



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

**COMPOSIÇÃO DE AGs ÁCIDOS GRAXOS E SUA
DISTRIBUIÇÃO INTERPOSICIONAL NOS TAGs COMO SUPORTE
PARA MELHORIA DA SUPLEMENTAÇÃO EM FÓRMULAS INFANTIS**

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

Maringá

2023

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

**COMPOSIÇÃO DE AGs ÁCIDOS GRAXOS E SUA DISTRIBUIÇÃO
INTERPOSICIONAL NOS TAGs COMO SUPORTE PARA MELHORIA DA
SUPLEMENTAÇÃO EM FÓRMULAS INFANTIS**

Tese apresentada ao programa de
Pós Graduação em Ciência de
Alimentos da Universidade Estadual
de Maringá, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
doutor em Ciência de Alimentos

Maringá

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

F383c

Ferreira, Giovanna Caputo Almeida

Composição de AGs e sua distribuição interposicional nos TAGs como suporte para melhoria da suplementação em fórmulas infantis / Giovanna Caputo Almeida Ferreira. -- Maringá, PR, 2024.

39 f.: il. color., figs.

Orientador: Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2024.

1. Triacilgliceróis. 2. Lipídeos. 3. Ácidos graxos. 4. Interesterificação enzimática. 5. Leite humano. I. Santos Junior, Oscar de Oliveira, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDD 23.ed. 664

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

**“COMPOSIÇÃO DE AGS E SUA DISTRIBUIÇÃO INTERPOSICIONAL NOS
TAGS COMO SUPORTE PARA MELHORIA DA SUPLEMENTAÇÃO EM
FÓRMULAS INFANTIS”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.

Prof. Dr. Lucas Ulisses Rovigatti
Chiavelli


Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

Profa. Dra. Patrícia Daniele da Silva dos
Santos

Profa. Dra. Suelen Pereira Ruiz

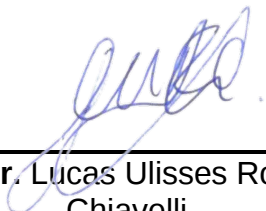

Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior
Orientador

Maringá – 2023

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

**“COMPOSIÇÃO DE AGS E SUA DISTRIBUIÇÃO INTERPOSICIONAL NOS
TAGS COMO SUPORTE PARA MELHORIA DA SUPLEMENTAÇÃO EM
FÓRMULAS INFANTIS”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.

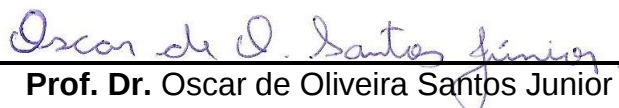


**Prof. Dr. Lucas Ulisses Rovigatti
Chiavelli**

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

**Profa. Dra. Patrícia Daniele da Silva dos
Santos**

Profa. Dra. Suelen Pereira Ruiz



**Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior
Orientador**

Maringá – 2023

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

**“COMPOSIÇÃO DE AGS E SUA DISTRIBUIÇÃO INTERPOSICIONAL NOS
TAGS COMO SUPORTE PARA MELHORIA DA SUPLEMENTAÇÃO EM
FÓRMULAS INFANTIS”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.

**Prof. Dr. Lucas Ulisses Rovigatti
Chiavelli**

Patricia Daniele S. dos Santos

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

**Profa. Dra. Patrícia Daniele da Silva dos
Santos**

Profa. Dra. Suelen Pereira Ruiz

Oscar de O. Santos Junior

**Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior
Orientador**

GIOVANNA CAPUTO ALMEIDA FERREIRA

**“COMPOSIÇÃO DE AGS E SUA DISTRIBUIÇÃO INTERPOSICIONAL NOS
TAGS COMO SUPORTE PARA MELHORIA DA SUPLEMENTAÇÃO EM
FÓRMULAS INFANTIS”**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos.

Prof. Dr. Lucas Ulisses Rovigatti
Chiavelli

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

Profa. Dra. Patrícia Daniele da Silva dos
Santos

Profa. Dra. Suelen Pereira Ruiz

Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior
Orientador

Orientador

Oscar de Oliveira Santos Junior

BIOGRAFIA

Giovanna Caputo Almerida Ferreira graduada em Ciências Biológicas (2005), pela UniCesumar; Especialização em Análise de Processos na Indústria Alimentícia (2006 - 2007), Mestrado em Ciências da Saúde (2007 - 2009) e doutoranda do programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Experiência em pesquisa na área de Biologia Molecular e diagnóstico de contaminação alimentar por Fungos e Micotoxinas e análises de ácidos graxos em amostras de leite humano, bovino e caprino. Atuante como docente do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico de Biologia do Instituto Federal do Paraná - Campus Paranavaí desde 02/12/2013.

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado está apresentada na forma de dois artigos científicos.

Artigo 1 - **Produção de sucedâneo da gordura do leite humano por interesterificação enzimática: uma revisão**, publicado no periódico: Research, Society and Development, v. 10, n. 3, e36210313469, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13469>. Recebido: 02/03/2021 | Revisado: 07/03/2021 | Aceito: 11/03/2021 | Publicado: 19/03/2021

Autores: Giovanna Caputo Almeida Ferreira, Jiuliane Martins da Silva, Geovane Aparecido Ramos da Silva, Isadora Boaventura Ponhozi, Matheus Campos de Castro, Patrícia Magalhães de Souza, Victor Hugo Maldonado da Cruz, Oscar de Oliveira Santos Junior.

Artigo 2 – Análise Comparativa da Composição dos Ácidos Graxos em Leite Humano, de Vaca e de Cabra e sua Distribuição Interposicional nos Triacilgliceróis. Será submetido à revista Journal of the Brazilian Chemical Society
Autores: Giovanna Caputo Almeida Ferreira e Oscar de Oliveira Santos Junior.

GENERAL ABSTRACT

The human milk (HM) is considered the primary source of nutrients and energy for infants, from a nutritional, immunological and food safety perspective. The best way to insure the provision of necessary nutrients for the infants through breastfeeding. However when this practice is not possible the use of infant formula (IF) appears as an alternative for infant feeding.

IFs are labeled by the different sources of fat, most of which contain mixture commercially fat based of skimmed milk from ruminants (cow and goat) supplemented with vegetable oils such as coconut, corn, soy, palm, sunflower, peanut and rapeseed oil, aiming to mimic the fatty acid (FAs) of HM.

The HM and the cow's milk are rich in saturated fatty acids like palmitic acid (C16:0), with most being located at the sn2 position of the Triacylglycerol (TAG) molecules. In contrast, in cow's milk and vegetable oils, they are present and in a smaller proportions in this position.

The digestion process of HM fat, with C16:0 at the sn 2 position in TAGs, results in monoacylglycerols that are digested and absorbed more efficiently by the infant. Conversely, after hydrolysis, the C16:0 present as free fatty acids tends to bind to calcium and form insoluble calcium soaps in the intestine, which can lead to dry stools and constipation.

The enzymatic interesterification of mixtures between solid fats and vegetable oils can create products with excellent characteristics called structured lipids, which can be used as substitutes for HM fat in IFs.

Enzymatic interesterification offers the advantage of greater control over the positional distribution of fatty acids in the final product due to the selectivity and regiospecificity of lipases in fatty acids.

To gather data on the production of human milk fat substitutes through enzymatic interesterification and characterize the composition of fatty acids and their interpositional distribution in TAGs of human, cow, and goat milk samples, as support for improving supplementation in IFs.

This work involved a bibliographic review of the production of human milk fat substitutes by enzymatic interesterification. The literature search was conducted using the keywords: Enzymatic interesterification and human milk, and later the inclusion of the term structured lipids. The terms were searched together to optimize the search for relevant articles.

Scientific articles were searched in the Capes Journals, Science Direct, Scielo (Scientific Electronic Library Online), and PubMed from 2015 to 2021.

The composition of fatty acids in samples of HM, cow's milk, and goat's milk, as well as the analysis of the interpositional distribution of fatty acids in TAGs, was performed in the laboratory using a gas chromatograph (GC) equipped with Flame Ionization Detector (FID) and a nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), respectively.

Through the search for bibliographic references, it can be noted that several research groups worldwide are working on refinement and adjustment tests of the interesterification technique and the use of the best enzyme for the production of substitutes from various natural sources of oils and fats. However, there are not many records of patented products yet.

The lipid quality in human milk stood out when compared to that of cow's and goat's milk. However, the variety of types of fatty acids in goat's milk exceeded that of human and cow's milk. There was a predominance of saturated fatty acids (SFA) at the sn-2 position of TAGs, while monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids showed a more pronounced distribution at the sn-1 and sn-3 positions in human milk. In contrast, cow's milk samples revealed that the sn-1 and sn-3 positions are mainly esterified by unsaturated fatty acids. Moreover, fatty acids in ruminant milk consist mainly of long-chain fatty acids (LCFAs), with oleic acid being the most abundant. Such variations in the interpositional compositions of the analyzed lipids may be related to differences in animal breeds and diets.

The study of comparative analyses of the lipid profile among samples of milk from various sources, as well as matrices used as lipid supplements in IFs, is potentially important for the development of dairy products that have greater similarity to human milk and ensure the best development of infants. It is also necessary for more research to be conducted to reach a substitute product with the best characteristics achievable through enzymatic interesterification.

Keywords: Interesterification, Substitute, Infant Formula

RESUMO GERAL

O leite humano(LH) é considerado a principal fonte de nutrientes e energia para os bebês sob o ponto de vista nutricional, imunológico e de segurança alimentar. A melhor forma de assegurar a oferta dos nutrientes necessários para o lactente é por meio da amamentação, porém, quando essa prática é impossibilitada, o uso de Fórmula Infantil (FI) aparece como uma alternativa para a alimentação do bebê.

As FIs são rotuladas por diferentes fontes de gordura, a maioria das quais contém uma mistura de gordura comercial à base de leite desnatado de ruminantes (Vaca e Caprino) suplementado com óleos vegetais como óleo de côco, milho, soja, palma, girassol, amendoim e colza, visando simular a composição de ácidos graxos (AGs) do LH.

O LH e o leite de vaca são ricos em ácidos graxos saturados como o ácido palmítico (C16:0), sendo que no LH a maior parte está localizada na posição *sn* 2 das moléculas de Triacilgliceróis (TAGs), já no leite de vaca e nos óleos vegetais se encontram em menor proporção nessa posição.

A hidrólise da gordura do LH, no processo de digestão, com C16:0 na posição *sn* 2 nos TAGs, resulta em monoacilgliceróis que são digeridos e absorvidos com mais eficiência pelo lactente. Em contraste, após a hidrólise, os C16:0 presentes como AG livres, tendem a se ligar ao cálcio e formar sabões de cálcio insolúveis no intestino que podem causar ressecamento das fezes e prisão de ventre.

O processo de Interesterificação de misturas entre gorduras sólidas e óleos vegetais pode formar produtos com excelentes características chamados lipídeos estruturados, que podem ser utilizados como sucedâneos da gordura do leite humano em FIs.

A Interesterificação enzimática oferece a vantagem de um maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final, devido à seletividade e regioespecificidade das lipases nos ácidos graxos.

Fazer um levantamento de dados sobre a produção de sucedâneos da gordura do leite humano pelo processo de Interesterificação enzimática e caracterizar a composição dos AGs e sua distribuição interposicional nos TAGs de amostras de leite humano, de vaca e caprino. como suporte para melhoria da suplementação em FIs.

Este trabalho reuniu uma revisão bibliográfica sobre a produção de sucedâneo da gordura do leite humano por Interesterificação enzimática. O levantamento bibliográfico se deu utilizando as palavras-chave: Interesterificação enzimática e leite humano e posteriormente a inclusão do termo lipídeos estruturados. Os termos foram pesquisadas de forma conjunta para otimizar a busca de artigos de interesse.

Os artigos científicos foram pesquisados nos Periódicos Capes, Science Direct, Scielo (*Scientific Electronic Library Online*) e Pubmed no período de 2015 a 2021.

A composição dos AGs em amostras de LH, leite de vaca e leite de cabra, bem como a análise da distribuição interposicional dos AGs nos TAGs foram realizadas em laboratório utilizando um cromatógrafo gasoso (CG) equipado com Dectector de Ionização de Chamas (FID), e um espectroscópio de ressonância magnética nuclear (RMN), respectivamente.

Através da busca de referências bibliográficas pode-se notar que vários grupos de pesquisadores no mundo trabalham com testes de aprimoramento e ajuste da técnica de interesterificação e do uso da melhor enzima para a produção do sucedâneo a partir de diversas fontes naturais de óleos e gorduras. Porém ainda não há muitos registros de produtos patenteados.

A qualidade lipídica no leite humano se destacou quando comparada a do leite bovino e caprino. Contudo, a quantidade de tipos de ácidos graxos no leite caprino superou a do leite humano e bovino. Observou-se uma predominância de ácidos graxos saturados (SFA) na posição sn-2 dos TAGs, enquanto ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e poliinsaturados (PUFA) apresentaram uma distribuição mais acentuada nas posições sn-1 e sn-3 no leite humano. Em contraste, amostras de leite de vaca revelam que as posições sn-1 e sn-3 são esterificadas principalmente por ácidos graxos insaturados. Além disso, os ácidos graxos no leite de ruminantes consistem principalmente em ácidos graxos de cadeia longa (LCFAs), com ácido oleico sendo o mais abundante. Tais variações nas composições intrapositionais dos lipídios analisados podem estar relacionadas às diferenças nas raças e dietas dos animais.

O estudo acerca de análises comparativas sobre o perfil lipídico entre amostras de leite de diversas origens, bem como de matrizes utilizadas como suplementos de lipídeos nas FIs, é potencialmente importante para o desenvolvimento de produtos lácteos que tenham maior similaridade ao Leite Humano e garantam o melhor desenvolvimento dos lactentes. Assim como faz-se necessário que mais pesquisas sejam desenvolvidas para que se chegue em um produto sucedâneo com as melhores características conforme é possível de se alcançar através da interesterificação enzimática.

Palavras chaves: Interesterificação, Sucadâneo, Fórmula Infantil

ARTIGO 1

Research, Society and Development, v. 10, n. 3, e36210313469, 2021
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13469>

Produção de sucedâneo da gordura do leite humano por interesterificação enzimática: uma revisão

Production of human milk fat substitute by enzyme interesterification: a review

Producción de sustituto de grasa de la leche humana mediante interesterificación enzimática: una revisión

Recebido: 02/03/2021 | Revisado: 07/03/2021 | Aceito: 11/03/2021 | Publicado: 19/03/2021

Giovanna Caputo Almeida Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5757-5962>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: gicaputo@gmail.com

Juliane Martins da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4275-2019>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: juli_ane.martins@hotmail.com

Geovane Aparecido Ramos da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3749-6938>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: geovane.rsilva21@gmail.com

Isadora Boaventura Ponhozi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7230-161X>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: isa.ponhozi@gmail.com

Matheus Campos de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9918-1491>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: 1996mcastro@gmail.com

Patrícia Magalhães de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5916-0744>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: patricia.magalhaes11@hotmail.com

Victor Hugo Maldonado da Cruz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2050-9149>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: victor.hugo.maldonado.cruz@gmail.com

Oscar de Oliveira Santos Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9631-8480>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: oliveirasantos.oscardeoliveira@gmail.com

Resumo

O leite humano é considerado a principal fonte de nutrientes e energia para os bebês sob o ponto de vista nutricional, imunológico e de segurança alimentar. A melhor forma de assegurar a oferta dos nutrientes necessários para o lactente é por meio do leite materno, porém, quando a prática da amamentação é impossibilitada, o uso de Fórmula Infantil aparece como uma alternativa para a alimentação do bebê. O processo de Interesterificação de misturas entre gorduras sólidas e óleos vegetais pode formar produtos com excelentes características chamados lipídeos estruturados, que podem ser utilizados como sucedâneos da gordura do leite humano em fórmulas infantis. A Interesterificação enzimática oferece a vantagem de um maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final, devido à seletividade e regioespecificidade das lipases nos ácidos graxos. Este trabalho reuniu trabalhos recentes sobre a produção de

sucedâneo da gordura do leite humano por Interesterificação enzimática. Através da busca de referências pode-se notar que vários grupos de pesquisadores no mundo trabalham com testes de aprimoramento e ajuste da técnica de interesterificação e do uso da melhor enzima para a produção do sucedâneo a partir de diversas fontes naturais de óleos e gorduras. Porém ainda não há muitos registros de produtos patenteados. Dessa maneira faz-se necessário que mais pesquisas sejam desenvolvidas para que se chegue em um produto sucedâneo com as melhores características para que seja submetido a patente.

Palavras-chave: Lipídeo estruturado; Fórmula infantil; Triacilgliceróis (TAG).

Abstract

Human milk is considered the main source of nutrients and energy for babies from a nutritional, immunological, and food security point of view. The best way to ensure the supply of the necessary nutrients for the infant is through breast milk, however, when the practice of breastfeeding is impossible, the use of Infant Formula appears as an alternative for the baby's feeding. The Interesterification process of mixtures between solid fats and vegetable oils can form products with excellent characteristics called structured lipids, which can be used as substitutes for human milk fat in infant formulas. The interesterification enzymatic offers the advantage of greater control over the positional distribution of fatty acids in the final product, due to the selectivity and regiospecificity of lipases in fatty acids. This work brought together recent work on the fat substitute for the production of human milk by interesterification enzyme. Through the search for references, it can be noted that several groups of researchers in the world work with tests to improve and adjust the interesterification technique and the use of the best enzyme for the production of substitutes from different natural sources of oils and fats. However, there are still not many registrations of patented products. In this way, more research must be developed to arrive at a substitute product with the best characteristics for it to be submitted for a patent.

Keywords: Structured lipid; Infant formula; Triacylglycerols (TAG).

Resumen

La leche materna se considera la principal fuente de nutrientes y energía para los bebés desde el punto de vista nutricional, inmunológico y de seguridad alimentaria. La mejor forma de asegurar el aporte de los nutrientes necesarios para el lactante es a través de la leche materna, sin embargo, cuando la práctica de la lactancia materna es imposible, el uso de Fórmula Infantil aparece como una alternativa para la alimentación del bebé. El proceso de interesterificación de mezclas entre grasas sólidas y aceites vegetales puede formar productos con excelentes características denominados lípidos estructurados, que pueden utilizarse como sustitutos de la grasa de la leche materna en fórmulas infantiles. La interesterificación enzimática ofrece la ventaja de un mayor control sobre la distribución posicional de los ácidos grasos en el producto final, debido a la selectividad y regiospecificidad de las lipasas en los ácidos grasos. Este trabajo reunió trabajos recientes sobre el sustituto de grasas para la producción de leche materna por enzima de interesterificación. A través de la búsqueda de referencias, se puede notar que varios grupos de investigadores en el mundo trabajan con pruebas para mejorar y ajustar la técnica de interesterificación y el uso de la mejor enzima para la producción de sustitutos a partir de diferentes fuentes naturales de aceites y grasas. Sin embargo, todavía no hay muchos registros de productos patentados. De esta manera, se deben desarrollar más investigaciones para llegar a un producto sustituto con las mejores características para que sea presentado a una patente.

Palabras clave: Lípido estructurado; Formula infantil; Triacilgliceroles (TAG).

1. Introdução

O leite humano é considerado a principal fonte de nutrientes e energia para os bebês sob o ponto de vista nutricional, imunológico e de segurança alimentar (Brys et al., 2017). É um alimento rico em gordura,

minerais, vitaminas, enzimas e imunoglobulinas que protegem contra doenças. Apesar de o leite maduro ser formado por cerca de 87% de água, o restante, 13%, é uma poderosa combinação de elementos fundamentais para o crescimento e desenvolvimento da criança (Silva & Gioielli, 2009).

A fração lipídica é a principal fonte de energia para o neonato; contribuindo com 40% a 55% do total de energia consumida por ele em aleitamento materno exclusivo. Ela apresenta um conteúdo médio de 4,2g/dL, sendo constituída 98% por triacilgliceróis (TAG). Além de prover ao recém-nascido ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico (C18:2n-6) e ácido α -linolênico (C18:3n-3), também oferece o Ácido Araquidônico (AA) (C20:4n-6), o Ácido Eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n-3) e o Ácido Docosa-Hexaenoico - DHA (C22:6n-3), que não são sintetizados pelos recém-nascidos (Costa & Sabarense, 2010).

Os lipídios são os constituintes mais variáveis do leite humano, e seu conteúdo e composição são influenciados por vários fatores, como período de lactação, dieta e diferenças individuais. Algumas características da gordura do leite humano são significativamente diferentes de outros lipídios naturais (Wei, Jin & Wang, 2019).

Recentemente, a estrutura do TAG obteve mais atenção no que diz respeito à importância nutricional na digestão e metabolismo de lipídios. A distribuição de ácido palmítico (PA, 16:0) em TAGs de leite humano, por exemplo, é diferente em comparação com óleos vegetais e outras gorduras do leite de mamíferos. Cerca de 60-70% de PA está localizado na posição sn- 2 dos TAGs de leite humano e os ácidos graxos insaturados e ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) estão nas posições sn-1 e sn-3; essas posições são importantes pois estão envolvidas na promoção da absorção de íons de cálcio além de evitar constipação dos bebês (He et al., 2017; Wang et al., 2016, Wei et al., 2015; Soumanou; Pérignon & Villeneuve, 2013).

Além disso os ácidos graxos de cadeia média e os monoacilgliceróis possuem atividade antibacteriana, que pode ter efeitos funcionais no estabelecimento da microbiota intestinal e na função imune associada ao intestino no início da vida (Yuan et al., 2019; Nejrup, Licht, & Hellgren, 2017).

A melhor forma de assegurar a oferta dos nutrientes necessários para o lactente é por meio do leite materno, porém, quando a prática da amamentação é impossibilitada, o uso de Fórmula Infantil aparece como uma alternativa para a alimentação do bebê. Apesar do avanço no processo tecnológico, essas fórmulas ainda apresentam grandes diferenças na composição quando comparadas ao leite materno e são principalmente constituídas de leite de vaca e óleos vegetais (Kus et al., 2011).

Segundo Wei, Jin & Wang (2019), a distribuição posicional de três ácidos graxos principais na gordura do leite humano difere significativamente da gordura do leite de vaca e dos óleos vegetais típicos. A gordura do leite de vaca tem conteúdo semelhante de PA à gordura do leite humano, enquanto a porcentagem de PA ligada à posição sn -2 na gordura do leite de vaca (cerca de 40%) e na gordura do leite humano (70%) são diferentes. Em TAGs de óleos vegetais, ácidos graxos insaturados (como ácido oléico -

OA e ácido linoléico - LA) são principalmente esterificados na posição sn -2, enquanto os ácidos graxos saturados como PA, estão ligados à posição sn -1,3, que está em contraste com a posição na gordura do leite humano.

Segundo Silva & Gioielli, (2006), a Interesterificação de misturas entre gorduras sólidas e óleos vegetais pode formar produtos com excelentes características, o rearranjo ou a randomização dos ácidos graxos nos triacilgliceróis produz gorduras ou óleos com diferentes propriedades físicas chamados lipídeos estruturados (SL).

Os SLs são TAGs que foram quimicamente ou enzimaticamente modificados para alterar os ácidos graxos ligados à estrutura do glicerol, a fim de imitar a estrutura TAG (produzir um sucedâneo) da gordura do leite humano para uso em fórmula infantil (Yuan et al., 2020).

O Palmitato sn-2 é um típico triacilglicerol estruturado específico que pode ser sintetizado química e enzimaticamente. A síntese química produz produtos randomizados nos quais os ácidos graxos são distribuídos aleatoriamente entre as três posições da estrutura do glicerol. Contudo, algumas lipases, método enzimático, têm regiospecificidade sn-1,3 quando usado com alguns solventes orgânicos, que podem ser usados para modificar o ácido graxo na posição sn-1,3 (Forsyth, Gautier, & Salem, 2017).

A Interesterificação enzimática oferece a vantagem de um maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final, devido à seletividade e regiospecificidade das lipases nos ácidos graxos (Silva et al., 2012). Desse modo o objetivo deste trabalho foi fazer um levantamento de dados recentes sobre a produção de sucedâneos da gordura do leite humano pelo processo de Interesterificação enzimática.

2. Metodologia

O levantamento bibliográfico ocorreu entre outubro de 2020 e fevereiro de 2021 e a metodologia desta pesquisa foi apoiada pelos estudos de Pereira et al., (2018) e caracterizada de forma quantitativa avaliando os artigos científicos referentes a produção de sucedâneos da gordura do leite humano pelo processo de Interesterificação enzimática.

O levantamento bibliográfico se deu utilizando as palavras-chave: Interesterificação enzimática e leite humano e posteriormente a inclusão do termo lipídeos estruturados. Os termos foram pesquisados de forma conjunta para otimizar a busca de artigos de interesse.

Os artigos científicos foram pesquisados nos Periódicos Capes, Science Direct, Scielo (*Scientific Electronic Library Online*) e Pubmed com refinamento para o período de 2015 a 2021 e selecionando somente artigo científico. Foi realizada uma plotagem gráfica utilizando Excel®, dos artigos encontrados por ano de publicação e posteriormente foram selecionadas as publicações que atendessem o objetivo do trabalho para discussão.

Apesar da limitação do período outros artigos referência no assunto foram selecionados para compor

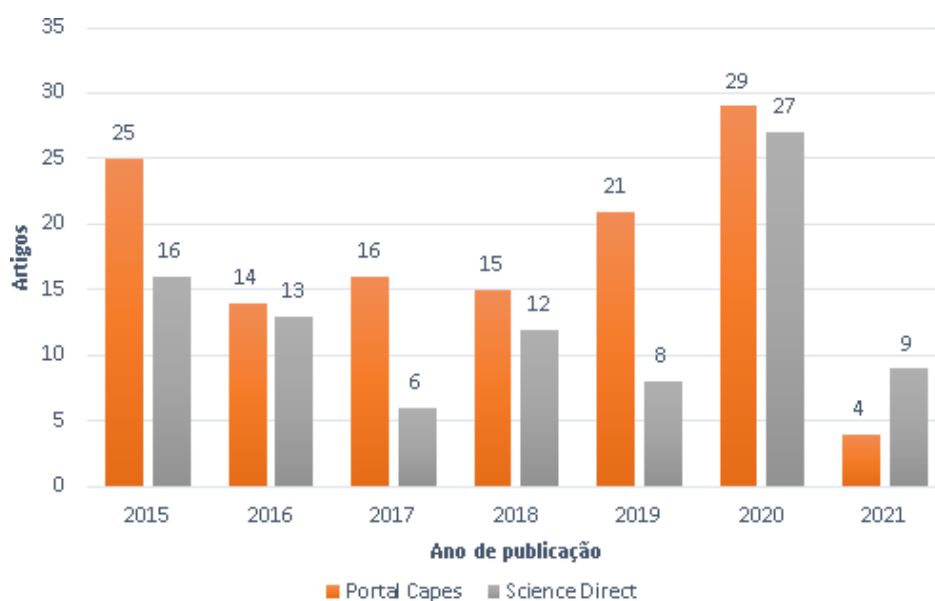
a introdução e discussão deste trabalho independente da data da publicação.

3. Resultados e Discussão

A busca na plataforma *Scielo* com as palavras chave Interesterificação enzimática e leite humano, tanto em português, quanto em inglês, não obteve êxito resultando em nenhum artigo encontrado utilizando os dois termos de forma conjunta. A base Pubmed revelou uma quantidade menor de artigos comparado ao Portal Capes e Science Direct. Principalmente quando delimitou-se o período da publicação, com um total de 2 (dois) artigos encontrados para os termos pesquisados. Desse modo foi utilizado como base de dados, o Portal Capes e Science Direct para seleção dos artigos para discussão do trabalho.

A busca pelo Portal Capes resultou em 124 artigos publicados no período de 2015 à 2021. Pelo Science Direct o resultado foi de 91 artigos na pesquisa com as palavras Interesterificação enzimática e leite humano e limitado ao mesmo período. (Figura 1).

Figura 1 – Gráfico do número de artigos encontrados entre 2015 e 2021 nas buscas no Portal Capes e Science Direct.



Fonte: Dados do Pesquisador.

A grande maioria dos trabalhos encontrados no Science Direct também foram encontrados no Portal Capes com destaque de exceção para dois trabalhos selecionados no Science Direct, Korma et al., (2018) e Wei, Jin e Wang, (2019) que não foram encontrados pela busca dos mesmos termos no Portal Capes.

Korma et al., (2018) fizeram um trabalho de pesquisa na qual sintetizaram SLs ricos em TAGs de cadeia média-longa (MLCTs), em um sistema livre de solvente utilizando quatro lipases imobilizadas comerciais de diferentes fontes para comparação quanto à sua eficiência.

TAGs de cadeia longa (LCTs) são a forma predominante de óleos comestíveis comuns e servem como fonte de ácidos graxos de cadeia longa (LCFAs), incluindo ácidos graxos essenciais (EFAs). Os TAGs de cadeia média (MCTs) têm o problema de deficiência de EFA, isso criou a necessidade de desenvolvimento de SLs específicos, chamados MLCTs, que retêm os benefícios tanto dos LCTs quanto dos MCTs, (Akoh & Kim 2008).

Os resultados revelados por Korma *et al.*, (2018) indicaram que o maior rendimento de MLCTs foi alcançado pelo Lipozyme 435 como biocatalisador. Nas melhores condições de reação os SLs ricos em MLCTs obtidos podem ser sugeridos como um análogo nutricional e funcional da gordura com aplicações potenciais na indústria de fórmulas infantis.

O trabalho de Wei, Jin e Wang, (2019) é uma revisão na qual discutem a história e os avanços recentes em substitutos da gordura do leite humano (HMFSs). Eles relatam os esquemas de reação catalisada por enzimas e seus produtos dando destaque aos que já estão no mercado. O Betapol® desenvolvido por IOI Loders Croklaan (Channahon, IL, EUA) foi o primeiro sn -2 palmitato comercial. O produto foi sintetizado por um processo de uma etapa, pela acidólise da estearina de palma com OA (obtidos do óleo de girassol alto oleico), usando lipase imobilizada- sn1,3 regioseletiva (*Rhizomucor miehei*) resultando em 65% de PA na posição sn-2. Além do Betapol® também existem outros produtos de palmitato sn -2 comercializados, incluindo InFat® (AAK, Edison, NJ, EUA), Bonamil (Wyeth Ayerst), Also (Nestlé) e Cow e Gate Premium (Nutricia).

Kim & Akoh (2015) também publicaram uma revisão bibliográfica com o intuito de fornecer informações concisas sobre as tendências recentes de pesquisa sobre a síntese enzimática de SLs de interesse comercial na indústria de alimentos usando lipases e fosfolipases como biocatalisadores.

Além dos trabalhos destacados do Science Direct relatados acima, dos 124 artigos encontrados pelo portal Capes, somente nove continham os dois termos buscados na íntegra, ou seja, realmente abordaram no trabalho Interesterificação enzimática e leite humano. Como os termos utilizados para a pesquisa eram compostos, a busca trouxe muitos trabalhos que abordavam parte dos termos como “enzimática” e “leite” ou “Interesterificação” e “humano” por exemplo; consequentemente não serviram para discussão no trabalho.

Dos nove trabalhos específicos encontrados, seis apresentaram como objetivo a produção de um substituto da gordura do leite humano (HFMS) por processo de interesterificação enzimática a partir de diversas fontes de óleos e gorduras naturais (Yuan *et al.*, 2020; Tecelão *et al.*, 2019; Ghosh *et al.*, 2016; Zou *et al.*, 2016; Djajasoepena *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2015).

Yuan *et al.*, (2020), por exemplo sintetizaram Lípidos estruturados enriquecidos com TAGs de cadeia média e longa (MLCTs) por interesterificação de óleo de côco e de Bagre, usando a enzima NS 40086. O SL enriquecido com MLCT mostrou grande potencial de aplicação para o desenvolvimento de fórmulas infantis tornando sua composição TAG mais próxima da gordura do leite humano.

Ghosh *et al.*, (2016), fizeram a interesterificação com estearina de palma fracionada (PSF) e óleo de

peixe (FO) rico em ácidos graxos n-3 poliinsaturados (n-3 PUFA) catalisada pela lipase de *Thermomyces lanuginosa* para a obtenção de um produto com estrutura de TAG semelhante à da gordura do leite humano. A mistura de PSF e FO na razão molar de 2: 1 com teor de PA de 69,70% e 12 h de reação produziu o produto desejado com 75,98% de PA em *sn*-Posição 2, 0,27% de AA, 3,43% de EPA e 4,25% de DHA e com ponto de fusão de 42 ° C. Este estudo retratou uma preparação bem-sucedida de TAG contendo composição única de FA, ou seja, $\geq 70\%$ do PA, por peso, foram esterificados na posição *sn*- 2, que poderia ser usada em formulação infantil com benefícios para a saúde de n-3 PUFA.

Tecelão et al., (2019), utilizaram a lipase / aciltransferase de *Candida parapsilosis* (CpLIP2) não comercial imobilizada em Accurel MP1000, como biocatalisador para a interesterificação de tripalmitina com oleato de etila em meio livre de solvente, para obtenção de lipídios estruturados usado como HMFS. A quantidade de ácido oleico na posição *sn*-2 foi de aproximadamente 15% para todas as razões molares testadas. CpLIP2 exibiu maior atividade do que a maioria lipases imobilizadas comerciais (por exemplo, reação mais rápida em meio sem solvente, baixa carga de enzima e baixa razão molar necessária), e mostrou um comportamento regiosseletivo *sn*-1,3 reconhecido.

Lee et al., (2015), produziram os HFMS usando gorduras naturais não pré-processadas e óleos com lipase. Após interesterificação de tripalmitina e ácido oleico em isooctano, os produtos da reação continham 55,2% de 1,3-di-oleoil-2-palmitoil glicerol (OPO). O rendimento de OPO foi de 25,2% quando óleo de palma comercial e óleo de camélia foram usados como substratos, e a concentração de OPO foi aumentada para 53,3% após a cristalização fracionada do produto da reação.

Djajasoepena et al., (2015) tiveram como objetivo sintetizar 1,3-di-oleoil-2-palmitoilglicerol (OPO) e determinar a melhor composição de OPO, óleo de coco virgem (VCO), óleo de soja e óleo de peixe para a produção de HMFS para fórmula infantil. A interesterificação de tripalmitina e oleato de etila usando lipase imobilizada de *Rhizomucor miehei* (Lipozym RM IM) foi usada para sintetizar a OPO. A partir desta pesquisa, foram obtidos HMFS contendo PA até 28,89%, onde 84,49% está localizado em *sn*-2, enquanto a posição *sn*-1,3 é dominada por ácido oleico em até 55,11% do total de 38,7% e 70: 18: 10: 2 w / w é a melhor composição de produto de interesterificação, VCO, óleo de soja e óleo de peixe respectivamente, para obter HMFS semelhante ao HMF.

Zou et al., 2016 fizeram a interesterificação catalisada por Lipozyme RM IM da mistura de banha de porco com óleos selecionados em um reator de leito fixo. Quatro misturas de óleos com alta similaridade em perfis de ácidos graxos da gordura do leite humano foram obtidas. A proporção ótima foi determinada como banha: óleo de girassol: óleo de canola: óleo de palmiste: óleo de palma: óleo de algas: óleo microbiano = 1,00: 0,10: 0,50: 0,13: 0,12: 0,02: 0,02. Sob estas condições o produto final apresentou perfis de fusão e cristalização semelhantes aos do da gordura do leite humano. Porém, devido à perda de tocoferóis durante o processo de desacidificação, a estabilidade oxidativa foi inferior à da mistura de óleo.

Os outros três trabalhos encontrados de forma específica no Portal Capes, realizaram pesquisa sobre metodologias e análise dos produtos pós interesterificação (Bryś et al., 2019; Wang et al., 2019; Bryś et al., 2017).

Wang et al., (2019), produziram OPO através de três diferentes tecnologias de processamento. A matéria-prima para o primeiro método e o segundo método foi o óleo de palma, e seu catalisador foi Novozym 435 e Lipozyme TL IM. O terceiro método produziu palma estearina (PS) enriquecida em PA catalisando primeiro estearina de palma com metóxido de sódio, e depois estearina de palma enriquecida em PA e misturada óleos vegetais catalisados por Lipozyme TL IM. O conteúdo de OPO e A posição sn-2 PA dos três métodos foi superior a 40,34% e 39,34%. O conteúdo relativo de PA localizado na posição sn-2 e OA localizado na posição sn-1, 3 foi superior a 59,97% e 66,01%.

Bryś et al., (2017) fizeram a avaliação analítica de substitutos da gordura do leite humano sintetizados via interesterificação enzimática de misturas de banha e óleo de cardo de leite por uma lipase específica sn-1,3 comercial imobilizada, utilizando métodos calorimétricos e cromatográficos. Em geral, o teor de FFA da mistura aumentou após a reação de interesterificação. A distribuição posicional dos ácidos graxos no TAG das misturas interesterificadas foi semelhante à gordura do leite humano. As posições sn-1,3 contêm predominantemente AF insaturado, principalmente ácido oleico e a posição sn-2 contém principalmente ácido palmítico.

Alguns trabalhos apresentam o termo acidólise enzimática como o processo abordado (He et al., 2017; Zheng et al., 2017; Cai et al., 2015;) que não deixa de ser uma Interesterificação, ou seja deve-se considerar esses trabalhos como fonte para revisão bibliográfica para estudos da produção de um HFMS.

He et al., (2018), implementaram um método para produzir HFMS usando óleos de microalgas de *N. oculata* e *I. galbana* via acidólise sem solvente com as enzimas Novozym 435, Lipozyme 435 e TL-IM e RM-IM como biocatalisadores. Os autores destacaram ainda que HFMS contendo conteúdo relativamente alto de PA na posição sn -2 da estrutura do glicerol e quatro tipos de ácidos graxos n-3 (ALA-SDA-EPA-DHA) podem ser usados como ingredientes importantes em fórmulas infantis. Acredita-se que os óleos de microalgas de alto valor têm o potencial de serem aplicados na produção de HFMS para fornecer ácidos graxos benéficos à saúde para o crescimento e desenvolvimento infantil.

Muitos trabalhos que não apresentaram os dois termos principais buscados, também servem como base de referência para o estudo da produção de HFMS, pois fazem a avaliação das variáveis que interferem no processo de interesterificação

enzimática, como monitoramento do reator e teste de estabilidade dos produtos e de eficiência das enzimas por exemplo (De Paula et al., 2018; Cai et al., 2015; Kotani et al., 2015; Zhao et al., 2019; Wang et al., 2016).

De Paula et al., (2018) por exemplo, avaliaram a eficiência do reator de leito fixo (PBR) através da interesterificação de gordura do leite com óleo de soja, em meios isentos de solventes, catalisada por uma preparação de lipase a partir de *R. oryzae* imobilizado em um suporte híbrido orgânico-inorgânico de álcool polisiloxano-polivinílico (SiO₂-PVA) funcionando em modo contínuo. O uso de biocatalisadores em processos em escala laboratorial tem sido realizado em diferentes configurações de reatores, mas o processo contínuo é mais vantajoso em comparação com o lote. Um processo contínuo normalmente emprega um reator de leito fixo, que foi a configuração escolhida para ser estudada aqui. Os resultados obtidos foram satisfatórios e mostraram o potencial deste biocatalisador para a interesterificação enzimática da gordura do leite.

Wang et al., (2015) estabeleceram um método para a síntese de OPO de lipídios estruturados de alta pureza e analisaram de forma comparativa Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM em sistemas sem solvente e sem solvente em aspectos como temperatura, carga enzimática, razão molar do substrato e teor de água. A reutilização de lipases também foram estudados. Os melhores resultados foram obtidos com 10% de (peso total) Lipozyme TL IM usado em n-hexano com uma razão molar de substrato de 1: 8 a 50 ° C. Após 4 h de reação, havia 92,92% de PA na posição sn-2 e 56,32% OA na posição sn-1,3 no produto OPO. Analisados por HPLC-ELSD, os resultados mostraram que o teor de OPO foi de 32,34% e PPP de 8,14%. Ênfase especial foi dada para testar a reusabilidade das duas lipases imobilizadas, os resultados mostraram que Lipozyme TL IM era quase não reutilizável, enquanto Lipozyme RM IM conseguia manter sua atividade por pelo menos 15 vezes (cerca de 60 h).

Após a busca e seleção dos artigos de interesse, percebeu-se que a busca realizada com os termos interesterificação enzimática e leite humano não especificou a biomolécula de interesse, no caso a gordura do leite humano, por esse motivo muitos trabalhos abordavam algum processo enzimático para oligossacarídeos de leite humano que não era foco para esse estudo.

Neste sentido, realizou-se a busca de mais um termo, no Portal Capes, de forma conjunta para delimitar a biomolécula de interesse e ter mais êxito em trabalhos específicos, o termo utilizado foi lipídeo estruturado. O total de artigos encontrados entre 2015 e 2021 foi de 46 (quarenta e seis). Após esse refinamento pode-se notar que os trabalhos estavam mais de acordo com o que se buscava contudo não foram diferentes dos que já estavam selecionados na primeira busca, apenas facilitou o encontro dos artigos de interesse.

4. Conclusão

A gordura do leite humano é a principal fonte de energia para o neonato e possui especificidades em sua composição que contribuem para melhor nutrição e digestão do bebê. Muitas pesquisas são realizadas para

tentar produzir um sucedâneo dessa gordura para compor fórmulas infantis e o processo de interesterificação enzimática se mostrou bastante eficaz.

Através da busca de referências pode-se notar que vários grupos de pesquisadores no mundo trabalham com testes de aprimoramento e ajuste da técnica de interesterificação e do uso da melhor enzima para a produção do sucedâneo a partir de diversas fontes naturais de óleos e gorduras. Porém ainda não há muitos registros de produtos patenteados. Dessa maneira faz-se necessário que mais pesquisas sejam desenvolvidas para que se chegue em um produto sucedâneo com as melhores características para que seja submetido a patente.

Pesquisas acerca da interesterificação entre TAGs de óleo de soja e banha de porco, por exemplo, são recomendadas pois apresentam grande potencial como um sucedâneo da gordura do leite humano patenteável para compor fórmulas infantis.

Referências

- Akoh, C. C. & Kim, B. H. (2008). Structured lipids. In: C. C. Akoh, D. B. Min, editors. *Food lipids—Chemistry, nutrition, and biotechnology*. (3a ed.), Boca Raton: CRC Press. 841–864.
- Brys, J., Flores, L. F. V., Gorska, A., Wirkowska-Wojdyla, M., Ostrowska-Ligeza, E. & Brys, A. (2017). Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130(1), 319.
- Brys, J., Flores, L. F. V., Gorska, A., Ostrowska-Ligwza, E., Brys, A., Niemiec, T. & Koczon, P. (2019). The Synthesis Followed by Spectral and Calorimetric Evaluation of Stability of Human Milk Fat Substitutes Obtained from Thistle Milk and Lard. *International Journal of Analytical Chemistry*.
- Cai, H., Yang, L., Zhao, M., Fu, G., Lai, J. & Feng, F. (2015) Immobilization, Regiospecificity Characterization and Application of *Aspergillus oryzae* Lipase in the Enzymatic Synthesis of the Structured Lipid 1,3-Dioleoyl-2-Palmitoylglycerol. *PLoS One*, 10(7).
- Costa, A.G. V. & Sabarense, C. M. (2010). Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. *Rev. Nutr.*, Campinas, 23(3), 445-457.
- De Paula, A.V. Nunes, G.F.M., De Castro, H. F. & Santos, J. C. Dos. (2018). Performance of packed bed reactor on the enzymatic interesterification of milk fat with soybean oil to yield structure lipids. *International Dairy Journal*, 86. 1-8.
- Djajasoepena, S., Suprijana, O., Saadah, D. R., Pratomo, U. & Puspitasari, S. (2015). Production of human milk Fat Replacement Rich of 1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol From Enzymatic Interesterification Tripalmitin, Ethyl Oleate And Mixture of VCO, Soybean Oil And Fish Oil. *Procedia chemistry*, 16, 384-391.
- Forsyth, S., Gautier, S., & Salem, N. (2017). A importância do DHA e ARA dietéticos no início da vida: Uma perspectiva de saúde pública. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76.(4), 568-573.
- Ghosh, M., Sengupta, A., Bhattacharyya, DK et al. (2016). Preparação de análogo da gordura do leite humano por reação de interesterificação enzimática utilizando estearina de palma e óleo de peixe. *J Food Sci Technol*, 53, 2017–2024.

- He, Y., Qiu, C., Guo, Z., Huang, J., Wang, M. & Chen, B. (2017). Production of new human milk fat substitutes by enzymatic acidolysis of microalgae oils from *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana*. *Bioresource technology*, 238,129-138.
- He, Y., Li J., Guo, Z. & Chen, B. (2018). Synthesis of novel medium- -long-medium type structured lipids from microalgae oil via two-step enzymatic reactions. *Process Biochem*, 68, 108.
- Kim, B.& Akoh, C. (2015). Recent Research Trends on the Enzymatic Synthesis of Structured Lipids. *Journal Of Food Science*, 80(8), C1713-C1724.
- Korma, S.A., Zou, X., Ali A.H., Abed, S.M., Jin, Q. & Wang, X. (2018). Preparation of structured lipids enriched with medium- and long-chain triacylglycerols by enzymatic interesterification for infant formula. *Food and Bioproducts Processing*, 107,121-130.
- Kotani, K., Yamamoto, Y. & Hara, S.K. (2015). Enzymatic Preparation of Human Milk Fat Substitutes and Their Oxidation Stability. *Journal of Oleo Science*, 64(3), 275.
- Kus, M. M. M., Silva, S. A. da, Aued-Pimentel S. & Mancini-Filho, J. (2011). Nutrition facts of infant formulas sold in São Paulo state: assessment of fat and fatty acid contents. *Rev. Nutr.*, Campinas, 24(2), 209-218.
- Lee, N., Oh, S., Kwon, D. & Yoon, S. (2015). Production of 1, 3-dioleoyl-2-palmitoyl glycerol as a human milk fat substitute using enzymatic interesterification of natural fats and oils. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 433-437.
- Nejrup, R. G. & Licht, T. R. (2017). Hellgren L.I. Fatty acid composition and phospholipid types used in infant formulas modifies the establishment of human gut bacteria in germ-free mice. *Sci Rep*. 7.
- Pereira, A.S. *et al.* (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. UFSM.
[https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia- Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1).
- Silva, R. C. da & Gioielli, L. A. (2009). Lipídios estruturados: alternativa para a produção de sucedâneos da gordura do leite humano. *Quim. Nova*, 32 (5), 1253-1261.
- Silva, R. C. da & Gioielli, L. A. (2006). Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos a partir de banha e óleo de soja. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 42(2).
- Silva, R. C., Soares, F. A. S.de M., Hazzan, M., Capacla, I. R., Gonçalves, M. I. A. & Gioielli, L. A. (2012). Continuous enzymatic interesterification of lard and soybean oil blend: Effects of different flow rates on physical properties and acyl migration. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 76, 23-28.
- Soumanou, M. M., Périgon, M. & Villeneuve, E. P. (2013). Lipase-catalyzed interesterification reactions for human milk fat substitutes production: A review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 15, 270-285.
- Tecelão, C., Perrier, V., Dubreucq, E. & Ferreira-Dias, S. (2019). Production of Human Milk Fat Substitutes by Interesterification of Tripalmitin with Ethyl Oleate Catalyzed by *Candida parapsilosis* Lipase/Acyltransferase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96 (7), 777-787.
- Zhao, J. F., Lin, J. P., Yang, L. R. & Wu, M. B. (2019). Enhanced Performance of *Rhizopus oryzae* Lipase by Reasonable Immobilization on Magnetic Nanoparticles and Its Application in Synthesis 1,3-

Diacylglycerol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 188 (3), 677-689.

Wang, J., Liu X., Wang, XD, Dong, T., Zhao, Xing-Yu, Zhu, D., Mei, Yi-Yuan, & Wu, Guo-Hua. (2016). Selective synthesis of human milk fat-style structured triglycerides from microalgal oil in a microfluidic reactor packed with immobilized lipase. *Bioresource Technology*, 220, 132-141.

Wang, Z., Du, W., Dai, L. & Liu, D. (2016). Study on lipozyme TL IM-catalyzed esterification of oleic acid and glycerol for 1,3-diolein preparation. *J MolCatal, B Enzym.*127,11–17.

Wang, Z., Liu, L., Liu, L., Liu, T., Li, C. & Sun, L. (2019). 1,3-Dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich triacylglycerol characterization by three processing methods. *International Journal of Food Properties*, 22(1),1156–1171.

Wei, W., Jin, Q. & Wang, X. (2019). Human milk fat substitutes: Past achievements and current trends Progress. *Lipid Research*, 74, 69-86.

Wei, W., Fengy, Y., Zhang, X., Cao, X. & Feng, F. (2015). Synthesis of structured lipid 1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol in both solvent and solvent-free system. *LWT - Food Science and Technology*. 60(2), 1187-1194.

Yuan, T., Wei, W., Wang, X. & Jin, Q. (2020). Biosynthesis of structured lipids enriched with medium and long-chain triacylglycerols for human milk fat substitute. *Lebensmittel-Wissenschaft + [ie und] Technologie*.128.

Yuan, T., Zhang, H., Wang, X., Yu, R., Zhou, Q., Wei, W., Wang, X. & Jin, Q. Triacylglycerol containing medium-chain fatty acid s (MCFA-TAG): The gap between human milk and infant formulas. *International Dairy Journal*. 99.

Zheng, M., Wang, S., Xiang, X., Shi, J., Huang, J., Deng, Q., Huang, F. & Xiao, J. (2017). Facile preparation of magnetic carbon nanotubes-immobilized lipase for highly efficient synthesis of 1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich human milk fat substitutes. *Food chemistry*, 228,.476-483.

Zou, X., Jin, Q., Guo, Z., Xu, X. & Wang, X. (2016). Preparation and Characterization of Human Milk Fat Substitutes Based on Triacylglycerol Profiles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(6), 781-792.

Análise Comparativa da Composição dos Ácidos Graxos em Leite Humano, de Vaca e de Cabra e sua Distribuição Interposicional nos Triacilgliceróis

Graphical Abstract (GA)



**Análise Comparativa da Composição dos Ácidos Graxos em Leite Humano, de Vaca e de
Cabra e sua Distribuição Interposicional nos Triacilgliceróis**

ªGiovanna Caputo Almeida Ferreira

ªOscar de Oliveira Santos Juniora*

ªDepartamento de Ciências de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá-PR

* oosjunior@uem.br

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9631-8480>

Abstract

Explore the composition of triacylglycerols in a milk samples from several species of ruminants, it's potentially important for the development of a dairy products that are more similar to human milk and have the guarantee of the best development of infants. In this present research work it was compared The composition of fatty acids and demonstrated it's a interpositional distribution in triacylglycerols (TAGs) in a samples of human milk, cow's milk and goats milk. The lipid quality in human milk stood out when compared with bovine and goat milk. However, the amount tapes of fatty acids in a goat milk surpassed that in a human and bovine milk. A predominance of a saturated fatty acids (SFA) was observed in the sn-2 position of TAGs, while monounsaturated fatty acids (PUFA) presents a more acentuated distribution in the sn-1 and sn-3 positions, wich are sterified mainly by acids insaturated fatty acids. Furthermore, fatty acids in ruminant milk consist mainly of long chain fatty acid (LCFAs), with oleic acid being the most abundant. Such variations in the interpositional composition of the analyzed lipids may be related to differences in animals, breeds and diets.

Keywords: Lipids, Milk, Infant Formula

Introdução

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o leite humano (LH) é considerado padrão ouro para alimentação de recém-nascidos (RN). A OMS recomenda ainda que os bebês sejam amamentados exclusivamente durante os primeiros seis meses de vida para atingirem um crescimento, desenvolvimento e saúde ideais.¹

Dentre os nutrientes presentes no LH, as gorduras contribuem com a maior parte (45%-55%) da energia necessária ao crescimento e desenvolvimento adequado do recém-nascido.²⁻³ Os diversos lipídios fornecidos pelo LH modulam a função gastrointestinal, o metabolismo das lipoproteínas, a composição e função da membrana e vias de sinalização, afetando o desenvolvimento infantil.⁴

Quando a amamentação não é possível, a alternativa alimentar recomendada para o recém-nascido é a fórmula infantil comercial (FI). Os FIs são rotulados por diferentes fontes de gordura, a maioria das quais contém uma mistura comercial de gordura à base de leite desnatado de ruminantes (vaca e cabra) suplementado com óleos vegetais como coco, milho, soja, palma, girassol, óleo de amendoim e colza. O objetivo é simular a composição dos ácidos graxos (AGs) no leite humano.⁵⁻⁸

Cerca de 98% do conteúdo lipídico total do leite humano são triacilgliceróis (TAGs). Os TAGs são compostos por três AGs conectados às posições sn-1/2/3 de uma molécula de glicerol. Os tipos e posições de ligação dos AGs desempenham papéis importantes na nutrição e no metabolismo de bebês.⁹ Não foram encontrados na literatura estudos sobre a investigação posicional de ácidos graxos nos TAGs de LH, vacas e cabras. Nesse contexto, são potencialmente importantes investigações que forneçam subsídios para o desenvolvimento de produtos lácteos mais parecidos com o LH e garantam melhor desenvolvimento dos lactentes.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma ferramenta amplamente utilizada em metabolômica, fornecendo informações qualitativas e quantitativas sobre a composição de um multicomponente. Esta técnica oferece dados relacionados à distribuição posicional dos AGs nos TAGs. Vlahov G. (2006), Merchak et al. (2015) e obtiveram sucesso quando utilizado na caracterização de triacilgliceróis em matrizes alimentares de origem vegetal e animal¹⁰⁻¹¹.

Além disso, o uso de mapas de calor para estudar AGs também é uma prática comum para visualização de dados, pois codifica valores com cores que simplificam a identificação de padrões e relações entre amostras e variáveis. Regiões com cores semelhantes destacam amostras com perfis semelhantes, enquanto cores diferentes indicam divergências nos perfis. Esta representação facilita a interpretação dos dados e torna mais eficiente a detecção de associações e tendências¹²⁻¹³. Portanto, este trabalho tem como objetivo comparar a composição dos ácidos graxos, bem como demonstrar sua distribuição interposicional nos triacilgliceróis em amostras de LH, vaca e cabra.

Experimental

Amostras

Amostras de leite humano maduro pasteurizado foram obtidas no Banco de Leite Humano (BLH) localizado no Hospital Universitário de Maringá - HUM (Maringá, Paraná). Um pool de 30 amostras (100

mL) de LH maduro foi coletado e mantido em temperatura de refrigeração (4 °C), transportado em recipiente térmico com termogel congelado e termômetro digital acoplado para controle de temperatura. Como critérios de inclusão, as amostras de LH foram obtidas de doadores com idade gestacional média de 39 semanas e idade entre 25 e 35 anos.

O LH foi submetido à secagem em mini-Spray-Dryer (Buchi, modelo B-191 (Flawil, Suíça). A secagem foi realizada por liofilização, com temperatura de entrada de 175 °C e temperatura de saída de 103 °C. C, com fluxo de água vaporizada, utilizando 100% de ar comprimido conforme recomendação de Cazos-Garduño et al.¹⁴ O leite em pó foi embalado a vácuo em sacos de alumínio isentos de luz, congelado a -18 °C, para posterior análise.

As amostras de leite bovino (leite UHT) foram adquiridas no comércio da cidade de Maringá (Paraná – Brasil) e posteriormente também liofilizadas. Da mesma forma, a amostra de leite de cabra foi adquirida comercialmente, porém no formato de leite em pó (400 g).

Extração Lipídica

A análise foi realizada utilizando o método descrito por Folch et al.¹⁵ 10 mL de amostras de LH, em triplicata, foram utilizados para obtenção de 125 mg de lipídios para metilação e posterior identificação de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG -DIC).

Metilação

Os lipídios foram esterificados em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES), conforme metodologia ISO (2000).¹⁶ Foram pesados 100,0 mg de cada amostra e adicionados 2,0 mL de n-heptano e 2,0 mL de solução de KOH/metanol. (2 mol L⁻¹). A solução foi então agitada durante 2 min e a fase orgânica foi coletada para posterior análise CG-DIC.

Análise Cromatográfica

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram preparados pelo processo de metilação de acordo com ISO (2000).¹⁶ As análises FAME foram realizadas em um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de ionização de chama (GC-FID, Shimadzu). A coluna capilar foi uma GC-2010 Plus (100,0 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm). As temperaturas do detector e do injetor foram de 250 e 240 °C, respectivamente. O forno CG-DIC foi programado para 65 °C e mantido por 4 min, depois aquecido a 185 °C a 15 °C min⁻¹ e mantido por 12 min, depois aquecido a 235 °C a 20 °C min⁻¹ e mantido por 14 minutos. As vazões de gás utilizadas foram 1,4 mL min⁻¹ para gás de arraste (H₂), 30 mL min⁻¹ para gás de reposição (N₂) e 30 e 300 mL min⁻¹ para os gases de chama (H₂ e ar sintético, respectivamente). O modo de injeção dividida foi utilizado com proporção de 1:40 e o volume de injeções de amostra foi de 2,0 µL.¹⁷ Os FAMES foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos constituintes da amostra com os dos padrões analíticos (mistura padrão FAME, C4-C24, Sigma-Aldrich, número do produto 18919-1AMP). As áreas dos picos foram determinadas usando o software principal CG Solutions da Labsolution, e as composições de AGs foram expressas como uma porcentagem relativa do total de AGs. Todas as

amostras foram analisadas em triplicata.

Análise da Distribuição dos AGs nas posições dos TAGs por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN foram realizadas seguindo o procedimento descrito por Tang et al.,¹⁸ com modificações. Aproximadamente 200 mg de leite foram adicionados em microtubos Eppendorf de 1,5 mL e solubilizados em 400 μ L de clorofórmio deuterado (CDCl_3 , 99,8% D) contendo 0,03% de tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Posteriormente, as soluções foram transferidas para tubos de RMN de 5 mm e armazenadas em geladeiras até a realização das análises.

O equipamento utilizado foi um espectroscópio de ressonância magnética nuclear Bruker Avance III HD operando a 75 MHz para o núcleo ^{13}C . Para aquisição de dados, os parâmetros estabelecidos para ^{13}C foram 256 varreduras (NS), 131k pontos de dados (TD), com largura espectral (SWH) de 245 ppm, tempo de aquisição (AQ) de 3,5s, atraso de repetição (D1) de 2s. e ângulo de pulso de 30°. O software MestReNova 12.0.0¹⁹ foi utilizado para processar os espectros.

Resultados e discussão

Composição dos AGs

A composição de ácidos graxos e a quantidade total de ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) encontrados no leite humano, leite de vaca e leite de cabra foram representados visualmente por meio de um mapa de calor, conforme ilustrado na Figura 1, onde os ácidos graxos aparecem nas linhas, enquanto as amostras são organizadas nas colunas.

Cada célula do mapa de calor contém um valor numérico que reflete a intensidade ou quantidade de ácido graxo presente em uma amostra específica de leite. Foi adotada uma escala de cores que vai do azul (0,000) ao vermelho (58,20), onde tons mais intensos de azul denotam menores concentrações de ácidos graxos, enquanto maiores concentrações são representadas por tons mais intensos de vermelho.

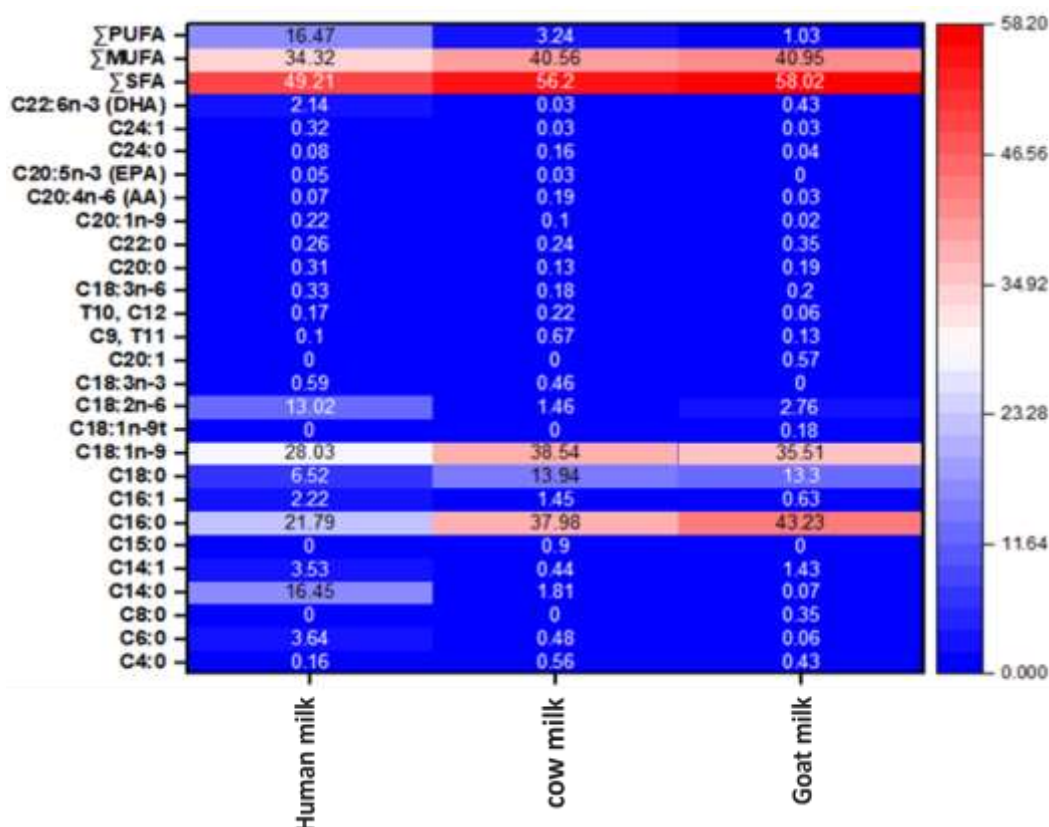


Figura 1. Mapa de calor ilustrando a composição de ácidos graxos em amostras de leite humano, leite de vaca e leite de cabra.

No leite humano foi possível identificar um total de 21 ácidos graxos, sendo que as maiores quantidades correspondem aos ácidos graxos saturados (SFA), representando 49,21% do total, seguidos pelos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e ácidos graxos poliinsaturados (PUFA); com 34,32%. e 16,47%, respectivamente. Esses achados estão alinhados com os resultados relatados por Ahmed et al., (2023)²⁰ que identificou quantidades semelhantes de ácidos graxos saturados, seguidos dos insaturados, com ênfase nos monoinsaturados, e também notou a presença de ácidos graxos poliinsaturados, à semelhança dos nossos resultados.

As quantidades de ácidos graxos saturados (SFA) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) no leite de vaca e de cabra foram maiores que no leite humano, representando 56,2% e 58,02% para SFA e 40,56% e 40,95% para MUFA, respectivamente. Porém, a principal discrepância reside nos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), pois no leite de vaca e no leite de cabra as quantidades de PUFA foram significativamente menores, representando apenas 3,24% e 1,03%, respectivamente, em comparação ao leite humano. Wang et al., (2022)²¹ também observaram essa variação, identificando concentrações de PUFAs na faixa de 3% a 5% no leite de ruminantes, enquanto valores superiores a 20% foram observados no leite humano e nas fórmulas infantis.

Aproximadamente 70% dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) encontrados no leite materno são originários de reservas acumuladas no corpo da mãe durante a gravidez, principalmente nos tecidos adiposos, e os 30% restantes são provenientes da dieta materna e do uso de suplementos nutricionais.²²

No leite humano, os SFAs mais proeminentes incluem o ácido palmítico (C16:0) representando 21,79% do total, seguido pelo ácido mirístico (C14:0) e ácido esteárico (C18:0) com 16,45% e 6,52%,

respectivamente. No leite de vaca, dos 52,60% de AGS, 37,98% são atribuídos ao ácido palmítico (C16:0) e 13,94% ao ácido esteárico (C18:0). O leite de cabra se destaca pela maior concentração de ácido palmítico (C16:0) em relação ao leite humano e ao leite de vaca, chegando a 43,23%. Além disso, possui 13,30% de ácido esteárico (C18:0). Porém, é importante destacar que o ácido mirístico (C14:0), embora presente no leite de vaca e de cabra, é encontrado em quantidades muito menores, apenas 1,81% e 0,07%, respectivamente. Isto não atende a quantidade fornecida pelo leite humano, o que pode impactar na composição nutricional e nas necessidades dos recém-nascidos em fórmulas à base de leite de vaca e de cabra.

Os recém-nascidos a termo já apresentam quantidades significativas de 16:0, pois é produzido internamente durante o desenvolvimento fetal. O leite materno é responsável por fornecer de 10 a 12% da energia alimentar na forma de 16 horas, com presença especial nos triglicerídeos. Isto realça a importância do horário das 16h para os bebês, com desequilíbrios que podem afetar potencialmente o desenvolvimento e a saúde dos recém-nascidos.²³

É importante ressaltar que o ácido pentadecanóico (C15:0), um ácido graxo de cadeia ímpar, foi encontrado exclusivamente no leite de vaca, compreendendo menos de 1% de sua composição. Este ácido graxo desempenha um papel nutricional importante, especialmente para o crescimento infantil com a presença significativa na gordura do leite humano.²⁴⁻²⁶ Porém, no âmbito deste estudo, não detectamos C15:0 no perfil lipídico do leite humano analisado, o que pode estar relacionado à forma como esses ácidos graxos estão distribuídos nos triglicerídeos do leite humano.

Em diferentes tipos de leite, o ácido oleico (C18:1n-9) destaca-se como o principal ácido graxo monoinsaturado (MUFA). Contudo, é no leite de vaca que encontramos a maior quantidade, representando 38,54% do total, superando outras variedades. No leite humano representa 28,03% do total, enquanto no leite de cabra contribui com 35,51% de MUFA.

No leite humano, o ácido linoléico (LA, C18:2n-6) destaca-se como o ácido graxo poliinsaturado (PUFA) predominante, contribuindo com 13,02%. É importante ressaltar que o LA difere consideravelmente dos demais tipos de leite; por exemplo, no leite de vaca foi identificado apenas 1,46%, enquanto no leite de cabra a presença desse ácido graxo foi de 2,76%. Quanto ao ácido α -linolênico (ALA, C18:3n-3), sua contribuição é de 0,59% no leite humano, 0,46% no leite de vaca e não foi detectada no leite de cabra.

Esses ácidos, linoléico e α -linolênico, são considerados essenciais, pois o corpo humano não consegue produzi-los. Ambos desempenham papéis importantes como precursores de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (LCPUFA). A proporção relativa de LA e ALA na dieta influencia a conversão destes precursores. Quando há mais LA em relação ao ALA na dieta, é mais provável que sejam produzidos ácidos graxos ômega-6, como o ácido araquidônico (ARA). Por outro lado, uma menor proporção de AL em relação ao ALA favorece a produção de ácidos graxos ômega-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA).²⁷

Ainda no contexto dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), é importante destacar a presença significativa do ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6n-3) no leite materno, representando 2,14% do total. Isto contrasta notavelmente com as quantidades encontradas no leite de vaca (0,03%) e no

leite de cabra (0,43%), onde o DHA é substancialmente menos prevalente. Por outro lado, o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5n-3) é encontrado em concentrações muito mais baixas, representando 0,05% no leite materno e 0,03% no leite de vaca e está ausente no leite de cabra.

Apesar de sua menor abundância, o DHA desempenha um papel crucial no desenvolvimento do cérebro fetal, no sistema visual e no crescimento do bebê. A quantidade média de DHA no leite materno geralmente varia em torno de $0,32 \pm 0,22\%$ do total de ácidos graxos. No entanto, a nossa investigação revelou uma concentração significativamente maior de DHA, ultrapassando 1% dos ácidos gordos totais, o que está associado ao consumo de alimentos marinhos.²⁸

Estes resultados destacam a importância da inclusão de LA e DHA em fórmulas infantis preparadas com leite de vaca e de cabra. O DHA, em particular, tornou-se uma inclusão obrigatória nas fórmulas que substituem o leite materno na Europa, de acordo com regulamentos recentemente estabelecidos, que exigem um mínimo de 20 mg de DHA por 100 kcal (ou 4,8 mg por 100 kJ). para que estas fórmulas estejam disponíveis no mercado europeu.²⁹

Para compensar a ausência de ácidos gordos ALA e EPA no leite de cabra, seria aconselhável considerar a inclusão destes ácidos gordos nas fórmulas infantis. Isto se justifica pelo fato do leite humano analisado conter 0,05% de EPA e 0,59% de ALA, respectivamente. Além disso, é importante destacar que o leite de vaca também pode ser uma alternativa viável, pois possui níveis comparáveis destes ácidos graxos em relação ao leite humano, possibilitando assim suprir adequadamente esta deficiência.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e os ácidos graxos de cadeia média (AGCM) são facilmente digeríveis em recém-nascidos com sistema digestivo imaturo, em contraste com os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). O leite de cabra, em geral, contém maiores quantidades de AGCC e AGCM em comparação ao leite bovino.³⁰⁻³¹ Entretanto, embora tenhamos identificado ácido caprílico (C8:0) exclusivamente no leite de cabra em nossos resultados, a soma das concentrações de ácido cáprico (C6:0) e ácido butírico (C4:0) foi maior no leite bovino. Isto provavelmente se deveu à influência da dieta, que desempenha um papel significativo na composição de ácidos graxos, porém, nem o leite de vaca nem o leite de cabra ultrapassaram a quantidade de AGCC e AGCM encontrados no leite humano, que foi de 3,8%.

Distribuição dos AGs nas diferentes posições do TAG

Os perfis de sinal obtidos para as análises dos espectros ¹³C foram utilizados para determinar as proporções relativas de SFA, MUFA e PUFA nos TAGs de amostras maduras de leite humano, de vaca e de cabra. Para isso, aplicou-se a técnica de desconvolução na região carbonila (155-185 ppm).³² Nesta região foram identificados dois grupos de sinais acil, um referente à posição sn2 do TAG e outro às posições sn-1,3. Esta técnica foi necessária devido à sobreposição de picos causada pelas características químicas semelhantes das carbonilas nos TAGs. Um modelo que ilustra como foi realizado o processo de desconvolução é mostrado na figura 2 abaixo.

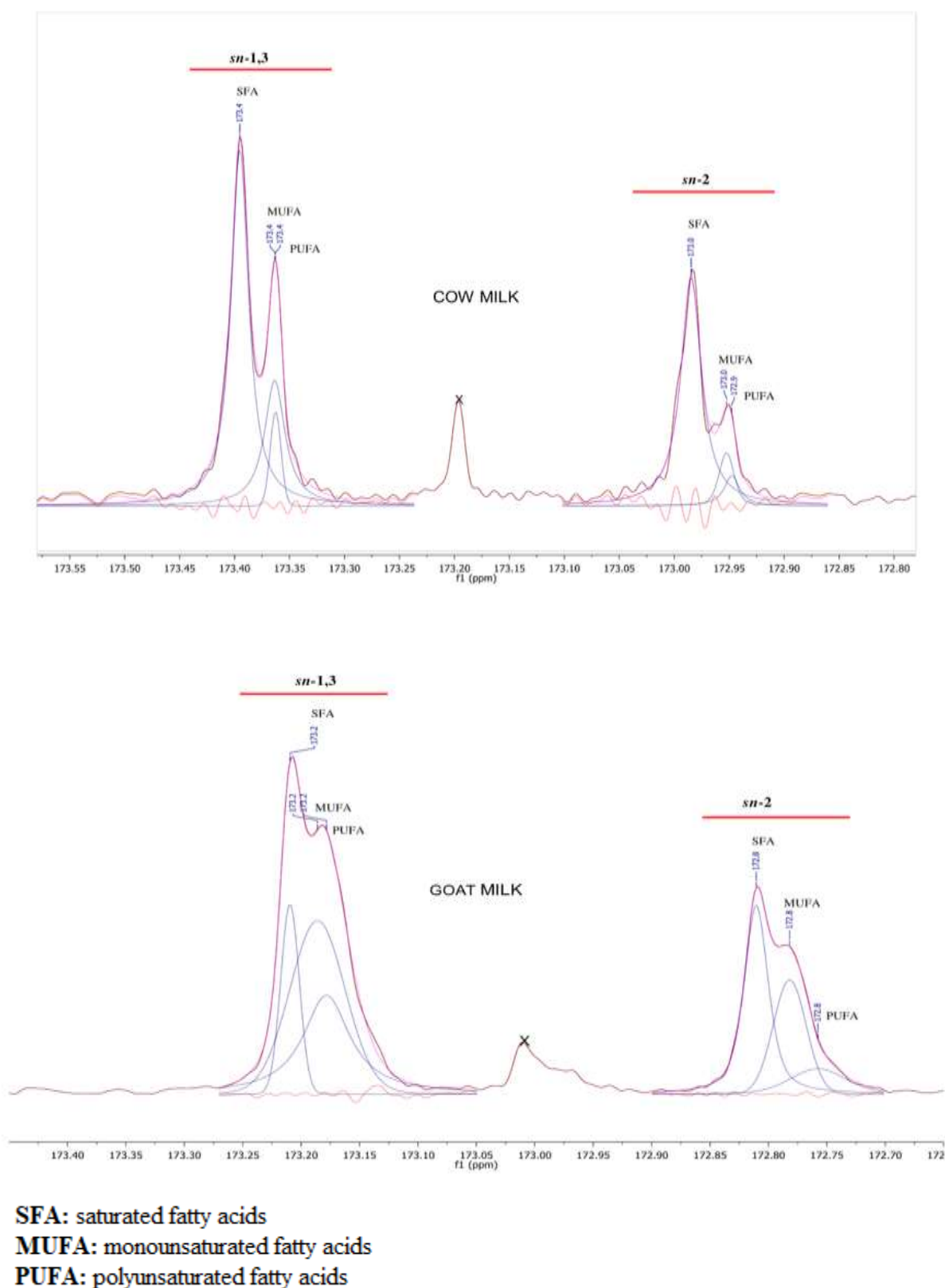


Figura 2. Espectro da região carbonila ^{13}C do leite humano, de vaca e de cabra após desconvolução.

Neste contexto, as composições intrapositionais de AG, expressas em percentuais, foram comparadas entre amostras de leite humano maduro, leite de vaca e leite de cabra após análise e interpretação dos resultados obtidos por RMN, conforme evidenciado na Figura 3.

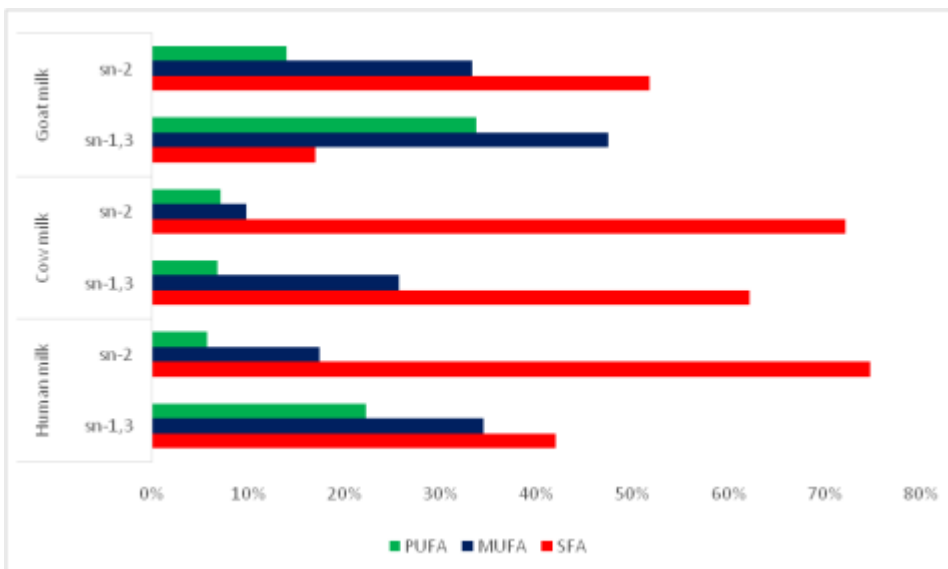


Figura 3. Gráficos de distribuição interposicional do GA no TAG.

A Figura 3 revela que a composição intraposicional de um AF está positivamente correlacionada com a sua proporção total no leite. Notavelmente, há predominância de SFA na posição sn-2 do TAG, enquanto MUFA e PUFA apresentam distribuição mais pronunciada nas posições sn-1 e sn-3. Essas variações na distribuição estereoespecífica podem explicar a maior eficácia na absorção dos lipídios presentes no leite humano. A estrutura dos TAGs também desempenha um papel na determinação dos produtos resultantes da ação da lipase, influenciando assim o controle da absorção de AG.^{23 e 33} Na hidrólise do leite materno, observa-se predominantemente a formação de SFA na forma de monoacilgliceróis na posição sn-2, que são facilmente absorvidos.

É importante destacar que a concentração de AG nas três posições do TAG varia entre as diferentes espécies de leite. No leite humano, por exemplo, as posições sn-1 e sn-3 são predominantemente esterificadas por ácidos graxos saturados, como 16:0 e 18:0, enquanto a posição sn-2 também apresenta predominância de SFA. Em contraste, a amostra de leite de cabra revelou que as posições sn-1 e sn-3 são principalmente esterificadas por ácidos graxos insaturados. Além disso, os AG no leite de ruminantes consistem principalmente em ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), sendo 18:1n-9 o mais abundante, seguido por 18:0, 16:0 e 14:0. Tais variações nas composições intraposicionais dos lipídios analisados podem estar relacionadas a diferenças nas raças e dietas dos animais.

Compreender como ocorre a distribuição específica dos AG na estrutura dos TAGs permite compreender melhor como ocorrem alguns processos relacionados à metabolização dos lipídios presentes no leite, como o processo de digestão e absorção.³⁴ A posição sn-2 dos monoacilgliceróis (MAG) permite a absorção eficiente e posterior reesterificação de outros ácidos graxos esterificados nesta posição, tornando-os altamente biodisponíveis. Além disso, os AG localizados nas posições sn-1 e sn-3 estão intimamente relacionados com a seletividade da lipase gástrica e pancreática, o que confere relevância nutricional adicional.³⁵

Desta forma, com a análise dos espectros de ¹³C do leite humano, de vaca e de cabra obtidos por RMN, foi possível comparar a distribuição estereoespecífica das diferentes amostras. Além disso, a análise por RMN é rápida quando comparada a outras técnicas analíticas e praticamente não requer preparo de

amostra, sendo importante para estudar o perfil lipídico de diferentes tipos de leite e também com grande potencial para auxiliar na formulação de novos FI.

Conclusão

Foi observada predominância de ácidos graxos saturados (SFA) na posição sn-2 dos TAGs, enquanto os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) apresentam distribuição mais pronunciada nas posições sn-1 e sn-3 em leite humano. Em contraste, amostras de leite de vaca revelam que as posições sn-1 e sn-3 são principalmente esterificadas por ácidos graxos insaturados. Além disso, os ácidos graxos no leite de ruminantes consistem principalmente em ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), sendo o ácido oleico o mais abundante, seguido pelos ácidos esteárico, palmítico e mirístico. Tais variações nas composições intrapositionais dos lipídios analisados podem estar relacionadas a diferenças nas raças e dietas dos animais. Portanto, é imprescindível a utilização de suplementação em fórmulas infantis que contenham gordura comercial à base de leite bovino, a fim de obter maior similaridade com o LH.

Referências

1. World Health Organization Infant and Young Child Feeding [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding] acessado em outubro 2023.
2. Koletzko B.; Agostoni C.; Bergmann R.; Carlson, S.E; Clandinin, T.; Hornstra, G.; Neuringer, M.; Uauy, R.; Yamashiro, E. Willatts *Acta Paediatrica*, 2011; 100, 1405. PMID: 11332943.
3. Krohn K, Demmelmair H, Koletzko B. Duggan C, Watkins JB, Walker WA. Necessidades de macronutrientes para o crescimento: gorduras e ácidos graxos. *Nutrição em Pediatria: Ciências Básicas, Clínicas, Aplicações*. Toronto: BC Decker; 2008.
4. Delplanque, B.; Gibson, R.; Koletzko, B.; Lapilonne, A.; Strandvik, B. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2015, 61, 8. [DOI: 10.1097/MPG.0000000000000818]
5. Prentice P, Ong KK, Schoemaker MH, van Tol EA, Vervoort J, Hughes IA, Acerini CL, Dunger DB. *Acta Paediatr*. 2016, 105, 641. [doi: 10.1111/apa.13362]
6. Furtado, G.F.; Carvalho, A.G.F.; Hubinger, M.D. *J. Eng. de Alimentos*, 2021, 292. [DOI:10.1016/j.jfoodeng.2020.110256]
7. Zhang, X.; Wei, W.; Tao, G.; Jin, Q.; Wang, X. *J Agric Food Chem.*, 2021, 69, 8991. [DOI: 10.1021/acs.jafc.0c07312]
8. Liu, L.; Zhang, X.; Liu, Y.; Wang, L.; Li, X.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69, 6799. [DOI: 10.1021/acs.jafc.1c01760]
9. Bakry, I.A; Wei, W.; Farag, M.A.; Korma, S.A.; Khalifa, I.; Ziedan, N.I.; Mahdi, H.K.; Jin J.; Wang, X. *International Dairy Journal*, 2023, 143. [https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105738]
10. Vlahov G. 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy to determine olive oil grades. *Anal Chim Acta*. 2006;577:281–7.

11. Merchak N, Bejjani J, Rizk T, Silvestre V, Remaud G, Akoka S. *Métodos Analíticos*, 2015, 7, 12, 4889-4891. DOI: 10.1039/c5ay01250c
12. Al-Madboly, L. A., Yagi, A., Kabbash, A., El-Aasr, M. A., & El-Morsi, R. M. (2023). Microbiota-derived short chain fatty acids in fermented Kidachi Aloe promote antimicrobial, anticancer, and immunomodulatory activities. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02981-z>
13. Ilić, M., Pastor, K., Romanić, R., Vujić, Đ., & Ačanski, M. (2023). A GC-MS based Fatty Acid Profiling Approach for Uncovering the Composition of Edible Oil Blends. *Food Analytical Methods*, 16(6), 1149–1155. <https://doi.org/10.1007/s12161-023-02487-4>
14. Cavazos-Garduño, A.; Serrano-Niño, J. C.; Solís-Pacheco, J. R.; Gutierrez-Padilla, J. A.; González-Reynoso, O.; García, H. S.; Aguilar-Uscanga, B. R.; *J. Food Nutr. Res.*, 2016, 4, 296. [doi: 10.12691/jfnr-4-5-5]
15. Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G. H.; *J. Biol. Chem.* 1957, 226, 497. PMID: 13428781
16. International Standard International Standard. 61010-1 © Iec2001 2006, 13.
17. Simionato J.I.; Garcia, J.C.; Santos, G.T.; Oliveira, C.C.; Visentainer, J.J.; Souza, N.E; *J. Braz. Chem. Soc.* 2010, 21, 3, <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000300018>
18. Tang, F.; Polari, J.J.; Green, H.S. Wang, S.C.; Hatzakis, E. *Food Control*, 2022, 137, 108939. [<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108939>]
19. Mestrelab Research, MestReNova, Corunha, Espanha, 2017. [<https://mestrelab.com/>].
20. Ahmed, B., Freije, A., Omran, A., Rondanelli, M., Marino, M., & Perna, S. (2023). Human Milk Fatty Acid Composition and Its Effect on Preterm Infants' Growth Velocity. *Children*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/children10060939>
21. Wang, X., Zhu, H., Zhang, W., Zhang, Y., Zhao, P., Zhang, S., Pang, X., Vervoort, J., Lu, J., & Lv, J. (2022). Triglyceride and fatty acid composition of ruminants milk, human milk, and infant formulae. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104327>
22. Kielbasa, A., Monedeiro, F., Bernatowicz-Łojko, U., Sinkiewicz-Darol, E., Buszewski, B., & Gadzała-Kopciuch, R. (2023). The content of selected omega-3 free fatty acids in breast milk samples and their interactions with macronutrients as well as personal characteristics of mothers. *International Dairy Journal*, 105803. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105803>
23. Innis, S. M. (2016). Palmitic Acid in Early Human Development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12), 1952–1959. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1018045>
24. Wei, W.; Jin, Q.; Wang, X. *Progress in lipid research*, 2019, 74, 69. [DOI:10.1016/j.plipres.2019.02.001]
25. Jenkins, B.J.; Seyssel, K.; Chiu, S.; Pan, P.H.; Lin, S.Y.; Stanley, E.; Ament, Z.; West, J.A.; Summerhill, K.; Griffin, J.L.; Vetter, W.; Autio, K.J.; Hiltunen, K.; Hazebrouck, S.; Stepankova, R.; Chen, C.J.; Alligier, M.; Laville, M.; Moore, M.; Kraft, G.; Cherrington, A.; King, S.; Krauss, R.M.; de Schryver, E.; Van Veldhoven, P.P.; Ronis, M.; Koulman, A. *Scientific reports*, 2017, 7, 44845. [doi: 10.1038/srep44845].
26. George, A. D., Gay, M. C. L., Wlodek, M. E., Murray, K., & Geddes, D. T. (2021). The fatty acid species and quantity consumed by the breastfed infant are important for growth and development. *Nutrients*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/nu13114183>
27. Einerhand, A. W. C., Mi, W., Haandrikman, A., Sheng, X. Y., & Calder, P. C. (2023). The Impact of

Linoleic Acid on Infant Health in the Absence or Presence of DHA in Infant Formulas. Em *Nutrients* (Vol. 15, Número 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nu15092187>

28. Kus-Yamashita, M. M. M., Cano, C. B., Monteiro, V. C. B., & Catarino, R. M. (2023). Human Milk: Fast Determination of Docosahexaenoic Acid (DHA). *Analytica*, 4(1), 54–65. <https://doi.org/10.3390/analytica4010006>

29. Decsi, T., Marosvölgyi, T., & Szabó, É. (2023). Docosahexaenoic Acid in Formulas for Term Infants: The Way from Pioneer Idea to Mandatory Dietary Recommendation. Em *Life* (Vol. 13, Número 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/life13061326>

30. Prosser, C. G. (2021). Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. Em *Journal of Food Science* (Vol. 86, Número 2, p. 257–265). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15574>

31. Wang, L., Li, X., Liu, L., da Zhang, H., Zhang, Y., Hao Chang, Y., & Zhu, Q. P. (2020). Comparative lipidomics analysis of human, bovine and caprine milk by UHPLC-Q-TOF-MS. *Food Chemistry*, 310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125865>

32. Lopes, T. I. B; Cañedo, M.C; Oliveira, F. M.P; Alcantara, G. B. *A journal of integrative biology*, 2018, 22, 484-492. [10.1089/omi.2018.0064]

33. Soumanou, M.M; Pérignon, M.; Villeneuve, P. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2013, 115, 270. [<http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201200084>]

34. Zhao, P., Zhang, S., Liu, L., Pang, X., Yang, Y., Lu, J., Lv, J., *J. Agric. Food Chem*, 2018, 66, 4571. [<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00868>]

35. Cossignani L, Pollini L, Blasi F. *J Dairy Sci.* 2019, 102, 5871. [<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16318>]