

Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk

Efeito da evaporação e pasteurização na composição bioquímica e imunológica do leite humano

Lucylea P. M. Braga¹, Durval B. Palhares²

Resumo

Objetivo: Avaliar os efeitos da evaporação e da pasteurização do leite humano na sua composição bioquímica e imunológica e em sua osmolaridade.

Métodos: As amostras de leite humano maduro foram divididas em quatro grupos de estudo: leite humano in natura, leite humano pasteurizado, leite humano evaporado a 70% do volume inicial e leite humano pasteurizado e evaporado a 70%, com 12 diferentes amostras de leite em cada grupo. Das amostras dos grupos, foram dosadas as concentrações de sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura, lactose, imunoglobulina A e osmolaridade.

Resultados: A pasteurização do leite humano não mostrou alterações estatisticamente significantes na concentração dos elementos sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura, lactose, nem na osmolaridade; no entanto, mostrou redução significante na concentração média de imunoglobulina A. A evaporação mostrou aumento estatisticamente significativo de 38% em média na concentração dos elementos sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura e lactose e redução média de 45% na concentração da imunoglobulina A, sem alteração significativa da osmolaridade em relação ao leite sem processamento.

Conclusão: Através da evaporação a 70% do volume inicial do leite humano, pode ser obtido leite humano com condições de satisfazer as necessidades nutricionais preconizadas para o recém-nascido pré-termo, com exceção do cálcio e do fósforo.

J Pediatr (Rio J). 2007;83(1):59-63: Leite humano, evaporação, necessidades nutricionais.

Abstract

Objective: To assess the effects of evaporation and pasteurization of human milk on its biochemical and immunological composition and on its osmolarity.

Methods: The samples of mature human milk were categorized into four study groups: in natura human milk, pasteurized human milk, human milk evaporated at 70% of the baseline volume and human milk pasteurized and evaporated at 70%, with 12 different samples of milk in each group. The samples were used to determine the concentrations of sodium, potassium, calcium, phosphorus, magnesium, protein, fat, lactose, immunoglobulin A and osmolarity.

Results: The pasteurization of human milk did not show statistically significant changes in the concentration of sodium, potassium, calcium, phosphorus, magnesium, protein, fat, lactose, or in osmolarity; however, it showed remarkable reduction in the mean concentration of immunoglobulin A. Evaporation had a mean increase of 38% in the concentration of sodium, potassium, calcium, phosphorus, magnesium, protein, fat and lactose and mean reduction of 45% in the concentration of immunoglobulin A, without significant change in osmolarity in unprocessed milk.

Conclusion: By evaporation at 70% of the baseline value of human milk, it is possible to obtain human milk that meets the nutritional requirements recommended for preterm infants, except for calcium and phosphorus.

J Pediatr (Rio J). 2007;83(1):59-63: Human milk, evaporation, nutritional requirements.

1. Mestre. Professora, Curso de Medicina, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (UNIDERP), Campo Grande, MS.
2. Doutor. Professor titular, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS.

Artigo submetido em 13.02.06, aceito em 13.09.06.

Artigo baseado na dissertação de mestrado apresentada pela primeira autora, sob a orientação do segundo autor, ao Programa de Mestrado em Medicina, Área de Concentração: Pediatria, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS.

Como citar este artigo: Braga LP, Palhares DB. Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(1):59-63.

doi 10.2223/JPED.1578

Introdução

A alimentação do recém-nascido prematuro não era interesse de muitas culturas, pois as crianças prematuras eram identificadas como fracas ou não viáveis e freqüentemente evoluíam para o óbito. O aprimoramento da assistência neonatal aos recém-nascidos prematuros e a criação das unidades de cuidados intensivos permitiram maior sobrevivência a essas crianças, o que impôs maior atenção com sua nutrição e desenvolvimento. A nutrição dessas crianças exerce papel relevante na assistência neonatal, pois é responsável tanto pela sobrevivência imediata como pelo crescimento e desenvolvimento a médio e longo prazo¹. Fórmulas específicas para a criança nascida de muito baixo peso têm sido desenvolvidas para prover as necessidades dessa população, na qual a deficiência de crescimento é comum².

Vários estudos têm demonstrado que o recém-nascido pré-termo alimentado com leite humano não fortificado, depois da alta hospitalar, tem grau de crescimento e massa óssea menor do que crianças alimentadas com fórmulas³.

Além da preocupação com o crescimento, o efeito do desenvolvimento neural dos prematuros é considerado de particular interesse. Dietas com ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa têm demonstrado efeitos benéficos no início do desenvolvimento. Somente o leite humano provê quantidades adequadas de gordura e ácidos graxos essenciais para o desenvolvimento da criança⁴.

Estudos têm demonstrado que o conteúdo de nutrientes do leite humano não provê quantidades suficientes de proteína, sódio, fosfato e cálcio para manter um crescimento adequado desses recém-nascidos prematuros^{5,6}. Isso tem estimulado o desenvolvimento de novas opções nutricionais para essas crianças, principalmente utilizando o próprio leite humano com o intuito de manter o seu valor biológico.

A diálise e a ultrafiltração foram técnicas utilizadas como métodos de fracionamento e posterior enriquecimento do leite humano^{7,8}; no entanto, são técnicas complexas e exigem equipamentos sofisticados e de alto custo.

A evaporação do leite humano consiste em retirar uma determinada alíquota de água, promovendo a sua concentração. Santos, em 1994, utilizou a técnica de evaporação e, depois, a precipitação e retirada da lactose, a fim de ser utilizado o produto final como aditivo do leite humano⁹.

O leite humano é armazenado nos bancos de leite após pasteurização, que consiste no tratamento térmico e resfriamento rápido do leite humano ordenhado, com o objetivo de inativar 100% dos microorganismos patogênicos e 99,9% da microbiota saprófita¹⁰.

Conhecendo a importância de manter as propriedades do leite humano na alimentação do prematuro, este estudo teve como objetivo analisar os efeitos dos processos de pasteurização e evaporação do leite humano sobre suas propriedades

bioquímicas e imunológicas e sua osmolaridade. Além disso, pretende verificar se a evaporação de 30% de sua água o tornaria um leite mais adequado para suprir as necessidades nutricionais da criança nascida com muito baixo peso.

Métodos

Trata-se de um estudo experimental realizado no Banco de Leite do Hospital Universitário, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), nos laboratórios de Tecnologia de Alimentos da UFMS e de Nutrição Animal da Embrapa e no laboratório de Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas de São Paulo.

As amostras foram provenientes de *pool* de leite de doadoras voluntárias, coletadas por meio de ordenha manual, com tempo mínimo de lactação de 30 dias. Foram incluídas no estudo 12 diferentes amostras aleatórias de leite humano. Cada amostra foi separada em quatro alíquotas para compor os quatro grupos de estudo: *in natura* (LHIN), pasteurizado (LHP), evaporado a 70% do volume inicial (LHE) e pasteurizado e evaporado a 70% (LHPE).

A opção de utilizar os quatro grupos tem como função avaliar comparativamente os efeitos do processo da pasteurização e evaporação sobre o leite humano e, posteriormente, a associação dos dois processamentos para obtenção do leite humano pasteurizado e evaporado.

Para análise bioquímica (sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura e lactose), o armazenamento das amostras foi feito em frascos de vidro, previamente lavados com água e sabão e tratados com solução de ácido nítrico a 5%; para análise imunológica (imunoglobulina A – IgA), em frascos de polietileno estéreis com tampa.

Os tipos de processamentos do leite humano utilizados foram pasteurização¹¹ e evaporação⁹ a 70%. Para evaporação do leite humano, utilizou-se um evaporador rotativo a vácuo, que permite a retirada controlada de água. Neste trabalho, optou-se pela retirada de 30% de água, a uma temperatura de 40 °C.

Para análise bioquímica do sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio, as amostras de leite humano foram submetidas a digestão nítrico-perclórica^{12,13}, e as leituras foram realizadas em fotômetro de chama (sódio e potássio), espectrofotômetro de absorção atômica, com comprimento de onda de 422,7 nm (cálcio), fotocolorimetria, com comprimento de onda de 420 nm (fósforo), espectrofotômetro de absorção atômica, com comprimento de onda de 285,2 nm (magnésio).

As dosagens de proteína e gordura foram realizadas pelo método de Nakai & Le¹⁴; na dosagem da lactose, foi utilizado o método de Barnett & Tawab¹⁵; a dosagem de IgA foi determinada pela técnica de Mancini¹⁶.

Todos os testes foram feitos em triplicata.

A dosagem da osmolaridade das amostras de leite humano foi realizada em osmômetro da marca Advanced Digi-matic Osmometer Model 3DII.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Para comparação dos pares em médias do sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura, lactose, IgA e osmolaridade, foi utilizada a análise de variância para observações repetidas. Também foram comparados os grupos de estudo para cada nutriente citado, através do teste de Tukey-Kramer. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

Resultados

Os resultados para cada nutriente analisado são apresentados por meio de médias e desvios padrão, conforme apresentado na Tabela 1.

Através da comparação das concentrações médias dos nutrientes analisados do grupo de leite humano *in natura* com o grupo de leite humano pasteurizado, observou-se que o processo de pasteurização não reduziu significativamente a concentração média de sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, proteína, gordura e lactose. A diminuição da concentração média de IgA do leite humano *in natura* em relação ao leite humano pasteurizado foi de 64%, sendo estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Na comparação dos resultados do grupo de leite humano *in natura* com o grupo de leite humano evaporado a 70% do volume inicial, foi observado que a evaporação de 30% de água aumentou em 38% em média a concentração de sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura e lactose, com diferença estatisticamente significativa para todos os nutrientes relatados anteriormente. A redução em torno

de 45% da concentração média de IgA em relação ao leite humano *in natura* não foi significativa ($p > 0,05$) (Tabela 1).

O processo de pasteurização e evaporação a 70% do leite humano, quando comparado ao leite humano *in natura*, apresentou resultados estatisticamente semelhantes aos do grupo somente evaporado a 70%.

A osmolaridade analisada comparativamente entre os quatro grupos do estudo não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Discussão

Para o recém-nascido a termo, o leite humano provê adequada nutrição para um bom crescimento e desenvolvimento, bem como efeitos benéficos em sua imunidade e estado emocional materno-infantil. No entanto, para o recém-nascido pré-termo, o leite humano pode não oferecer quantidades suficientes de alguns nutrientes para suprir as suas necessidades¹⁷.

Neste estudo, foram utilizados dois tipos de processamento do leite humano: a pasteurização e a evaporação. A pasteurização é um tipo de processamento do leite humano utilizado para inativação térmica de microorganismos patogênicos e para permitir a sua estocagem em banco de leite. A evaporação, neste estudo, ocorreu através da retirada de 30% de água, empregando um evaporador rotativo a vácuo. O vácuo é importante, pois quanto mais baixa a pressão imposta, menor será a temperatura necessária para ocorrer a ebulição do leite humano¹⁸. A temperatura usada na evaporação foi de 40 °C, pois a esse nível as propriedades naturais do leite humano são pouco afetadas¹⁹.

As amostras de leite humano maduro utilizadas para análise foram de doadoras de banco de leite, sem a preocupação de identificá-las e separá-las quanto ao estado nutricional

Tabela 1 - Média e desvio padrão de sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura, lactose, imunoglobulina A e osmolaridade dos grupos de leite humano estudados: leite humano *in natura*, leite humano pasteurizado, leite humano evaporado a 70% e leite humano pasteurizado e evaporado a 70%

Nutrientes	Sódio	Potássio	Cálcio	Fósforo	Magnésio	Proteína	Gordura	Lactose	IgA	Osmolaridade
M±DP	(mEq/L)	(mEq/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(g/dL)	(g/dL)	(g/dL)	(mg/dL)	mOsm/L
Leite humano <i>in natura</i>	9,1±4,2 ^{a*}	13±3,1 ^a	246,5±51,1 ^a	122,6±30,0 ^a	29,3±8,4 ^a	0,8±0,18 ^a	2,8±1,18 ^a	8,4±2,12 ^a	247,5±11,7 ^a	264,9±66,2 ^a
Leite humano pasteurizado	8,6±2,9 ^a	12,9±2,8 ^a	236,9±51,1 ^a	123,4±28,1 ^a	28,1±7,5 ^a	1,1±0,23 ^{a,b}	3,6±1,57 ^{a,b}	9,1±2,41 ^{a,b}	89,3±60,7 ^b	261,8±38,3 ^a
Leite humano evaporado	12,4±5,8 ^b	19,4±4,2 ^b	320,6±53,6 ^b	163,6±36,8 ^b	39,5±39,5 ^b	1,2±0,27 ^{b,c}	3,9±1,73 ^{b,c}	11,1±2,73 ^{b,c}	137±102,2 ^a	337,4±103 ^a
Leite humano pasteurizado e evaporado	12,6±3,5 ^b	19,5±2,7 ^b	328,3±66,7 ^b	174,4±174,4 ^b	38,6±10,7 ^b	1,4±0,39 ^c	5,0±2,11 ^c	11,7±2,17 ^c	197,5±114,8 ^a	321,2±81,2 ^a

DP = desvio padrão; M = média.

* Nas colunas, as letras iguais não diferem significativamente, Tukey-Kramer, $p > 0,05$.

materno, nível socioeconômico, horário da coleta do leite, dentre outros fatores que podem interferir na concentração dos nutrientes.

Através da análise comparativa do grupo de leite *in natura* e do grupo pasteurizado, observa-se que não houve diferença significativa para os nutrientes dosados, com exceção da IgA, mostrando que a pasteurização reduz a sua concentração em 64%.

O leite humano maduro contém aproximadamente 7 mEq/L de sódio²⁰. Neste estudo, observou-se que a concentração média de sódio no leite *in natura* (9,1 mEq/L) e pasteurizado (8,6 mEq/L) foi maior do que a encontrada na literatura, possivelmente porque as mães que vivem nessa região ingerem mais sódio na dieta do que o recomendado²¹.

A evaporação do leite humano, realizada através do evaporador rotativo a vácuo, pode ser considerada um método de pouca complexidade e baixo custo. Através da retirada de 30% de água do leite humano, observa-se que, em média, todos os componentes bioquímicos analisados apresentam um aumento de 38%, mostrando a necessidade de se utilizar medidores volumétricos mais precisos para o controle de volume da água evaporada e do leite evaporado durante o processo de evaporação.

A evaporação do leite humano reduziu a concentração média de IgA em 45%; no entanto, quando comparada ao leite humano *in natura*, observa-se não haver diferença estatisticamente significativa. É possível que a ausência de significância se deva ao tamanho reduzido da amostra, pois para algumas comparações (IgA e osmolaridade), nas quais as variáveis apresentaram desvio padrão elevado, houve maior probabilidade de ocorrência de erro do tipo II (falso-negativo). Por exemplo, no caso das comparações entre os grupos em relação à IgA, o poder reduziu-se para 76%.

O grupo de amostras do leite humano *in natura* apresentou uma osmolaridade média de 264,9 mOsm/L, que está de acordo com o encontrado na literatura científica²². Quando se realiza a evaporação de 30% de água do leite humano, a osmolaridade média aumenta para 337,4 mOsm/L, que pode ser considerada aceitável para alimentar o prematuro²².

Segundo Schanler, os aditivos do leite aumentam a sua osmolaridade, mas não determinam a intolerância desses aditivos pelos prematuros. Com o aditivo, a osmolaridade aumenta para 400 mOsm/L, porém a osmolaridade do conteúdo do trato gastrointestinal fica na faixa de 600 mOsm/L²².

No grupo em que se promoveu a pasteurização e evaporação do leite humano, os resultados encontrados para os elementos bioquímicos e osmolaridade analisadas foram semelhantes ao grupo em que somente se promoveu a evaporação. O que diferiu foi a concentração média de IgA, que ficou reduzida somente em 20%, sendo que o esperado seria uma maior redução comparável ao grupo pasteurizado e ao

grupo somente evaporado. Tal ocorrência pode ter como explicação o número de amostras estudadas, pois a amplitude de variação dos resultados da IgA, neste estudo, foi muito grande.

Com base nas observações sobre as mudanças na composição bioquímica, imunológica e na osmolaridade do leite humano sofridas através dos processos de pasteurização e evaporação, pode-se concluir, analisando as necessidades nutricionais preconizadas para o recém-nascido pré-termo pela Academia Americana de Pediatria²³ de 1998, pelo Comitê de Nutrição da Sociedade Européia de Pediatria e Gastroenterologia²⁴ de 2006 e pelo Comitê de Nutrição da Sociedade Canadense de Pediatria²⁵, que o leite humano pasteurizado e evaporado a 70% pode suprir as necessidades recomendadas para os nutrientes de sódio, potássio, magnésio, proteína, gordura e lactose, mas não atinge a recomendação para cálcio e fósforo.

Novos estudos devem ser realizados para avaliar a possibilidade de aplicação do leite humano pasteurizado e evaporado a 70% do volume inicial, bem como para observar possíveis efeitos sobre o metabolismo e crescimento dos recém-nascidos pré-termo que receberem essa dieta.

Referências

- Gross SJ, Slagle TA. [Feeding the low birth weight infant](#). Clin Perinatol. 1993;20:193-209.
- Carver JD. [Advances in nutritional modifications of infant formulas](#). Am J Clin Nutr. 2003;77:1550S-4S.
- Carver JD. [Nutrition for preterm infants after hospital discharge](#). Adv Pediatr. 2005;52:23-47.
- Uauy R, Mena P. [Requirements for long-chain polyunsaturated fatty acids in the preterm infant](#). Curr Opin Pediatr. 1999;11:115-20.
- Kumar SP, Sacks LM. [Hyponatremia in very low-birth-weight and human milk feedings](#). J Pediatr. 1978;93:1026-7.
- Greer FR, Steichen JJ, Tsang RC. [Calcium and phosphate supplements in breast milk – related rickets. Results in very low birth-weight-infant](#). Am J Dis Child. 1982;136:581-3.
- Moro G, Fulconis F, Minoli I, Pohlandt F, Raiha N. [Growth and plasma aminoacid concentrations in very low birthweight infants fed either human milk protein fortified human milk or a whey-predominant formula](#). Acta Paediatr Scand. 1989;78:18-22.
- Itabashi K, Hayashi T, Tsugoshi T, Masano H, Okuyama K. [Fortified preterm human milk for very low birth weight infants](#). Early Hum Dev. 1992;29:339-43.
- Santos MM. Preparo de um concentrado de leite humano especial para recém-nascido pré-termo [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 1994.
- Almeida JAG. Composição e síntese do leite humano. In: Santos Jr. LA, org. A mama no ciclo gravídico puerperal. Rio de Janeiro: Atheneu; 2000. p. 101-4.
- Young FS, Heicher DA, Uemura HS, Sia CC. [The effects of freezing and pasteurization on human milk](#). Hawaii Med J. 1979;38:330-2.

12. Salinas JG, Garcia R. Métodos químicos para el análisis de suelos ácidos y plantas forrajeras. Cali, Colômbia: CIAT; 1985.
13. Moraes JFV, Rabelo NA. Um método simples para a digestão de amostras de plantas. Brasília, DF: EMBRAPA-DDT/EMBRAPA-CNPAF; 1986.
14. Nakai S, Le AC. Spectrophotometric determination of protein and fat in milk simultaneously. *J Dairy Sci.* 1970;53:276-8.
15. Barnett AJG, Tawab GAA. A rapid method for determination of lactose in milk and cheese. *J Sci Food Agric.* 1957;8:437-41.
16. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. **Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.** *Immunochemistry.* 1965;2:235-54.
17. Kuschel CA, Harding JE. **Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants.** *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(1):CD000343.
18. Hunziker OF. Condensed milk and milk powder. 15th ed. La Grange, III: [author]; 1935.
19. Barrois-Larouze V, Jorieux S, Aubry S, Grimonprez L, Spik G. Effects of different heat treatments on some human milk constituents. In: Williams AF, Baum JD, editors. Human milk banking. Nestlé Nutrition Workshop series. New York; Raven Press; 1984. p. 113-21.
20. Calil VM, Leone CR, Ramos JL. Composição nutricional do colostro de mãe de recém-nascido de termo adequados para a idade gestacional. II- Composição nutricional do leite humano nos diversos estágios da lactação. Vantagem em relação ao leite de vaca. *Pediatria (São Paulo).* 1992;14:14-23.
21. Palhares DB, Jorge SM, Martinez FE. Avaliação antropométrica de recém-nascidos pré-termo alimentados com leite humano de banco de leite ou com fórmula industrializada de leite de vaca não modificado. *J Pediatr (Rio J).* 1987;63:129-32.
22. Schanler RJ. **Suitability of human milk for the low birth weight infant.** *Clin Perinatol.* 1995;22:207-22.
23. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition. Pediatric nutrition handbook. 4th ed. Elk Grove Village, III: American Academy of Pediatrics; 1998.
24. Aggett PJ, Agostoni C, Axelsson I, De Curtis M, Goulet O, Hernell O, et al. **Feeding preterm infants after hospital discharge: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42:596-603.
25. **Nutrient needs and feeding of premature infants.** Nutrition Committee, Canadian Paediatric Society. *CMAJ.* 1995;152:1765-85.

Correspondência:
Lucylea Pompeu Muller Braga
Rua Boipeva, 225, Carandá Bosque I
CEP 70032-560 – Campo Grande, MS
Tel.: (67) 3029.3058
E-mail: mullerlb@terra.com.br