Teste de *Mann Whitney*; (***) Correlação de *Spearman*, obtida a partir da média do parâmetro comparada ao peso ao nascer (g); (*) $p < 0,05$. X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ : somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 8 – Valores medianos de ácidos graxos (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) relacionados ao tipo de parto.

Parâmetro (X de n=156)	Normal (n=18)		Cesária (n=15)		p*
	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	
C6:0	0,22 (±0,07)	0,24	0,33 (±0,17)	0,29	0,211
C10:0	1,32 (±0,33)	1,32	1,59 (±0,43)	1,60	0,063
C12:0	5,24 (±1,37)	5,13	6,09 (±1,65)	6,42	0,134
C14:0	5,77 (±1,72)	5,63	6,73 (±2,10)	7,07	0,240
C16:0	15,25 (±3,27)	15,92	15,72 (±3,74)	14,10	0,842
C18:0	7,41 (±1,71)	7,22	7,83 (±2,53)	7,14	0,899
∑ AGS	35,18 (±6,85)	36,58	38,23 (±9,32)	37,04	0,481
C16:1	1,39 (±0,37)	1,25	1,54 (±0,45)	1,55	0,396
C18:1n9c	23,42 (±5,23)	23,70	24,09 (±5,96)	23,39	0,814
C20:1	0,89 (±0,35)	0,92	1,01 (±0,98)	0,74	0,355
∑ AGM	25,70 (±5,49)	25,72	26,61 (±6,50)	25,88	0,814
∑ AGT	1,71 (±0,70)	1,62	1,75 (±1,29)	1,19	0,504
C18:2n6c	22,38 (±6,19)	21,78	23,15 (±9,57)	20,87	0,957
C18:3n3	1,34 (±0,45)	1,25	1,37 (±0,90)	1,23	0,600
C20:2	0,85 (±0,38)	0,81	0,84 (±0,55)	0,77	0,759
C20:3n6	0,31 (±0,20)	0,31	0,22 (±0,13)	0,18	0,415
C20:3n3	0,42 (±0,30)	0,39	0,46 (±0,65)	0,26	0,392
C20:4n6	0,44 (±0,25)	0,38	0,40 (±0,26)	0,37	0,575
∑ AGP	25,63 (±6,68)	25,83	26,27 (±10,76)	23,40	0,759
∑ n-6	23,07 (±6,26)	23,03	23,66 (±9,64)	21,37	0,914
∑ n-3	1,71 (±0,54)	1,61	1,78 (±1,04)	1,43	0,492
AG Totais	88,22 (±17,83)	91,95	92,86 (±23,30)	86,93	0,986
LT	4,96 (±1,44)	5,01	4,12 (±1,28)	4,11	0,100
Energia	795,56 (±163,17)	818,17	713,24 (±137,85)	729,90	0,108

Teste de *Mann Whitney* (*). X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; ∑: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 9 – Valores medianos de ácidos graxos (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) relacionados à paridade.

Parâmetro (X de n=156)	Primípara (n=20)		Múltipara (n=13)		p*
	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	
C6:0	0,28 (±0,08)	0,26	0,34 (±0,25)	0,27	0,966
C10:0	1,47 (±0,38)	1,50	1,46 (±0,47)	1,49	0,782
C12:0	5,55 (±1,37)	5,33	5,95 (±1,86)	6,33	0,495
C14:0	6,13 (±1,81)	5,83	6,55 (±2,25)	6,66	0,726
C16:0	15,28 (±3,14)	15,40	15,86 (±4,08)	14,58	0,985
C18:0	7,41 (±1,37)	7,27	7,99 (±3,07)	7,10	0,699
Σ AGS	35,98 (±6,15)	37,04	38,17 (±11,00)	35,71	0,782
C16:1	1,55 (±0,42)	1,56	1,36 (±0,41)	1,39	0,185
C18:1n9c	24,04 (±5,78)	24,52	23,39 (±5,42)	21,96	0,387
C20:1	0,88 (±0,52)	0,77	1,06 (±1,00)	0,84	0,893
Σ AGM	26,44 (±5,89)	26,59	25,82 (±6,36)	24,61	0,407
Σ AGT	1,71 (±1,05)	1,36	1,77 (±1,09)	1,29	0,754
C18:2n6c	22,61 (±7,83)	20,98	23,11 (±8,83)	20,79	0,782
C18:3n3	1,41 (±0,62)	1,36	1,27 (±0,87)	1,03	0,302
C20:2	0,82 (±0,46)	0,77	0,88 (±0,52)	0,85	0,825
C20:3n6	0,25 (±0,19)	0,20	0,29 (±0,15)	0,31	0,262
C20:3n3	0,31 (±0,25)	0,29	0,61 (±0,70)	0,45	0,079
C20:4n6	0,39 (±0,25)	0,37	0,46 (±0,26)	0,41	0,421
Σ AGP	25,61 (±8,62)	23,60	26,55 (±9,90)	23,94	0,754
Σ n-6	23,13 (±7,88)	21,52	23,79 (±8,88)	20,99	0,927
Σ n-3	1,66 (±0,79)	1,53	1,88 (±0,93)	1,67	0,428
AG Totais	89,75 (±18,11)	88,01	92,30 (±25,13)	88,67	0,897
LT	4,48 (±1,24)	4,46	4,54 (±1,68)	4,30	0,868
Energia	750,11 (±140,34)	764,16	751,49 (±177,24)	746,37	0,956

Teste de *Mann Whitney* (*). X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 10 – Valores medianos de ácidos graxos (mg%), de lipídios totais (g/dL) e de energia (kcal) relacionados à etnia materna observada.

Parâmetro (X de n=156)	Branca (n=12)		Negra (n=11)		Parda (n=10)		p**
	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	X (±DP)	Mi	
C6:0	0,24 (±0,11)	0,22	0,32 (±0,08)	0,27	0,39 (±0,25)	0,26	0,365
C10:0	1,52 (±0,44)	1,55	1,45 (±0,47)	1,43	1,41 (±0,32)	1,41	0,679
C12:0	5,55 (±1,57)	5,73	5,74 (±1,60)	5,55	5,85 (±1,68)	6,04	0,891
C14:0	5,83 (±1,65)	5,82	6,75 (±2,48)	5,86	6,35 (±1,75)	6,28	0,616
C16:0	14,63 (±2,28)	14,92	16,76 (±4,53)	17,82	15,18 (±3,33)	14,13	0,408
C18:0	7,39 (±1,41)	7,11	8,09 (±3,07)	7,32	7,44 (±1,87)	7,12	0,818
∑ AGS	35,06 (5,94)	35,68	39,09 (±11,04)	37,19	36,51 (±7,50)	36,55	0,572
C16:1	1,60 (0,36)	1,71	1,43 (±0,48)	1,25	1,37 (±0,42)	1,35	0,286
C18:1n9c	23,28 (±3,43)	23,39	24,35 (7,33)	24,90	23,77 (±5,93)	21,66	0,901
C20:1	1,02 (0,27)	0,95 ^a	1,27 (±1,20)	0,85 ^{a,b}	0,55 (±0,27)	0,52 ^b	0,006*
∑ AGM	25,90 (±3,68)	25,88	26,97 (±8,03)	26,65	25,69 (±6,19)	23,65	0,801
∑ AGT	1,89 (±0,94)	1,91	1,98 (±1,31)	1,29	1,27 (±0,76)	0,92	0,204
C18:2n6c	22,89 (±7,74)	20,87	21,19 (±5,86)	20,26	24,47 (±10,76)	22,89	0,754
C18:3n3	1,39 (±0,71)	1,21	1,09 (±0,48)	1,03	1,60 (±0,91)	1,48	0,455
C20:2	0,78 (±0,39)	0,80 ^{a,b}	1,13 (±0,59)	0,91 ^a	0,60 (±0,26)	0,61 ^b	0,033*
C20:3n6	0,29 (±0,14)	0,31	0,29 (±0,20)	0,24	0,21 (±0,16)	0,14	0,508
C20:3n3	0,45 (±0,35)	0,39	0,59 (±0,88)	0,29	0,31 (±0,18)	0,21	0,802
C20:4n6	0,33 (±0,21)	0,23	0,48 (±0,33)	0,41	0,45 (±0,17)	0,48	0,325
∑ AGP	26,00 (±8,68)	23,67	24,61 (±6,77)	23,51	27,47 (±11,86)	26,10	0,889
∑ n-6	23,37 (±7,82)	21,18	21,96 (±6,09)	21,39	24,99 (±10,74)	23,51	0,840
∑ n-3	1,84 (±0,87)	1,56	1,51 (±0,62)	1,59	1,88 (±1,02)	1,56	0,779
AG Totais	88,86 (±15,78)	90,16	92,64 (±24,49)	89,98	90,95 (±23,67)	87,25	0,993
LT	4,22 (±1,13)	4,38	4,96 (±1,71)	5,01	4,35 (±1,34)	4,05	0,452
Energia	724,21 (±135,78)	756,91	794,74 (±184,02)	818,17	733,89 (±140,31)	709,26	0,509

Teste de *Kruskall Wallis* (**) complementado pelo teste de Comparações Múltiplas de *Dunn's* (*), quando $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$). X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; ∑: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 11 – Correlação entre a média de ganho de peso dos recém-nascidos e a idade gestacional com os percentuais de ácidos graxos saturados e monoinsaturados (*cis* e *trans*) em diferentes períodos de lactação.

Parâmetro (X de n=156)	Ganho de peso por período										Idade Gestacional (n =33)	
	1d–7d (n=33)		7d–32d (n=31)		32d–62d (n=29)		62d–91d (n=29)		Média Geral (X de n=149)		r	p
	r	p	r	p	r	P	r	p	r	p		
C10:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,054	0,831	-0,278	0,245
C12:0	-	-	-0,106	0,583	0,046	0,814	-0,075	0,707	-0,468	0,014*	-0,035	0,840
C14:0	0,019	0,919	-0,270	0,140	-0,089	0,641	-0,217	0,264	-0,062	< 0,001*	-0,025	0,888
C16:0	-0,101	0,585	-0,110	0,554	0,166	0,388	0,006	0,974	-0,241	0,223	0,035	0,843
C18:0	-0,188	0,310	-0,200	0,278	0,162	0,399	-0,241	0,215	-0,143	0,473	-0,128	0,475
Σ AGS	-0,116	0,531	-0,243	0,186	0,117	0,543	-0,166	0,395	-0,443	0,020*	-0,059	0,742
C16:1	-0,523	0,030*	0,038	0,841	-0,101	0,607	-0,001	0,992	0,002	0,989	0,132	0,462
C18:1n9c	0,028	0,877	0,096	0,603	0,033	0,861	0,017	0,928	-0,202	0,309	-0,109	0,545
C20:1	-0,279	0,175	-0,314	0,564	0,147	0,566	-0,006	0,977	0,084	0,678	0,096	0,597
Σ AGM	-0,025	0,892	0,105	0,570	0,016	0,930	0,039	0,840	-0,195	0,325	-0,081	0,652
Σ AGT	0,218	0,209	-0,022	0,916	0,165	0,447	-0,345	0,097	-0,009	0,962	0,250	0,159

Correlação de *Spearman*; (*) $p < 0,05$. Σ: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*.

Tabela 12 – Correlação entre o ganho de peso dos recém-nascidos e a idade gestacional com os percentuais de ácidos graxos poliinsaturados, de lipídios totais e de energia em diferentes períodos de lactação.

Parâmetro (X de n=156)	Ganho de peso por período										Idade Gestacional	
	1d–7d (n=33)		7d–32d (n=31)		32d–62d (n=29)		62d–91d (n=29)		Média Geral (n=149)		(n=33)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
C18:2n6c	-0,060	0,743	-0,187	0,310	0,016	0,930	0,287	0,137	0,058	0,769	-0,014	0,934
C18:3n3	0,069	0,817	-0,237	0,262	0,043	0,844	0,334	0,147	0,144	0,470	-0,097	0,588
C20:2	-0,090	0,670	-0,392	0,106	0,339	0,225	-0,260	0,356	-0,437	0,023*	0,005	0,977
C20:3n6	-	-	-0,214	0,578	0,500	1,000	-	-	0,057	0,809	0,292	0,154
C20:3n3	-	-	-	-	-	-	-	-	0,104	0,633	0,250	0,188
C20:4n6	-0,333	0,356	0,095	0,755	0,571	0,150	-0,500	1,000	0,187	0,377	0,056	0,764
∑ AGP	-0,083	0,635	-0,216	0,241	0,045	0,813	0,296	0,125	0,047	0,811	-0,008	0,961
∑ n-6	-0,067	0,715	-0,209	0,257	0,033	0,859	0,301	0,118	0,066	0,739	-0,014	0,936
∑ n-3	0,081	0,720	-0,182	0,379	0,108	0,620	0,394	0,076	0,056	0,776	-0,056	0,754
AG Totais	-0,166	0,369	-0,163	0,379	0,075	0,695	0,046	0,812	-0,139	0,485	-0,003	0,984
LT	0,134	0,471	0,095	0,606	-0,037	0,843	0,023	0,906	0,011	0,953	0,272	0,125
Energia	0,134	0,471	0,095	0,606	-0,032	0,865	0,023	0,906	0,057	0,776	-0,003	0,984

Correlação de *Spearman*; (*) $p < 0,05$. ∑: somatório; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

5.3. ARTIGO ORIGINAL 2

Influência da alimentação materna sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano de mulheres de baixa renda de Viçosa – MG

5.3.1. Resumo

A correta avaliação do conteúdo lipídico e do perfil de ácidos graxos consumidos pelas nutrizes é de grande importância para os estudos que avaliam a composição desses mesmos parâmetros no leite humano. No presente estudo, analisou-se os percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia do leite humano de 33 nutrizes do município de Viçosa – MG, ao longo de três meses de lactação (períodos medianos de 1, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto). Avaliou-se a correlação entre com o consumo lipídico das mulheres, avaliado por meio de inquéritos dietéticos: Recordatório de 24 Horas (R24H), aplicado aos 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto; Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA) e Lista de Disponibilidade de Alimentos (LDA) que foram aplicados aos 91 dias pós-parto, relativos ao período estudado. Observou-se que as nutrizes estudadas apresentaram baixa renda (R\$ 652,00 ± R\$ 367,00) e baixa escolaridade (8,8 ±2,5 anos de estudo). Do total de amostras de leite humano coletado, ou seja, em todos os tempos (n=156) verificou-se uma semelhança com os resultados encontrados em outros estudos, principalmente com de estudos brasileiros. Não foram encontradas correlações significantes entre os parâmetros investigados pelo R24H com os percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia do leite humano. De acordo com o QFCA e com a LDA, o consumo de leite de vaca integral pela nutriz correlacionou-se positivamente ($p < 0,05$) com o total de ácidos graxos saturados (AGS), de monoinsaturados, de poliinsaturados, de ácidos graxos totais e com os percentuais de C18:2n6 do leite humano. Semelhante a isso, porém de forma inversa, correlacionou-se o consumo de margarina, de manteiga e de carne suína com os percentuais de ácidos graxos poliinsaturados do leite humano. Boas correlações negativas foram observadas entre a ingestão de carne suína com os percentuais de C18:2n-6 ($r = -0,630$, $p = -0,035$). O consumo de peixe, apesar de ter sido equiparável ao consumo per capita diário de

carne bovina, não apresentou alterações relevantes nos parâmetros estudados do leite humano. O consumo de leite de vaca provocou alterações positivas no perfil de ácidos graxos do leite humano. Esse mesmo fato não foi observado para o consumo de carne suína. Ressalta-se a ausência dos ácidos graxos EPA e DHA nas amostras de leite analisadas, o que sugere uma má adequação da alimentação das nutrizes em relação a esses componentes alimentares. Além disso, observou-se que os inquéritos: QFCA e LDA foram mais eficazes para a análise da interferência alimentar materna sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano.

Palavras chave: leite humano, ácidos graxos, amamentação, mulheres brasileiras, hábitos alimentares, consumo de alimentos.

5.3.2. Abstract

The appropriate evaluation of the lipid content and the fatty acid profile of maternal diet have great importance for the investigation of their composition in human milk. The present study analyzed the fatty acid and lipid contents and the energy of the human milk of 33 women of Viçosa – MG, Brazil, during three months of lactation (median periods of 1, 7, 32, 62, and 91 days after delivery) and correlated them with the mothers' lipid consumption evaluated by means of dietary inquiries, 24-hour Dietary Recall (R24H), at 7, 32, 62, and 91 days after delivery, Questionnaire of Frequency of Food Consumption (QFFC), and Food Availability List (FAL) at 91 days after delivery relative to the studied period. It was observed that the women studied had low income (R\$ 652.00 ± R\$ 367.00) and low education level (8.8 ± 2.5 years of study). A similarity was observed between the human milk samples collected (n = 156) and the results of other studies, mainly Brazilian ones. We did not find significant correlations between the R24H parameters investigated and the fatty acid and lipid percentages and the energy of human milk. According to the QFFC and the FAL results, the maternal consumption of cow whole milk correlated positively ($p < 0.05$) with the total saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA), and total fatty acids and with the

percentages of C18:2n-6 of human milk. However, the consumption of margarine, butter, and pork correlated inversely with the percentages of PUFA in human milk. Strong negative correlations were observed for pork consumption and the percentages of C18:2n-6 ($r = -0.630$; $p = -0.035$). Although the daily fish consumption was similar to the daily per capita consumption of beef, it did not affect the human milk parameters studied. These results demonstrated that the daily consumption of cow whole milk affects the fatty acid profile of human milk positively, which was not observed for the daily consumption of pork. Furthermore, it was observed that the QFFC and FAL inquiries were more efficient in the analysis of the effects of maternal diet on the fatty acid profile of human milk.

Keywords: human milk, fatty acid, breast-feeding, Brazilian women, dietary habits, food consumption.

5.3.3. Introdução

O adequado crescimento e desenvolvimento do recém-nascido parecem ser dependentes da qualidade da alimentação materna. Vários estudos demonstram a interferência da alimentação sobre a composição lipídica do leite humano (Hayat et al., 1999; Innis & King, 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Prado et al., 2001; Anderson et al., 2005; Cunha et al., 2005; Silva et al., 2005). Os ácidos graxos poliinsaturados (AGP), especialmente os ácidos graxos essenciais (ácido linoléico – C18:2n-6 e ácido α -linolênico – C18:3n-3) e os metabólitos destes, como o ácido araquidônico – AA (C20:4n-6), o ácido eicosapentênico – EPA (C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico – DHA (C22:6n-3) estão envolvidos com o desenvolvimento neurológico e com a acuidade visual dos recém-nascidos (Uauy et al., 2001; Lauritzen et al., 2004; Dijck-Brower et al., 2005; Hart et al., 2006). Além disso, o leite humano é importante por fornecer ácidos graxos saturados, que podem ser utilizados como fonte energética para os recém-nascidos (Giovannini et al., 1991) e, também, ácidos graxos monoinsaturados, utilizados como fonte energética e para a composição das membranas celulares (Giovannini et al., 1991; Jensen, 1999). Entretanto, os ácidos graxos *trans* (AGT) podem ser veiculados também

para o recém-nascido via leite humano, podendo inibir a biossíntese de EPA, DHA e AA, devido à competição pelas enzimas de dessaturação dos ácidos graxos essenciais (Scrimgeour et al., 2001).

Assim, são de grande interesse estudos que verifiquem a composição lipídica do leite materno, e sua relação com a ingestão de lipídios por meio dos inquéritos alimentares. Porém, é inevitável que uma aplicação de instrumentos dietéticos seja realizada sem erros. Particularmente o Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA) e o Recordatório de 24 Horas (R24H) estão sujeitos a erros inerentes ao indivíduo e ao planejamento, aplicação e análise dos dados (Bingham, 1987; Tarasuk et al., 1992; Beaton, 1994; Slater et al., 2004; Costa et al., 2006b). Não obstante, o método mais adequado para avaliação dietética seria a pesagem de alimentos, porém é um método de maior custo, mais invasivo e requer um maior tempo para sua aplicação, em relação ao QFCA e R24H (Bingham, 1987). Devido a isso, o QFCA e o R24H são os tipos de inquéritos alimentares mais utilizados em pesquisas científicas (Buzzard, 1998; McPhearson et al., 2000; Ferro-Luzzi, 2002).

A proposta deste estudo foi investigar o conteúdo lipídico, de energia e a composição de ácidos graxos do leite humano de nutrizes do município de Viçosa – MG e correlacionar esses parâmetros com a ingestão alimentar materna.

5.3.4. Metodologia

5.3.4.1. Casuística

O estudo foi realizado nos setores de “Alojamento Conjunto” e “Programa de Apoio à Lactação” (PROLAC) do Hospital São Sebastião, Viçosa – MG.

Foram recrutadas 272 nutrizes no pós-parto imediato e seus respectivos recém-nascidos, no período de 01 de outubro a 10 de dezembro de 2005. Do total de indivíduos, 33 pares mães/filhos (12,1%) foram acompanhados até o terceiro mês pós-parto.

Os critérios de exclusão adotados foram: retenção do recém-nascido na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal ou Berçário Intermediário;

crianças portadoras de anomalias congênitas; baixo peso ao nascer (< 2500g); mulheres fumantes e mulheres vegetarianas. Da mesma forma, foram adotados critérios de inclusão, a saber: ausência de enfermidades crônicas antes ou durante a gestação; idade gestacional entre 37 e 42 semanas; parto único e mulheres residentes na zona urbana de Viçosa.

As voluntárias assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para sua inclusão e a de seu filho na amostra, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal de Viçosa.

5.3.4.2. Coleta de dados

Cada par mãe/filho foi avaliado nos períodos: pós-parto imediato, 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto.

No primeiro encontro (pós-parto imediato) as voluntárias responderam a um questionário contendo as seguintes informações: identificação, caracterização socioeconômica, condições de habitação, dados obstétricos e gestacionais e dados do recém-nascido.

A coleta de leite foi realizada por ordenha manual em todos os cinco encontros, de acordo com as técnicas preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>). Foram retirados até 5 mL de leite humano em cada coleta, de acordo com a disponibilidade materna, após uma mamada com duração de aproximadamente 10 a 15 minutos, exceto no pós-parto imediato, em que a coleta de leite humano foi feita de acordo com a disponibilidade materna.

5.3.4.3. Análise dietética

Nos períodos de 7, 32, 62 e 91 dias pós-parto foram aplicados o Recordatório de 24 Horas (R24H). As nutrizes foram orientadas a relatarem todos os alimentos sólidos e líquidos, com exceção de água, consumidos no dia anterior, informando os horários de consumo e as quantidades em medidas caseiras ou em unidades (Serra-Majem & Aracenta-Bartrina, 1995). Ainda, no período de 91 dias foi aplicado um Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA) do tipo semi-quantitativo relativo ao período recente de consumo alimentar, composto

por 71 itens sobre o consumo semanal de alimentos ricos em lipídios e que são habitualmente consumidos pela população estudada. Para os cálculos, foi dividido o consumo pelo número de dias relatados (uma vez ao dia, duas vezes ao dia, 3, 4, 5, 6 vezes por semana), dessa excluindo os alimentos de consumo quinzenal e mensal.

Juntamente, com o QFCA foi aplicada uma Lista de Disponibilidade de Alimentos (LDA), considerando a frequência de compra/aquisição/doação de gêneros alimentícios pela família e considerando sua quantidade. Para o cálculo da quantidade disponível para o consumo bruto per capita diário, foi dividida a quantidade mensal de alimentos pelo número de moradores da casa, maiores do que 1 ano, e pelo número de dias do respectivo mês. O formato da LDA compreende um questionário contendo seis alimentos, ricos em lipídios, sal e açúcar que são de difícil avaliação do consumo, tanto dos entrevistados quanto dos entrevistadores.

Foram utilizados como recursos visuais um álbum fotográfico (Zabotto et al., 1996) e medidas caseiras, para auxiliar na estimativa da quantidade de alimentos e das porções relatadas. A padronização e conversão das quantidades em medidas caseiras e/ou unidades relatadas pelas nutrízes em peso e volume, foram realizadas segundo Barbosa (2006).

Os cálculos dietéticos foram realizados utilizando-se o programa de análises de dietas *DietPro*®, versão 4.0 (Esteves et al, 1998).

5.3.4.4. Análise da quantidade de lipídios totais e de energia do leite humano

Após a coleta do leite humano foi realizada determinação do teor de lipídios totais pela técnica do crematócrito, originalmente descrita por Lucas et al. (1978) e adaptada para a rotina operacional da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>).

Os capilares contendo uma alíquota de leite foram centrifugados, por 15 minutos, em uma centrífuga micro-hematócrito da marca Evlab® a 11.500 rotações por minuto. Foi mensurado o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total do produto (coluna de creme e coluna de

soro, expressos em mm) com o auxílio de um cremômetro; que consiste de uma régua milimetrada e de uma lupa acoplados a uma lâmpada para leitura capilar.

De posse desses valores, utilizaram-se fórmulas para estimar os percentuais lipídios totais e de energia (<http://www.redeblh.fiocruz.br/>). Os lipídios totais foram expressos em g/dL de leite e o teor de energia foi expresso em kcal/litro de leite. Tais procedimentos foram realizados em duplicatas e utilizaram-se as médias para as análises estatísticas. Posteriormente, as amostras foram estocadas a -20° C até o momento da extração de ácidos graxos.

5.3.4.5. Extração de ácidos graxos do leite humano

A extração dos ácidos graxos foi feita segundo a metodologia de trans-esterificação direta, proposta por Lepage & Roy (1986). Primeiramente, as amostras foram agitadas em Vórtex e uma alíquota de 100µL de leite humano foi adicionado em um tubo de vidro. Após, adicionou-se à amostra 2mL de álcool metílico P.A. (Vetec®) – benzeno (Labsynth®) na proporção de 4:1 e 100µg de padrão interno - C13:0 (Sigma-Aldrich®), previamente pesado e dissolvido à solução de metanol-benzeno. Acrescentou-se uma pequena barra magnética e sob agitação, adicionou-se vagarosamente, por um período de 1 minuto, 200µL de cloreto de acetila P.S. (Vetec®). Os tubos foram fechados com tampa de rosca, revestida com Teflon® e levados para o processo de metanólise, por um período de 60 minutos a 100°C. Transcorrido esse tempo, os tubos foram esfriados em água ambiente, por um período de 3 minutos e adicionou-se, vagarosamente, 5mL de K₂CO₃ P.A. (Vetec®) a 6%. Os tubos foram agitados por 30 segundos e conduzidos à centrifugação por 10 minutos a 2500 rotações por minuto. O sobrenadante foi transferido para um tubo âmbar e armazenado a -20°C até o momento da determinação de ácidos graxos.

5.3.4.6. Determinação dos ácidos graxos do leite humano

O perfil de ácidos graxos do leite humano foi determinado por cromatografia a gás (Shimadzu Modelo 17A), equipado com um detector

de ionização de chama e *software* Class-CG 10 versão 2.0. Os ácidos graxos foram separados em coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polysiloxane) de 100m e 0,25mm de diâmetro. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C com aquecimento de 10°C por minuto até atingir a temperatura de 180°C e então aquecimento de 1°C por minuto até atingir a temperatura de 240°C, permanecendo nessa temperatura por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector de 270°C. O gás de arraste foi o hidrogênio (Aga®) com velocidade linear de 14,8 cm/seg. A razão de divisão da amostra no injetor foi de 1:40. Injetou-se 1µL da solução.

Os ácidos graxos das amostras foram identificados por comparação entre o tempo de retenção dos picos gerados com o tempo de retenção dos picos da mistura de 37 ésteres metílicos (C4:0 – C22:6) (189-19/Supelco®, Bellefonte, PA, USA), utilizados como padrão externo.

A quantificação dos ácidos graxos procedeu-se segundo Satchithanandam et al. (2002), em que se empregam fatores de correção e de conversão para aproximação do teor real, em peso, dos ácidos graxos da amostra. Os percentuais de ácidos graxos foram expressos em mg%.

5.3.4.7. Análise estatística

Foi utilizado o teste *Spearman* para correlacionar as médias de consumo de ácidos graxos, de lipídios totais, de carboidrato e de energia dos quatro R24H com os percentuais médios desses mesmos parâmetros, exceto de carboidratos, presentes no leite humano. O mesmo teste foi empregado para correlacionar as quantidades médias, em gramas ou em mililitros, de alimentos do QFCA e da LDA com as médias de ácidos graxos essenciais, bem como de saturados, de monoinsaturados, de poliinsaturados, de ácidos graxos *trans*, de lipídios totais e de energia presentes no leite.

Para a compilação dos dados utilizou-se o programa *Excell* e para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Sigma Statistic® for Windows* versão 2.03 (Fox et al., 1994). O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 0,05 (5%).

5.3.5. Resultados

Foram recrutados 272 pares mãe/filho, porém 57% não puderam participar do estudo por residirem na zona rural ou fora do município de Viçosa e 18% não quiseram participar ou já haviam recebido alta hospitalar no momento da entrevista. Além disso, foram excluídos 3% das mães, por apresentarem algum tipo de patologia, e 6% dos recém-nascidos, por apresentar baixo peso ao nascer, por ser pré-termo ou por estar retido na Unidade de Tratamento Intensivo. Não se encontrou mãe praticante do vegetarianismo.

Do total de indivíduos aptos a participar, 8 mães não quiseram continuar ou a mãe não conseguia amamentar ou a criança retornou ao hospital para algum tipo de tratamento. Portanto, foram acompanhados 33 pares mãe/filho do pós-parto imediato até terceiro mês de vida da criança.

A Tabela 1 apresenta o perfil socioeconômico, obstétrico e gestacional dos indivíduos acompanhados. Observa-se uma baixa escolaridade entre as mulheres, baixa renda familiar e elevado número de dependentes da renda, caracterizando uma população de baixo nível socioeconômico.

A composição de 156 amostras de leite humano é apresentada na Tabela 2. Os resultados dos percentuais de ácidos graxos foram agrupados de acordo com número de insaturações e do número e do tipo de duplas ligações que possui: AGS, AGM, AGT e AGP. Da mesma forma, agruparam-se o total de ácidos graxos oriundos da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0) e os ácidos graxos da série n-6 e da série n-3, além do somatório de todos os ácidos graxos (AG totais).

As Tabelas 3 e 4 apresentam, respectivamente, as quantidades médias de consumo diário per capita de alimentos ricos em lipídios, relatados no QFCA e na LDA, e os percentuais de ácidos graxos, de energia, de lipídios totais e a relação n-6:n-3 obtidos a partir da média dos quatro R24H. Observa-se na Tabela 3 um baixo consumo de azeite de oliva e um alto consumo de óleo de soja. Entretanto, verificam-se equiparáveis consumos de carne bovina e de peixe pelas nutrizes. A Tabela 4 apresenta os percentuais de EPA e de DHA, apesar desses ácidos graxos não terem sido utilizados para a análise estatística, uma vez

que tais ácidos graxos não foram identificados nas amostras de leite estudadas.

De acordo com a Tabela 5, não foram observadas correlações significantes entre os ácidos graxos do leite humano e os ácidos graxos da alimentação materna, obtidos a partir da média dos quatro R24H; bem como, entre o total da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0) do leite humano com a média de consumo de carboidrato. Porém, foram verificadas correlações negativas e não significantes ($p>0,05$) entre os seguintes parâmetros do leite humano e da alimentação materna: C6:0, ácidos graxos essenciais, C20:4n6 e total de ácidos graxos poliinsaturados.

Correlacionou-se, na Tabela 6, o consumo diário per capita de alimentos ricos em lipídios, relatados no QFCA, com os percentuais de ácidos graxos (AGS, AGM, AGP, AGT e AG totais) e de lipídios totais do leite humano. Correlações positivas e significantes ($p<0,05$) e moderadamente fortes foram obtidas entre o consumo de leite e os AGS, AGM, AGP e AG totais. Assim também ocorreu entre o consumo de ovo e os percentuais de AGP. Por outro lado, foram verificadas correlações negativas e significantes ($p<0,05$) e moderadamente fortes entre o consumo de manteiga, de margarina, de carne suína em relação aos AGP; entre o consumo de carne suína e os percentuais de AG totais e o consumo de ovo e o teor de lipídios totais. Os AGT correlacionaram-se negativamente com a maioria dos alimentos analisados (Tabela 6).

Moderadas correlações negativas também foram obtidas entre o consumo de carne suína e os percentuais de AGS ($p=0,076$), de ovo e AGM ($p=0,087$), de óleo de soja e de carne suína e o teor de AGT ($p=0,071$ e $p=0,055$, respectivamente) e entre o consumo de manteiga e o percentual total de ácidos graxos ($p=0,079$) (Tabela 6).

É apresentado na Tabela 7 o comportamento de ácidos graxos essenciais e de seus metabólitos em relação aos alimentos que apresentaram diferença estatística ($p<0,05$), a saber: leite, manteiga, margarina, carne suína e ovo. Observou-se correlação positiva e significativa entre o a ingestão de leite e de ovo com os percentuais de C18:2n-6 do leite humano ($r=0,382$; $p=0,045$ e $r=0,529$; $p=0,020$;

respectivamente). Melhores correlações, porém negativas, foram obtidas entre o consumo de carne suína e os percentuais de C18:2n6 ($r=-0,630$; $p=0,035$), de C20:2 ($r=-0,751$; $p=0,005$) e de C20:3n6 ($r=-0,774$; $p=0,021$).

5.3.6. Discussão

Neste estudo encontrou-se que a paridade, o peso ao nascer, o tipo de parto, a idade gestacional, a escolaridade e a etnia materna, de um modo geral, não interferiram significativamente no perfil de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia do leite humano nos três primeiros meses de vida do recém-nascido (dados não apresentados). Por outro lado, vários estudos demonstram que o hábito alimentar materno tem um efeito preponderante sobre o conteúdo lipídico e sobre a composição de ácidos graxos do leite humano (Innis & King, 1999; Hayat et al., 1999; Fidler & Koletzko, 2001; Prado et al., 2001; Cunha et al., 2005; Anderson et al., 2005; Patin et al., 2006).

Os percentuais de ácidos graxos do leite humano, obtidos em nosso estudo (Tabela 2), são comparáveis aos teores encontrados na América Latina e na Europa (Chardigny et al., 1995; Genzel-Boroviczény et al., 1997; Innis & King, 1999; Krasevec et al., 2002; Smit et al., 2002; Sala-Vila et al., 2005; Marín et al., 2005). Semelhanças ainda maiores podem ser verificadas entre nosso estudo com os resultados encontrados por Cunha et al. (2005), realizado em Brasília – DF, e por Silva et al. (2005), realizado em Viçosa – MG. Nesses dois últimos estudos, observa-se que o perfil socioeconômico e as características maternas são parecidos com as do presente estudo e acredita-se que a alimentação materna seja uma importante fator para tal similaridade entre os parâmetros lipídicos do leite humano.

Sobre a ingestão de alimentos, observou-se um alto consumo de óleo de soja e um baixo consumo de azeite de oliva (Tabela 3) e uma boa ingestão de peixe pelas nutrizes, sendo equiparáveis ao consumo de carne bovina. Sabe-se que tanto o óleo de soja quanto o peixe, especialmente os de água doce, são ricos em ácido linoléico. Esses resultados, de certa forma, justificam os elevados percentuais de C18:2n-6 do leite humano (Tabela 2), sendo maiores que os teores relatados por Chardigny et al.

(1995), Genzel-Boroviczény et al. (1997), Innis & King (1999), Krasevec et al. (2002), Smit et al. (2002), Mitoulas et al. (2003) Sala-Vila et al. (2005), Marín et al. (2005), Cunha et al. (2005) e Silva et al. (2005). Entretanto, o consumo de peixe pode ter sido influenciado pela religiosidade da população estudada, uma vez que o período de estudo abrangeu o período quaresmal, em que há um maior consumo de peixes, causando assim um erro na avaliação do consumo desse alimento.

Patin et al. (2006), em um estudo com nutrizes brasileiras, verificaram que o consumo de peixes de água salgada, ricos em ácidos graxos da série n-3, foi eficaz na elevação dos percentuais de AGP do leite humano. Os resultados de ácido linoléico encontrados no presente estudo, bem como os resultados verificados por Cunha et al. (2005) e Silva et al. (2005) confirmam os estudos realizados por Nóbrega et al. (1986) no Brasil, que descreve altos percentuais de C18:2n-6 no leite humano de mulheres brasileiras.

Verificou-se semelhança dos percentuais de AA e de C20:3n-6 do leite humano deste presente estudo (Tabela 2) com as quantidades descritas por outros autores (Chardigny et al., 1995; Genzel-Boroviczény et al., 1997; Innis & King, 1999; Smit et al., 2002; Mitoulas et al., 2003; Sala-Vila et al., 2005; Marín et al., 2005; Cunha et al., 2005 e Silva et al., 2005). Além disso, encontrou-se ainda elevados teores de C20:3n-6, comparados a outros estudos (Cunha et al., 2005; Marín et al., 2005; Silva et al., 2005). A presença desses componentes alimentares sugere uma possível metabolização dos ácidos graxos essenciais dos estoques corporais maternos, considerando que tais componentes são produtos intermediários dos ácidos graxos de cadeia longa poliinsaturados.

De acordo com os percentuais de AGT do leite humano (Tabela 2), encontraram-se percentuais semelhantes aos descritos por outros autores (Chardigny et al., 1995; Mitoulas et al., 2003) e menores que as quantidades relatadas por Innis & King (1999), sendo este de 7,1%. Entre os alimentos descritos na Tabela 3, a margarina foi o que apresentou os maiores teores de AGT, porém o consumo diário per capita, em gramas, desse produto foi baixo (6 g \pm 4). Quantidades menores de isômeros *trans* podem ser encontradas em carnes e produtos lácteos vindos de animais

ruminantes, uma vez que nesses animais ocorre a produção de ácido *trans*-vacênico (C18:1-11t) e em menor proporção de ácido eláidico (C18:1-9t). A presença de altos percentuais de AGT na alimentação de gestantes e de nutrizes caracteriza a qualidade da alimentação desses indivíduos. Dentre os efeitos negativos dos AGT, destaca-se a competição desses isômeros pelas enzimas de dessaturação Δ -5 e Δ -6 dos ácidos graxos essenciais, podendo inibir a produção de ácidos graxos importantes para o feto e para o recém-nascido, como o EPA, DHA e AA (Innis & King, 1999; Larqué et al., 2000; Chiara et al., 2002). Dessa forma, Koletzko (1995) sugere que a associação inversa entre os percentuais de AGT com a razão C20:4n-6:C18:2n-6 reflete a inibição da enzima de dessaturação Δ -6, que atua na conversão de ácido linoléico a AA.

Observa-se na Tabela 4, que a alimentação materna apresentou-se adequada quanto à quantidade de lipídios totais (33%) e de carboidratos (50%) consumidas, de acordo com as médias dos quatro R24H. Esses resultados estão de acordo com o preconizado pelas I Diretrizes Brasileiras de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2005), que sugere que o consumo de lipídios totais esteja entre 25-35% das calorias totais e o consumo de carboidratos deve ser de 50-60% das calorias totais. Assim, a população estudada não apresentou semelhança das proporções de macronutrientes com a dieta ocidental, diferentemente do verificado por Cunha et al. (2005). A relação n-6:n-3 de nosso estudo (Tabela 4) foi de 9:1, razão comparável a países que consomem peixes de água salgada regularmente, ricos em n-3, como os países do Mediterrâneo, cuja razão está entre 10 a 12:1 (Patin et. al, 2006). As quantidades de EPA e de DHA ingeridas pelas nutrizes foram baixas. Segundo Makride & Gibson (2000), as mulheres em fase de lactação podem perder de 70 a 80 mg de DHA/dia, sendo as perdas associadas aos processos oxidativos e às necessidades corporais. Assim, o consumo de alimentos ricos em ácidos graxos essenciais e em seus metabólitos pelas mulheres em período de lactação é de grande importância para manter o adequado funcionamento fisiológico e para suprir as quantidades necessárias para o adequado desenvolvimento do recém-nascido.

Sobre o conteúdo de AGT, neste estudo não foi possível avaliar o consumo desses ácidos graxos pelas nutrizes, devido à deficiência de informações das quantidades desses ácidos graxos nas tabelas de composição química de alimentos, tanto brasileiras quanto estrangeiras. Tal deficiência também foi descrita por Costa et al. (2006a), em relação aos percentuais de AGT em rótulos e em tabelas de composição de alimentos. De acordo com a Resolução número 360 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária as empresas brasileiras tiveram o prazo até 31 de julho de 2006 para colocarem no rótulo nutricional de alimentos a informação da quantidade de AGT (BRASIL, 2006). Entretanto, este estudo foi anterior ao prazo estabelecido em tal Resolução. Segundo Bingham (1987) e Willett (1998), para uma adequada avaliação do consumo de lipídios em adultos, com uma média de variação intrapessoal de 31% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários 10 R24H de um mesmo indivíduo. Por outro lado, para avaliação energética, com uma variação média intrapessoal de 23% e com uma precisão de $\pm 20\%$, são necessários cinco R24H de um mesmo indivíduo. Porém, a aplicação de um maior número de inquéritos, como forma de minimizar o erro devido à variação intrapessoal, implica em questões logísticas, em maior custo e de um maior tempo de estudo (Willett, 1998).

Neste estudo, utilizando o R24H, não foram observadas correlações significantes entre o consumo de ácidos graxos, de carboidratos, de lipídios totais e de energia, com, respectivamente, os ácidos graxos, o total da síntese *de novo* (C10:0, C12:0 e C14:0), de lipídios totais e de energia do leite humano (Tabela 5). Esse fato pode ser justificado devido aos erros envolvendo consumo alimentar, sendo que tais erros são inerentes ao próprio método utilizado (instrumentos dietéticos), aos fatores presentes no delineamento do estudo, ao tamanho amostral, à heterogeneidade dos padrões de consumo alimentar, destacando-se a variabilidade intrapessoal, e relacionados às análises dos dados (Costa et al., 2006b). Além disso, os vários fatores que modulam a composição lipídica do leite humano podem ser intrínsecos ou extrínsecos às condições maternas, destacando-se o estágio da lactação, a adiposidade materna, o estado nutricional e a alimentação materna (Bitman et al., 1983; Rueda et al., 1998; Rodriguez et

al., 1999; Jensen 1999; Innis & King, 1999; Hayat et al., 1999; Fidler & Kolotzko, 2000; Koletzko et al., 2001; Prado et al., 2001; McManaman & Neville, 2003; Mandel et al., 2005; Anderson et al., 2005; Yamawaki et al., 2005).

Resultados interessantes deste estudo foram encontrados para o consumo de leite de vaca integral pelas nutrizes (Tabela 6). Observou-se que o consumo diário de aproximadamente 230 mL, em média, de leite correlacionou-se de forma positiva e significativa ($r=0,410$, $p=0,03$) com o percentual total de ácidos graxos poliinsaturados do leite humano. Entretanto, tal alimento, por não ser fonte de ácido α -linolênico, não se correlacionou com o mesmo ácido graxo presente no leite humano (Tabela 7), explicando, de certa forma, a ausência de EPA e de DHA nas amostras analisadas.

Por outro lado, o consumo, em média, de 7 g de manteiga, de 6 g de margarina e de 23 g de carne suína correlacionou-se inversamente com os percentuais de AGP (Tabela 6), sendo que o consumo de manteiga apresentou correlação inversa com o conteúdo de C18:2n6 do leite humano (Tabela 7). Assim também foi verificado para o consumo de carne suína, porém de forma mais expressiva, quando comparados aos percentuais de C18:2n6c ($r=-0,630$, $p=0,035$), de C20:2 ($r=-0,751$, $p=0,035$) e de C20:3n3 ($r=-0,774$, $p=0,021$). Ainda, o consumo de óleo de soja correlacionou-se de forma inversa, com tendência a significativa, com os percentuais de AGT encontrados no leite humano ($r=-0,334$, $p=0,071$).

O consumo de peixe, aparentemente, não provocou alterações relevantes sobre os percentuais de ácidos graxos do leite humano.

Destaca-se a importância do consumo de alimentos, por gestantes e nutrizes, ricos em ácidos graxos essenciais e em seus ácidos graxos preformados, uma vez que esses componentes alimentares estão relacionados ao adequado desenvolvimento fetal e do recém-nascido, além de serem os precursores de eicosanóides (Uauy et al., 2001; Lauritzen et al., 2004; Dijck-Brower et al., 2005; Hart et al., 2006). Soma-se a isso, a importância dos ácidos graxos essenciais para o desenvolvimento dos recém-nascidos pré-termos, pois a incorporação desses ácidos graxos ocorre no último semestre de gestação (Al et al., 2000).

O R24H é o tipo de inquérito alimentar mais utilizado em pesquisas científicas, devido à sua relativa facilidade de aplicação e por ser o método que descreve uma grande variedade de alimentos (Buzzard, 1998). Entretanto, nossos resultados demonstraram que a utilização do QFCA e a LDA, em relação à média dos quatro R24H, foram mais eficientes para a verificação da interferência da alimentação materna sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano. Isso sugere que o emprego de outros tipos de inquéritos que avaliam a ingestão habitual, tal como é a característica do QFCA e da LDA.

5.3.7. Conclusão

Nossos resultados sugerem que a alimentação materna pode ser capaz de modular o perfil de ácidos graxos do leite humano. Não se descartam, entretanto, a ação concomitante de outras variáveis, como o nível de escolaridade e as condições socioeconômicas maternas. Ressalta-se, ainda, que vários estudos demonstram uma importante modulação exercida pela adiposidade materna e pelo estágio de lactação do recém-nascido.

Constatou-se que o consumo diário de aproximadamente 230 mL de leite de vaca integral exerceu influências positivas sobre o conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente sobre o ácido linoléico. Porém, tal alimento não foi capaz de exercer o mesmo efeito sobre o ácido α -linolênico. Por outro lado, o consumo diário de 23 g de carne suína favoreceu negativamente esses parâmetros. Assim, destaca-se a importância da educação nutricional de gestantes e de nutrizes, com o objetivo de assegurar o adequado desenvolvimento fetal e do recém-nascido.

Por fim, este estudo sugere que a utilização de Questionários de Frequência de Consumo Alimentar e a Lista de Disponibilidade de Alimentos foram mais eficazes para verificar a interferência da alimentação de nutrizes sobre o perfil de ácidos graxos do leite humano, em comparação com a média dos quatro Recordatórios de 24 Horas aplicados no período pós-parto.

5.3.8. Referências Bibliográficas

1. Al MDM, Van-Houwelingen AC, Hornstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids, pregnancy, and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000;471(Suppl.):285S-91S.
2. Anderson NK, Beerman KA, McGuire MA, Dasgupta N, Griinari JM, Williams J, McGuire MK. Dietary fat type influences total milk fat content in lean women. *J Nutr* 2005;135:416-21.
3. Barbosa KBF. Métodos para avaliação do consumo alimentar e sua relação com marcadores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes do sexo feminino. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2006. 228p.
4. Beaton GH. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. *Am J Clin Nutr*. 1994;59:253-61.
5. Bingham AS. The dietary assessment of individuals; methods, accuracy, new techniques and recommendations. *Nutr Abstr Rev*. 1987;57:705-42.
6. Bitman J, Wood L, Hamosh M, Hamosh P, Mehta NR. Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1983;156(2):300-12.
7. BRASIL M.S. Resolução número 360, de 23 de dezembro de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em www.anvisa.gov.br. Acessado em 02 de julho de 2006.
8. Buzzard M. 24-hours dietary recall and food record methods. In: Willett WC. *Nutritional Epidemiology*. 2.ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. p.50-73.
9. Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutrition Research* 2001;21:309-41.
10. Chardigny JM, Wolff RL, Mager E, Sébédio JL, Martine L, Juanéda P. *Trans* mono- and polyunsaturated fatty acids in human milk. *European Journal of Clinical Nutrition* 1995;49:523-31.
11. Chiara VL, Silva R, Jorge R, Brasil AP. Ácidos graxos trans: doenças cardiovasculares e saúde materno-infantil. *Rev Nutr* 2002;15:341-49.

12. Costa AGV, Bressan J, Sabarense CM (a). Ácidos graxos *trans*: Alimentos e efeitos na saúde. Arquivos Latinoamericanos de Nutrición 2006;56(1):12-21(b).
13. Costa AGV, Priore SE, Sabarense CM, Franceschini SCC. Questionário de freqüência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídios. Revista de Nutrição 2006;19:in press(a).
14. Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-income women from Brasília, Brazil. Early Human Development 2005;81:303-311.
15. Dijck-Brouwer DAJ, Hadders-Algra M, Bouwstra H, Decsi T, Boehm G, Martini IA, Boersma ER, Muskiet FAJ. Lower fetal status of docosahexaenoic acid, arachidonic acid and essential fatty acids is associated with less favorable neonatal neurological condition. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2005;72:21-28.
16. Esteves EA, Siqueira AD, Monterio JBR, Ludwig A. Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas. Archivos Lationamericanos de Nutrición. 1998;48:236-241.
17. Fidler N, Koletzko B. The fatty acid composition oh human colostrum. Eur J Nutr 2000;39:31-7.
18. Ferro-Luzzi A. Measurement and assessment of food deprivation and undernutrition. International Scientific Symposium FAO 2002:101-25.
19. Fox E, Kuo J, Tilling L, Ulrich C. User's manual – Sigma Stat: Statistical Software for Windows. Germany: Jandel Scientific Software, 1994.
20. Genzel-Boroviczeny O, Wahle J, Koleztko B. Fatty acis composition of human milk during the 1st month after term and preterm delivery. Eur J Pediatr 1997;156(2):142-7.
21. Giovannini M, Agostoni C, Salari PC. The role of lipds in nutrition during the first months of life. J Inter Med Res 1991;19:351-62.
22. Hart SL, Boylan LM, Carroll SR, Musick YA, Kuratko C, Border BG, Lampe RM. Brief Report: Newborn behavior differs with docosahexaenoic acid levels in breast milk. Journal of Pediatric Psychology 2006;31(2):221-6.

23. Hayat L, Al-Sughayer MA, Afzal M. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1999;124(Part B):261-7.
24. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2005;84(Supl I).
25. Innis SM, King DJ. *Trans* Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential *all-cis* and n-3 fatty acids and determine *trans*, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1999;70:383-90.
26. Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids* 1999;34(12):1243-71.
27. Koletzko B. Potential adverse effects of trans fatty acids in infant and children. *Eur J Med Res* 1995;1:123-5.
28. Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development* 2001;65(Supl):S3-S18.
29. Krasevec JM, Jones PJ, Cabrera-Hernandez A, Mayer DL, Connor WE. Maternal and infant essential fatty acid status in Havana, Cuba. *Am J Clin Nutr* 2002;76:834-44.
30. Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *J Nutr* 2000;130:847-51.
31. Lauritzen L, Jorgensen MH, Mikkelsen TB, Skovgaard IM, Straarup EM, Olsen SF, Hoy CE, Michaelsen KF. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids* 2004;39(3):195-206.
32. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114-120.
33. Lucas A, Gibs JAH, Lyster RLJ, Baun JD. Crematocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J* 1978;1:1018-20.
34. Makride M, Gibson R. Long-chain polyunsaturated fatty acid requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 2000;71(Suppl.):307S-11S.

35. Mandel D, Lubetzky R, Dollberg S, Barak S, Mimouni FB. Fat and energy contents of expressed human breast milk in prolonged lactation. *Pediatrics* 2005;116:432-5.
36. Marín MC, Sanjurjo A, Rodrigo MA, Alaniz. Long-chain polyunsaturated fatty acids in breast milk in La Plata, Argentina: Relationship with maternal status. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005;73:355-60.
37. McManaman JL, Neville MC. Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003;55:629-41.
38. McPherson RS *et al.* Dietary assessment methods among school-age children: validity and reliability. *Prev Med.* 2000;31:S11-S33.
39. Mitoulas LR, Gurrin LC, Doherty DA, Sherriff JL, Hartmann PE. Infant intake of fatty acids from human milk over the first year of lactation. *British Journal of Nutrition* 2003;90:979-86.
40. Nóbrega FJ, Amâncio OMS, Moraes RM, Marin P. Leite de nutrizes de alto e baixo nível econômico, eutróficas e desnutridas II. Ácidos graxos saturados e insaturados. *Jornal de Pediatria* 1986;60(1/2):29-36.
41. Patin RV, Vítolo MR, Valverde MA, Carvalho PO, Pastore GM, Lopez FA. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. *J Pediatr* 2006;86(1):63-9.
42. Prado MD, Villalpando S, Elizondo A, Rodríguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* 2001;74:242-7.
43. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano. Disponível em <http://www.redeblh.fiocruz.br/>.
44. Rodriguez M, Koletzko B, Kunz C, Jensen R. Nutritional and biochemical properties of human milk, part II. Lipids, micronutrients and bioactive factors. *Clinics in Perinatology* 1999;26:335-59.
45. Rueda R, Ramirez M, Garcia-Salmeron JL, Maldonado J, Gil A. Gestational age and origin of human milk influence total lipid and fatty acid contents. *Ann Nutr Metab* 1998;42(1):12-22.

46. Sala-Vila A, Castellote AI, Rodriguez-Palmero M, Campony C, López-Sabater MC. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition* 2005;21:467-73.
47. Satchithanandam S, Fritsche J, Rader J. Gas chromatographic Analysis of infant formulas for total fatty acids, including *trans* fatty acids. *Journal of AOAC International* 2002;85(1): 86-94.
48. Scrimgeour CM, Macvean A, Fernie CE, Sébédio JL, Riemersma RA. Dietary *trans* α -linolenic acid does not inhibit Δ 5- and Δ 6-desaturation of linoléico acid in man. *Eur J Lipid Sci Technol* 2001;103:341-49.
49. Serra-Majem L, Aracenta-Bartrina J. Introducción a la epidemiología nutricional. In: SERRA-MAJEM, L.; ARACENTA-BARTRINA, J.; MATAIX-VERDÚ, J. *Nutrición y Salud Pública*. Barcelona: Masson, 59-65, 1995.
50. Silva MHL, Silva MTC, Brandão SCC, Gomes JC, Peternelli LA, Franceschini SCC. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chemistry* 2005;93:297-303.
51. Slater B, Marchioni DL, Fisberg RM. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. *Rev Saúde Pública*. 2004;38(4):599-605.
52. Smit EN, Martini IA, Mulder H, Boersma ER, Muskiet FAJ. Estimated biological variation on the mature human milk fatty acid composition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002;66(5-6):549-55.
53. Tarasuk V, Beaton GH. Statistical estimation of dietary parameters: implications of patterns in within-subject variation – a case study of sampling strategies. *Am J Clin Nutr*. 1992;55:22-7.
54. Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 2001;36(9):885-95.
55. Willett WC. *Nutritional Epidemiology*. 2.ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. 514p.
56. 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;19:171-81.

57. Zobotto CB, Viana RPT, Gil MF. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Campinas, SP: UNICAMP; Goiânia: UFG, 1996. 74p.

Tabela 1: Caracterização dos pares mãe/filho (n=33)

Variáveis	X (\pm DP)	Mi	Min	Max
<i>Dados dos recém-nascidos</i>				
Peso ao nascer (g)	3136 (\pm 347)	3070	2535	3920
Comprimento ao nascer (cm)	49,5 (\pm 1,9)	49	46,0	54,5
<i>Dados maternos</i>				
Idade materna no parto (anos)	25,4 (\pm 6,9)	24	15	41
Número de gestações	1,5 (\pm 0,8)	1	1	4
Número de consultas pré-natal	5,8 (\pm 2,2)	6	1	13
Idade gestacional (semanas)	39,1 (\pm 1,3)	39	37	42
Peso pré-gestacional (kg)	54,3 (\pm 8,3)	54	39	77
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	22,7 (\pm 3,5)	22,1	17,6	31,6
Ganho de peso na gestação (kg)	11,8 (\pm 3,8)	12	4	18
<i>Condições socioeconômicas</i>				
Escolaridade materna (anos)	8,8 (\pm 2,5)	8	3	15
Renda familiar (R\$)	651,60 (\pm 367,10)	600,00	150,00	2500,00
Número de dependentes da renda	4,4 (\pm 1,8)	4	2	10

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Min: mínimo; Max: Máximo

Tabela 2 – Teores médios de ácidos graxos (mg%), lipídios totais (g/dL) e energia (kcal/L) do leite humano (n=156).

Parâmetro	X (\pm DP)	Mi
C6:0	0,30 (\pm 0,16)	0,27
C10:0	1,46 (\pm 0,41)	1,49
C12:0	5,71 (\pm 1,56)	5,55
C14:0	6,29 (\pm 1,97)	5,86
Total <i>de novo</i>	13,46	12,90
C16:0	15,51 (\pm 3,49)	15,35
C17:0	0,74 (\pm 0,84)	0,74
C18:0	7,64 (\pm 2,17)	7,16
C24:0	0,80 (\pm 0,64)	0,59
Σ AGS	36,84 (\pm8,31)	36,59
C16:1	1,47 (\pm 0,42)	1,45
C18:1n9c	23,78 (\pm 5,56)	23,63
C20:1	0,95 (\pm 0,75)	0,81
Σ AGM	26,20 (\pm5,99)	25,72
Σ AGT	1,73 (\pm1,05)	1,29
C18:2n6c	22,80 (\pm 8,10)	20,95
C18:3n3	1,35 (\pm 0,72)	1,25
C20:2	0,84 (\pm 0,48)	0,78
C20:3n6	0,27 (\pm 0,17)	0,22
C20:3n3	0,44 (\pm 0,51)	0,34
C20:4n6	0,42 (\pm 0,25)	0,37
Σ AGP	25,98 (\pm9,01)	23,69
Σ n-6	23,39 (\pm 8,16)	21,39
Σ n-3	1,79 (\pm 0,84)	1,59
n-6:n-3	13,06	14,89
AG Totais	90,75 (\pm20,81)	88,37
LT	4,50 (\pm 1,40)	4,45
Energia	751 (\pm 153)	749

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ : somatório; Total *de novo*: somatório de C10:0, C12:0 e C14:0; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AG: ácidos graxos; LT: lipídios totais.

Tabela 3 – Quantidades médias de consumo diário per capita dos principais alimentos, ricos em lipídios, investigados pelo Questionário de Frequência de Consumo Alimentar e pela Lista de Disponibilidade de Alimentos (n=33).

Alimento relatado	X (\pm DP)	Mi
Presunto (g)	13 (\pm 10)	9
Azeite de Oliva (mL)	3 (\pm 3)	2
Óleo de Soja (mL)	29 (\pm 19)	30
Queijo (g)	12 (\pm 8)	9
Leite (mL)	228 (\pm 188)	181
Manteiga (g)	7 (\pm 4)	6
Margarina (g)	6 (\pm 4)	5
Carne Bovina (g)	44 (\pm 26)	44
Carne Suína (g)	23 (\pm 24)	13
Carne de Frango (g)	18 (\pm 12)	14
Peixe (g)	44 (\pm 32)	43
Lingüiça (g)	20 (\pm 15)	17
Ovo (g)	19 (\pm 13)	14

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana.

Tabela 4 – Percentuais médios de ácidos graxos (g), de energia (kcal), de lipídios totais (g) e de carboidratos (g) investigados pelo Recordatório de 24 Horas (n=33).

Parâmetro	X (\pm DP)	Mi
C6:0	0,21 (\pm 0,12)	0,16
C10:0	0,29 (\pm 0,17)	0,26
C12:0	0,33 (\pm 0,19)	0,28
C16:0	11,14 (\pm 3,62)	11,60
C18:0	5,34 (\pm 1,89)	5,36
Σ AGS	19,85 (\pm6,35)	20,06
C16:1	1,36 (\pm 0,61)	1,21
C18:1n9c	20,40 (\pm 7,82)	20,05
Σ AGM	22,14 (\pm8,27)	21,30
C18:2n6c	8,16 (\pm 4,23)	7,62
C18:3n3	0,89 (\pm 0,31)	0,90
C20:4n6	0,08 (\pm 0,05)	0,06
C20:5n3	0,01 (\pm 0,02)	0,01
C22:6n3	0,04 (\pm 0,04)	0,02
Σ AGP	9,14 (\pm4,43)	8,59
n-6	8,24 (\pm 4,24)	7,72
n-3	0,93 (\pm 0,32)	0,93
n-6:n-3	9:1	8:1
LT	56,4 (\pm 17,66)	54,2
Energia	1524 (\pm 368)	1506
Carboidratos	191,2 (\pm 51,5)	196

X: média; DP: desvio padrão; Mi: mediana; Σ : somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; LT: lipídios totais.

Tabela 5 – Correlação entre os percentuais de ácidos graxos, de lipídios totais e de energia do leite humano com os mesmos parâmetros da alimentação materna, obtidos pela média de quatro Recordatório de 24 Horas.

Parâmetro (Leite Humano)	<i>vrs</i>	Parâmetro (Dieta Materna)	<i>r</i>	<i>p</i>
C6:0	X	C6:0	-0,038	0,876
C10:0	X	C10:0	0,237	0,182
C12:0	X	C12:0	0,157	0,380
C16:0	X	C16:0	0,243	0,171
C18:0	X	C18:0	0,206	0,248
∑ AGS	X	∑ AGS	0,282	0,110
C16:1	X	C16:1	0,220	0,217
C18:1n9c	X	C18:1n9c	0,099	0,579
∑ AGM	X	∑ AGM	0,124	0,488
C18:2n6c	X	C18:2n6c	-0,264	0,136
C18:3n3	X	C18:3n3	-0,062	0,730
C20:4n6	X	C20:4n6	-0,224	0,231
∑ AGP	X	∑ AGP	-0,202	0,257
Total <i>de novo</i>	X	Carboidrato	0,031	0,859
LT	X	LT	0,184	0,304
Energia	X	Energia	0,172	0,335

Correlação de *Spearman*. X: versus; ∑: somatório; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; Total *de novo*: somatório de C10:0, C12:0 e C14:0; LT: lipídios totais.

Tabela 6 – Correlação entre o consumo de alimentos ricos em lipídios, relatados no Questionário de Frequência de Consumo Alimentar, com os percentuais dos tipos de ácidos graxos e de lipídios totais do leite humano.

Alimento (n=30)	AGS (n=156)		AGM (n=156)		AGP (n=156)		AGT (n=156)		AG Totais (n=156)		LT (n=156)	
	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Presunto	0,167	0,614	0,143	0,653	0,052	0,860	-0,009	0,968	0,009	0,968	0,009	0,968
Azeite de Oliva	-0,204	0,580	-0,051	0,878	-0,553	0,111	-0,358	0,331	-0,306	0,407	0,008	0,948
Óleo de Soja	0,109	0,566	-0,029	0,877	0,285	0,126	<u>-0,334</u>	<u>0,071</u>	0,140	0,456	0,245	0,190
Queijo	-0,042	0,878	-0,294	0,407	-0,075	0,809	-0,336	0,356	-0,168	0,643	0,109	0,742
Leite	0,551	0,002*	0,514	0,005*	0,410	0,030*	0,274	0,157	0,550	0,002*	0,172	0,377
Manteiga	-0,246	0,429	-0,468	0,117	-0,570	0,047*	-0,084	0,783	<u>-0,518</u>	<u>0,079</u>	0,465	0,123
Margarina	-0,077	0,728	0,171	0,441	-0,422	0,050*	0,091	0,679	0,029	0,896	0,208	0,350
Carne Bovina	0,230	0,342	-0,051	0,826	0,052	0,821	-0,124	0,599	0,021	0,927	-0,009	0,962
Carne Suína	<u>-0,542</u>	<u>0,076</u>	-0,233	0,467	-0,681	0,018*	<u>-0,578</u>	<u>0,055</u>	-0,690	0,016*	0,065	0,839
Carne de Frango	-0,003	0,986	0,134	0,493	0,236	0,225	-0,060	0,759	0,121	0,534	0,110	0,574
Peixe	-0,600	0,417	0,000	1,000	0,400	0,750	-0,200	0,917	0,000	1,000	0,400	0,750
Lingüiça	-0,350	0,331	-0,446	0,205	0,184	0,612	0,297	0,407	-0,069	0,844	0,324	0,381
Ovo	0,378	0,109	<u>0,401</u>	<u>0,087</u>	0,624	0,004*	-0,359	0,127	0,498	0,029*	-0,568	0,011*

Correlação de *Spearman*; (*) $p < 0,05$; Sublinhados: tendência estatística; AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGP: ácidos graxos poliinsaturados; AGT: ácidos graxos *trans*; AG: ácidos graxos LT: lipídios totais.

Tabela 7 – Correlação entre consumo diário per capita de leite, de carne suína e de ovo relatados no Questionário de Frequência de Consumo Alimentar com os percentuais de ácidos graxos essenciais e ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa do leite humano.

Parâmetro Leite Humano (n=156)	Leite (n=30)		Manteiga (n=30)		Margarina (n=30)		Carne Suína (n=30)		Ovo (n=30)	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
C18:2n6c	0,382	0,045*	<u>-0,560</u>	<u>0,054</u>	0,110	0,621	-0,630	0,035*	0,529	0,020*
C18:3n3	0,231	0,233	-0,228	0,456	0,358	0,101	-0,231	0,484	0,231	0,334
C20:2	<u>0,336</u>	<u>0,082</u>	-0,391	0,197	-0,342	0,118	-0,751	0,005*	0,252	0,294
C20:3n6	0,314	0,174	-0,337	0,387	0,244	0,354	-0,774	0,021*	-0,144	0,602
C20:3n3	0,084	0,687	-0,252	0,491	0,197	0,399	-0,128	0,709	<u>0,482</u>	<u>0,056</u>
C20:4n6	0,098	0,636	0,153	0,656	0,343	0,126	0,249	0,491	0,006	0,974

Correlação de *Spearman*; (*) $p < 0,05$; Sublinhados: tendência estatística.

6. CONCLUSÃO GERAL

A modulação dos ácidos graxos do leite humano se dá por fatores intrínsecos e extrínsecos à nutriz. Tais variáveis parecem agir de forma concomitante, o que torna complexa a avaliação dessa interferência, sobre a composição do leite humano, de forma isolada.

Em nossos estudos a paridade, o tipo de parto, a idade gestacional, o peso ao nascer, a escolaridade materna e a etnia materna não apresentaram efeitos expressivos sobre a composição de ácidos graxos, sobre o conteúdo de lipídios totais e de energia. Entretanto, não se descarta uma ação modulatória e concomitante dessas variáveis.

O perfil de ácidos graxos do leite de mulheres do município de Viçosa – MG (Brasil) foi semelhante aos dados obtidos em estudos realizados em outros países. Paralelo a isso, no presente estudo não foi encontrada a presença do ácido eicosapentaenóico e do ácido docosahexaenóico, indispensáveis ao adequado desenvolvimento do feto e do recém-nascido. Possivelmente, a oxidação desses ácidos graxos nos tecidos corporais das nutrizes ou a deficiência desses ácidos graxos na alimentação materna contribuiu para tal fato. Por outro lado, observamos uma elevada incorporação de metabólitos dos ácidos graxos essenciais no leite humano, os quais podem favorecer o desenvolvimento do recém-nascido.

Os resultados deste estudo demonstraram que a alimentação materna apresenta um efeito importante sobre a composição de ácidos graxos do leite humano. Entretanto, a ausência dos ácidos graxos eicosapentaenóico e docosahexaenóico nos leite analisados sugerem uma inadequação da desses

componentes alimentares e de seu precursor, o ácido α -linolênico, na dieta das nutrizes.

A aplicação do Questionário de Frequência de Consumo Alimentar e da Lista de Disponibilidade de Alimentos apresentou-se mais eficaz na avaliação da dieta materna e sua correlação com o perfil de ácidos graxos do leite humano. Assim, sugere-se que as futuras pesquisas nessa área considerem esses dois tipos inquéritos em sua metodologia.

Salienta-se ainda a escassez na literatura científica de estudos como o nosso que objetivou avaliar o comportamento de ácidos graxos do leite humano frente às variáveis maternas e às dos recém-nascidos nos estágios iniciais da amamentação.

Por fim, recomenda-se que as novas pesquisas nessa área sejam também direcionadas para a verificação de qual momento da lactação apresenta uma melhor composição de ácidos graxos para as condições fisiológicas dos recém-nascidos pré-termos e, assim, contribuindo para a implantação de Bancos de Leite Humano nos hospitais brasileiros.

7. ANEXOS

- Anexo 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- Anexo 2: Entrevista Estruturada
- Anexo 3: Ingestão Habitual
- Anexo 4: Questionário de Frequência de Consumo Alimentar
- Anexo 5: Lista de Disponibilidade de Alimentos
- Anexo 6: Recordatório de 24 Horas

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO

Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Estou ciente que:

Os procedimentos que serão adotados no estudo “**Perfil lipídico do leite humano: relação com a ingestão alimentar materna e com o desenvolvimento do recém-nascido**” constam da aplicação de questionários para obtenção de informações relacionadas à alimentação e ao estilo de vida materno; de avaliações antropométricas não invasivas (peso e comprimento do recém-nascido e peso e altura da mãe) e coleta de amostra de leite humano nos períodos: pós-parto imediato, 7, 30, 60 e 90 dias após o parto. Em cada período, será coletado até 5 mL de leite humano de acordo com a disponibilidade materna, no momento e em quantidade que não prejudique a alimentação do recém-nascido. O período do estudo será de três meses subseqüentes ao parto.

- Como participante do estudo não serei submetido a nenhum tipo de intervenção que possa causar danos à minha saúde e nem a de meu filho(a), visto que as condutas a serem adotadas objetivam a promoção da mesma e são respaldadas na literatura científica.
- A minha participação e a de meu filho(a) é voluntária, assegurando que as informações obtidas serão sigilosas e facultando a mim o afastamento do estudo se eu assim desejar, sem a necessidade de justificativa e sem que haja nenhum tipo de constrangimento ou pressão contra minha vontade.
- Minha participação e a de meu filho(a) neste estudo será voluntária, sendo que não receberei remuneração.

- Os dados obtidos estarão disponíveis para a agência financeira e equipe envolvida na pesquisa e poderão ser publicados com a finalidade de divulgação das informações científicas obtidas, sem que haja identificação das pessoas que participaram do estudo.

- Se houver descumprimento de qualquer norma ética poderei recorrer ao **Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa**, dirigindo-me ao seu Presidente: Prof. Dr. Gilberto Paixão Rosado no telefone: 3899-1269.

De posse de todas as informações necessárias, concordo em participar do estudo:

Voluntária

André Gustavo Vasconcelos Costa

(Nutricionista / Mestrando)

Viçosa – MG

Data: ___/___/___

ANEXO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
Departamento de Nutrição e Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição

REC:

Data: / /

Identificação:

Nome da Nutriz:	
Nome do Lactente:	
End.:	
Bairro:	
Referência:	Tel:

Dados Socioeconômicos:

Estado civil: () Solteira () Casada () Relação estável () Outro _____	
Escolaridade materna (anos completos):	Profissão materna:
Condição atual de trabalho da nutriz: () emprego formal () emprego informal () desempregada	
Escolaridade paterna (anos completos):	Profissão paterna:
Condição atual de trabalho do cônjuge: () emprego formal () emprego informal () desempregada	
Renda familiar (R\$):	Número pessoas que dependem da renda:
Número pessoas na casa:	Número de cômodos/quartos:

Condições de Habitação:

Abastecimento de água: () Público () Poço () Outro
Energia elétrica: () Sim () Não
Destino do lixo: () Coleta pública () Enterra/queima () Quintal () Outro
Destino de dejetos: () Esgoto () Fossa () Céu aberto () Outro

Dados obstétricos e gestacionais:

Número de gestações:	Número de partos:	Ordem da criança:
Assistência pré-natal: () Sim () Não	Número consultas:	
Intervalo último parto:	Idade gestacional (sem):	
Tipo de parto: () normal () cesárea () fórceps		
Peso pré-gestacional:	Ganho de peso na gestação:	

Dados do Recém-nascido:

Data de Nascimento: / /	Sexo: () Masculino () Feminino
Peso ao nascer:	Comprimento ao nascer:
Índice de <i>Apgar</i> :	

Dados da Nutriz:

Data de Nascimento: / /	Idade:
Estatura materna:	Raça (observada):

Dados do Lactente:

Parâmetro	Pós-parto	7 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Idade					
Peso					
Comprimento					
Tipo de aleitamento*					

* Tipo de Aleitamento

AME: Aleitamento materno exclusivo

AMP: Aleitamento materno predominante

AM: Aleitamento misto

AC: Introdução alimentação complementar

ANEXO 3

REC:



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO

Nome: _____ Data: ___/___/___

Ingestão Habitual

Refeição/horário	Alimento/preparação	Medida caseira	Gramas (g)
Desjejum:			
Colação:			
Almoço:			
Lanche:			
Jantar:			
Ceia:			

ANEXO 4



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO**

REC:

Nome: _____ Data: ____/____/____

Questionário de Frequência de Consumo Alimentar

Alimento	Consumo											Quantidade (medidas caseiras)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não Consome ou Raramente	
	1X	2X	1X	2X	3X	4X	5X	6X				
Abacate												
Achocolatado em pó												
Amendoim												
Apresentado / Presunto / Mortadela												
Arroz												
Azeite de oliva												
Bacon												
Batata frita												
Bebida láctea												
Bife de Hambúrguer												
Biscoito água e sal												
Biscoito amanteigado												
Biscoito cream craker												
Biscoito maisena												
Biscoito recheado												
Bolo simples												
Bombom												
Brigadeiro												
Carne bovina costela												
Carne bovina fígado												
Carne bovina moída												

ANEXO 4

Alimento	Consumo											Quantidade (medidas caseiras)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não Consome ou Raramente	
	1X	2X	1X	2X	3X	4X	5X	6X				
Carne bovina músculo												
Carne de frango com pele												
Carne de frango sem pele												
Carne suína pernil / lombo												
Carne suína costela												
Cereal matinal												
Chocolate em barra												
Creme de leite												
Farinha láctea												
Feijão												
Iogurte												
Leite condensado												
Leite cru												
Leite desnatado												
Leite em pó desnatado												
Leite em pó integral												
Leite integral												
Lingüiça												
Maionese												
Manteiga												
Margarina												
Mistura para bolo												
Ovo												
Pão de forma												
Pão de queijo												
Pão doce												
Pão francês												

ANEXO 4

Alimento	Consumo											Quantidade (medidas caseiras)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não Consome ou Raramente	
	1X	2X	1X	2X	3X	4X	5X	6X				
Peixe												
Peixe Sardinha / Atum												
Pele de porco (pururuca)												
Pipoca												
Pizza												
Pudim												
Queijo cottage												
Queijo minas												
Queijo mussarela												
Queijo parmesão												
Queijo prato												
Queijo provolone												
Queijo cheddar												
Requeijão												
Ricota												
Salgadinho tipo “chips”												
Salgado frito												
Salgado assado												
Salsicha (cachorro quente)												
Sorvete												
Steak de frango												
Torresmo												

ANEXO 5



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO

REC:

Nome: _____

Data: ____/____/____

Lista de Disponibilidade de Alimentos

Alimento	Quantidade que compra mensalmente	Frequência de consumo	Número de moradores da casa com as idades:
Óleo			
Gordura Vegetal (GVPH)			
Banha animal			
Manteiga			
Margarina			
Torresmo			
Açúcar			
Sal			

ANEXO 6

REC:



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO

Nome: _____ Data: ____/____/____

Recordatório de 24 Horas

Refeição/horário	Alimento/preparação	Medida caseira	Gramas (g)
Desjejum:			
Colação:			
Almoço:			
Lanche:			
Jantar:			
Ceia:			