



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

POTENCIAL PREBIÓTICO DE OLIGOSSACARÍDEOS EM LEITE HUMANO MICROENCAPSULADO COM POLÍMEROS NATURAIS E LIOFILIZAÇÃO

Eloize da Silva Alves¹, Patricia Daniele da Silva Santos², Andressa Rafaella da Silva Bruni³, Livia Cirino Carvalho³, Grasielle Scaramal Madrona¹, Jesui Vergilio Visentainer¹

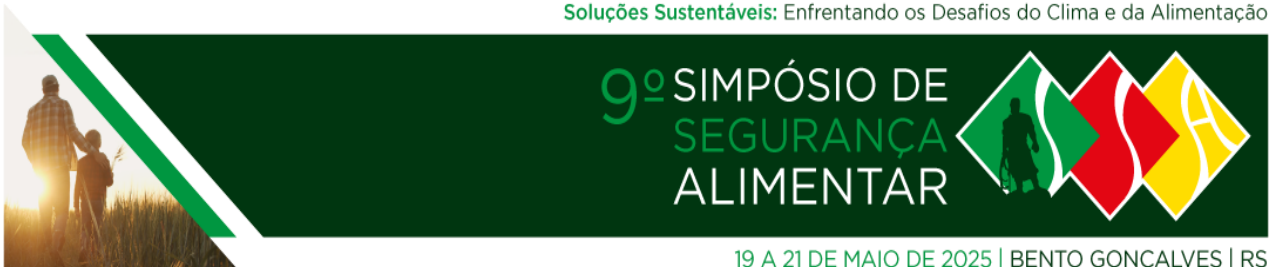
1 - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PPC) – Universidade Estadual de Maringá (UEM) – CEP: 87020-900 – Maringá - PR – Brasil, Telefone: 55 (44) 99856-9750 – e-mail: eloizectaus@gmail.com

2 –Programa de Pós-Graduação em Química (PQU) – Universidade Estadual de Maringá (UEM) – CEP: 87020-900 – Maringá - PR – Brasil, Telefone: 55 (44) 3011-3661 – e-mail: patriciadanieless@hotmail.com

3 - Instituto Federal do Paraná (IFPR) – CEP: 85200-000 – Pitanga – PR – Brasil, Telefone: 55 (43) 99964-0822 – e-mail: andressa.bruni@ifpr.edu.br

RESUMO – O leite humano é um alimento essencial para a nutrição infantil, fornecendo nutrientes e compostos bioativos fundamentais ao desenvolvimento neonatal. Dentre esses compostos, os oligossacarídeos do leite humano (HMO) se destacam, sendo o 2'-fucosilactose (2'-FL) um dos mais abundantes, com propriedades prebióticas e imunomoduladoras. Entretanto, sua estabilidade pode ser comprometida por processos térmicos e armazenamento, o que justifica a necessidade de estratégias de preservação, como a microencapsulação. Este estudo avaliou a eficiência da microencapsulação do 2'-FL presente no leite humano utilizando maltodextrina, goma arábica e a combinação de ambos, empregando a liofilização como método de secagem. A quantificação do 2'-FL foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS). Os resultados indicaram que a maltodextrina apresentou a maior eficiência de encapsulação (37,3%), seguida da mistura binária (36,35%), enquanto a goma arábica isolada resultou na menor eficiência (23,78%). Assim, a microencapsulação demonstrou ser uma estratégia viável para a proteção do 2'-FL, contribuindo para sua aplicação em formulações infantis e alimentos funcionais.

ABSTRACT – Human milk is an essential food for infant nutrition, providing nutrients and bioactive compounds crucial for neonatal development. Among these compounds, human milk oligosaccharides (HMO) stand out, with 2'-fucosyllactose (2'-FL) being one of the most abundant, exhibiting prebiotic and immunomodulatory properties. However, its stability can be compromised by thermal processing and storage, highlighting the need for preservation strategies such as microencapsulation. This study evaluated the efficiency of microencapsulating 2'-FL from human milk using maltodextrin, gum arabic, and their combination, employing freeze-drying as the drying method. The quantification of 2'-FL was performed using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Results indicated that maltodextrin had the highest encapsulation efficiency (37.3%), followed by the binary mixture (36.35%), while gum arabic alone resulted in the lowest efficiency (23.78%). Thus,



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

microencapsulation proved to be a viable strategy for protecting 2'-FL, contributing to its application in infant formulations and functional foods.

PALAVRAS-CHAVE: leite humano; liofilização; encapsulação; estabilidade.

KEYWORDS: human milk; freeze-drying; encapsulation; stability.

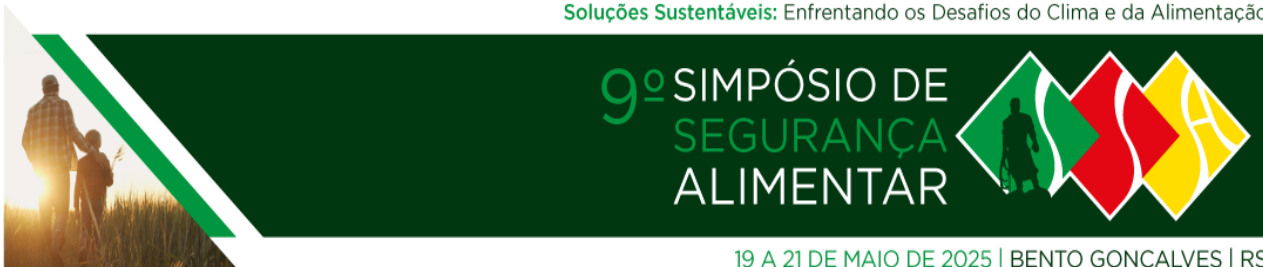
1. INTRODUÇÃO

O leite humano é o alimento ideal para a nutrição infantil, contendo nutrientes e compostos bioativos essenciais para o desenvolvimento do recém-nascido (ALVES et al., 2024). Dentre os constituintes, os oligossacarídeos do leite humano (HMO) destacam-se como o segundo maior grupo de carboidratos, exercendo um papel fundamental na modulação da microbiota intestinal. Onde, entre os HMO, o 2'-fucosilactose (2'-FL) é um dos mais abundantes da classe, apresentando fortalecimento da imunidade e proteção contra patógenos, e redução da incidência de enterocolite necrosante e morbidade em neonatos (CHRISTENSEN et al., 2020).

A estabilidade dos HMO pode ser afetada por fatores como armazenamento e processamento térmico, o que torna necessário o uso de tecnologias que preservem sua funcionalidade. Métodos como a liofilização e a microencapsulação têm sido amplamente estudados para esse fim (ALVES et al., 2023; MENG et al., 2021). A liofilização é recomendada para a preservação do leite humano, sendo um processo que remove a água por sublimação e aumenta vida útil (ANVISA, 2024), Já a microencapsulação consiste na formação de uma matriz protetora ao redor dos compostos bioativos, utilizando materiais encapsulantes como maltodextrina e goma arábica (ALVES et al., 2023).

Polímeros naturais são amplamente utilizados na indústria de alimentos, em fórmulas infantis e suplementos comerciais de caráter infantil, por sua capacidade de melhorar a estabilidade e biodisponibilidade de diversos compostos (WANG et al., 2022). Ambos, a goma arábica e a maltodextrina são aditivos seguros em alimentos complementares para lactentes e crianças pequenas (ANVISA, 2024; EUROPEAN COMMISSION, 2015; FAO, 2019).

Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da microencapsulação do 2'-FL presente no leite humano utilizando maltodextrina, goma arábica e a combinação de ambos, empregando a liofilização como método de secagem. A retenção do 2'-FL nas microcápsulas foi analisada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas



(UHPLC-MS/MS), permitindo a quantificação desse oligossacarídeo e contribuindo para o desenvolvimento de sistemas encapsulados com potencial aplicação em nutrição infantil.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais e reagentes químicos

O estudo possui aprovação em Comitê de Ética em Pesquisa local (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), conforme certificados de apresentação de apreciação ética (CAAE) n°: 54930221.8.0000.0104 e 93048818.0.0000.0104. Foi coletado 2000 mL de leite humano de fase de lactação maduro (período superior à 15 dias após o nascimento) no banco de leite humano do Hospital Universitário Regional de Maringá. Seguiu-se à homogeneização em um único recipiente com posterior divisão em porções individuais de 500 mL para cada amostra. Uma das porções foi identificada como leite humano controle, e as demais conforme o material encapsulante que foi utilizado: leite humano controle, maltodextrina (MD), goma arábica (GA) e a combinação de ambos (BI).

Maltodextrina (Sigma Aldrich, Brasil) e goma arábica (Reatec-Reagen, Brasil), ambas em pó, foram utilizadas como agentes encapsulantes. Para determinar a eficiência de encapsulamento, padrão do composto 2'-Fucosyllactose (2'-FL, $\geq 95\%$, Sigma Aldrich, EUA) foi utilizado, além de acetonitrila (grau de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)) (JT Baker, México), acetato de amônio (Synth, Brasil) e água Milli-Q[®] filtrada por membrana com tamanho de poro de 0,22 μm (Millipore, EUA).

2.2. Encapsulação do leite humano

A produção das microcápsulas foi realizada conforme descrito por Alves *et al.*, (2023). Foram empregados como agentes encapsulantes a goma arábica, a maltodextrina e a combinação de ambos. Após, amostras foram transferidas para bandejas específicas, congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h e, seguidas da liofilização em um equipamento modelo L108 (Liobras, São Carlos, Brasil) por aproximadamente 48 h, sob condições controladas de $-54\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 0,031 mbar. Para análise foi usado o rendimento obtido sobre massa inicial e massa final do produto seco.

2.3. Análise por Cromatografia Líquida de Ultra-Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UHPLC-MS/MS)

A análise foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS) (Acquity, Xevo-TQ-TS, Milford, EUA), com uma



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

coluna Waters ACQUITY BEH Amide, seguindo metodologia descrita por Li et al., (2022). Usou-se 10 mL das amostras reconstituídas, e posteriormente preparadas com remoção parcial dos lipídios por ultrassom, seguida de agitação, centrifugação e diluição. A amostra foi analisada usando um gradiente ternário de acetonitrila, água e acetato de amônia, com uma vazão de 0,3 mL/min e temperatura de 40 °C. A detecção em modo de íons negativos utilizou MRM para identificação e quantificação, com a fragmentação do íon precursor m/z 487.

Foi também realizado uma curva de calibração com padrão de 2'-FL sob concentrações 1,0 -80 $\mu\text{g/mL}$, determinando concentração de 2'-FL \times área do pico. Os resultados foram expressos em mg/L. A avaliação da eficiência de encapsulação do HMO comparou a concentração de 2'FL endógena na amostra controle e microcápsulas, seguindo a Equação 1.

Eficiência de encapsulação

$$= \frac{(\text{Teor } 2'FL_{\text{Controle}} - \text{Teor } 2'FL_{\text{microcápsula}})}{\text{Teor } 2'FL_{\text{Controle}}} \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Eficiência sobre o teor de oligossacarídeos

A composição de oligossacarídeos caracteriza-se como o segundo carboidrato mais abundante no leite humano, sendo o 2'-FL de maior predominância, aqui selecionado para investigar a disponibilidade prebiótica, de efeito benéfico contra enterocolite necrosante e de apoio a diminuição de morbidade (CHRISTENSEN et al., 2020; HEGAR et al., 2019).

Os resultados da eficiência de encapsulação do oligossacarídeo 2'-FL em leite humano microencapsulado revelaram variações significativas conforme o material utilizado. A formulação com maltodextrina (MD) apresentou a maior eficiência (37,3%), seguida da mistura binária de maltodextrina e goma arábica (BI) com 36,35%, enquanto a goma arábica (GA) isolada resultou na menor eficiência (23,78%).

A maior eficiência foi então observada na MD, relacionando à sua alta solubilidade e capacidade de formar uma matriz protetora eficaz ao redor do composto hidrofílico 2'-FL. A amostra BI apresentou um desempenho próximo ao da MD, sugerindo que a combinação dos dois encapsulantes manteve uma boa proteção ao 2'-FL, possivelmente equilibrando as propriedades emulsificantes da goma arábica com a estruturação proporcionada pela maltodextrina.

Por outro lado, a menor eficiência observada na GA pode ser atribuída à sua menor capacidade de formar uma matriz protetora densa em comparação à MD. Portanto, o uso de goma



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

arábica demonstrou maior baixo poder da encapsulação do 2'-FL, justificado pelo seu potencial de agregação à compostos lipofílicos perante suas propriedades emulsificantes, assim como sugerido por Alves et al., (2023).

Portanto, a encapsulação do leite humano e do oligossacarídeo 2'-FL demonstra ser uma estratégia essencial para proteger compostos bioativos sensíveis e preservar sua funcionalidade. Os resultados obtidos evidenciam que a escolha do material encapsulante influencia diretamente a eficiência do processo, destacando-se a maltodextrina como o agente mais eficaz na proteção do 2'-FL, reforçando seu potencial na formulação de sistemas encapsulados voltados para a manutenção da biodisponibilidade e dos efeitos benéficos do 2'-FL. Dessa forma, a microencapsulação surge como uma abordagem promissora para garantir a estabilidade e o potencial prebiótico do composto 2'-FL, com possíveis aplicações em alimentos funcionais e nutrição infantil.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que a microencapsulação do oligossacarídeo 2'-FL presente no leite humano é uma estratégia eficaz para preservar sua funcionalidade e estabilidade. A escolha do material encapsulante mostrou impacto significativo na eficiência de encapsulação, sendo a maltodextrina o agente mais eficiente, seguida pela combinação de maltodextrina e goma arábica. A goma arábica isolada apresentou menor eficiência, possivelmente devido à sua interação com compostos lipofílicos. Assim, a microencapsulação do leite humano e de seus compostos bioativos representa uma abordagem promissora para garantir a proteção e biodisponibilidade do 2'-FL, viabilizando sua aplicação em alimentos funcionais e nutrição infantil. Esses achados reforçam a importância do desenvolvimento de sistemas encapsulados que possam contribuir para a formulação de produtos destinados à saúde neonatal, ampliando as possibilidades de utilização do leite humano em diferentes contextos nutricionais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução da diretoria colegiada (RDC) nº 918, de 19 de Setembro de 2024 - Funcionamento Humano, Bancos de Leite.** Disponível em:

<https://rblh.fiocruz.br/sites/rblh.fiocruz.br/files/usuario/181/rdc_918_2024_.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2025.

ALVES, E. et al. Impact of Conservation Processes on the Lipid Profile and Immunological Factors



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

IL-10 and TGF- β 1 in Whey Separated from Discarded Human Milk. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2024.

ALVES, E. S. et al. Freeze-dried human milk microcapsules using gum arabic and maltodextrin: An approach to improving solubility. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 238, p. 124100, maio 2023.

CHRISTENSEN, A. S. et al. Quantifying the human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose in different food applications by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 2, p. 332–339, 22 fev. 2020.

EUROPEAN COMMISSION. **Commission Delegated Regulation (EU) 2016/127 of 25 September 2015 supplementing Regulation (EU) No 609/2013 of the European Parliament and of the Council as regards the specific compositional and information requirements for infant formula and follow-on**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_del/2016/127/oj>. Acesso em: 24 jan. 2025.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Codex Alimentarius. Food Additive Details Gum arabic (Acacia gum) (414). Updated up to the 42nd Session of the Codex Alimentarius Commission**. Disponível em: <<https://www.fao.org/gsfonline/additives/details.html?id=63&d-3586470-s=5&d-3586470-o=2&lang=>>>. Acesso em: 7 fev. 2025.

LI, J. et al. Development of high-throughput UPLC-MS/MS using multiple reaction monitoring for quantitation of complex human milk oligosaccharides and application to large population survey of secretor status and Lewis blood group. **Food Chemistry**, v. 397, p. 133750, dez. 2022.

MENG, F. et al. The composition and physico-chemical properties of human milk: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 112, n. February, p. 608–621, 2021.

WANG, Y. et al. Microcapsule delivery systems of functional ingredients in infant formulae: Research progress, technology, and feasible application of liposomes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 36–44, jan. 2022.