

Monitoramento da qualidade do leite humano ordenhado e distribuído em banco de leite de referência

Monitoring the quality of human milk distributed by a reference milk bank

RIALA6/1250

Patrícia Pinheiro Rafael de SOUSA¹, João Andrade SILVA^{2*}

^{2*}Endereço para correspondência: Departamento de Nutrição da Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária, s/n. Castelo Branco. CEP. 58059-900. João Pessoa, PB, Brasil. Fone (083) 3216 7998. e-mail: andradebr@yahoo.com.br

¹Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. e-mail: patriciapr@gmail.com

Recebido: 27.08.2009 – Aceito para publicação: 14.12.2009

RESUMO

O leite humano (LH) coletado, processado e distribuído em Bancos de Leite humano (BLH), deve configurar-se como uma alternativa inócua e nutricionalmente satisfatória aos recém-nascidos que o utilizem. Com o propósito de monitorar a qualidade do LH em um BLH de referência, foram avaliadas 20 amostras de LH quanto aos parâmetros microbiológicos, físico-químicos, bem como as condições higiênico-sanitárias do BLH em relação à qualidade do ar ambiental, recipientes de armazenamento do leite e mãos dos manipuladores. As amostras de leite analisadas apresentaram quantidade de contaminantes deterioradores, que foi reduzida com a pasteurização, contudo os coliformes não foram eliminados. Não foi detectada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Na composição centesimal, foram verificadas grandes perdas do valor energético total, 23,28% nas amostras de leite congelado (LC) e 23,86% das amostras após a pasteurização (LAP), em decorrência da grande perda lipídica. Quanto aos parâmetros de pH, acidez em graus Dornic e umidade, verificaram-se alterações significativas ($p < 0,05$) entre as amostras de leites antes e depois do congelamento e LAP. Pode-se inferir que o monitoramento e os processos de conservação melhoraram a qualidade microbiológica do leite, todavia os processos de pasteurização e de congelamento influenciaram negativamente na composição físico-química e no valor nutricional.

Palavras-chave. leite humano, crescimento microbiano, avaliação físico-química.

ABSTRACT

Human milk is the best nourishment for newborns and babies, and when, for any reason, there is no possibility to get milk from their own mother or by direct breast suction, the human milk-bank is an innocuous alternative. Thereby, after being milked, the processed sample is distributed by human-milk banks, and the product should be harmless and high quality. The present study aims at monitoring the quality of the human milk available at a reference human-milk bank. Twenty human-milk samples were analyzed on microbiological and physical-chemical parameters; and the hygienic-sanitary conditions of the milk bank were assessed by monitoring the quality of environmental air, product storage containers and the hands of milk handlers. The pasteurization reduced the deteriorating contaminants, although neither aerobic mesophilic bacteria nor coliforms were eliminated. The coagulase-positive *Staphylococcus* was not isolated. Under physical agent treatments, the milk samples showed a change on centesimal composition. Thus, significant losses of the total energy values were detected in 23.28% of frozen milk samples, and in 23.86% of pasteurized ones, deriving from lipid contents inactivation. The monitoring of variables and the suitable preservation processes have improved the microbiology quality of milk samples, nonetheless, pasteurization and freezing procedures negatively interfered in the physical-chemical composition and nutritional value.

Key words. human milk, microbial growth, physical-chemical evaluation.

INTRODUÇÃO

Por definição, o leite é um produto secretado pelas glândulas mamárias das fêmeas logo depois do parto. É um alimento indispensável aos mamíferos, nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir e assimilar totalmente outras substâncias necessárias a sua subsistência¹.

O leite humano, por sua vez, é um fluido aquoso, cujas características lhe conferem a propriedade de particionar muito bem substâncias e moléculas, tanto polares e hidrossolúveis, como as lipossolúveis², considerado o alimento mais adequado às necessidades da criança, serve como referência para estabelecer os requerimentos nutricionais nessa faixa etária³, possui características que lhe atribuem a função de um suplemento de fatores de proteção para o lactente, além de restringir e/ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas⁴.

Nas situações em que a mãe apresenta dificuldades para amamentar o filho, o leite coletado e processado em Bancos de Leite Humano deve constituir-se como uma alternativa segura que garanta o desenvolvimento da criança⁵. Em 2000, o Brasil tinha a maior rede de Bancos de Leite Humano do mundo: já existiam 151 unidades, distribuídas em 22 estados, que beneficiavam mais de 80 mil crianças prematuras e de baixo peso⁶.

O Leite Humano Ordenhado é o produto manipulado em Bancos de Leite Humano, onde são selecionados como receptores os lactentes incluídos nas categorias: prematuros e recém-nascidos de baixo peso que não sugam, recém-nascidos infectados, especialmente com enteroinfecção, portadores de deficiências imunológicas, diarreia protraída, alergia a proteínas heterólogas e casos especiais, nos quais a mãe encontra-se impossibilitada de amamentar^{6,7}. Obrigatoriamente, esse leite deve estar adequado aos quesitos de inocuidade e valor nutritivo, suficientes para garantir o desenvolvimento sadio e pleno da criança⁵.

Nos Bancos de Leite Humano, a qualidade dos produtos processados, estocados e distribuídos deve ser parte de um sistema integrado que permeie todas as etapas, sem se restringir exclusivamente a análises laboratoriais. Pode ter caráter preventivo ou retrospectivo. No aspecto operacional, o controle preventivo é o mais importante, uma vez que a qualidade do produto a ser oferecido para consumo depende desse controle. O controle retrospectivo

tem como objetivo identificar a origem de problemas relacionados à qualidade do produto, quando não há mais a possibilidade de controle⁸.

Todo leite humano recebido pelo Banco de leite deve ser submetido a procedimentos iniciais de seleção e classificação, sendo etapas da seleção a verificação da embalagem, presença de sujidades, cor, *off-flavor* e Acidez Dornic. A classificação compreende a parâmetros como o período de lactação, verificação da Acidez Dornic e conteúdo energético por meio do Crematócrito⁹.

Os produtos que não preencherem as especificações determinadas quantos aos aspectos sensoriais (ausência de sujidades, cor e *off-flavor* característicos), físico-químicos (acidez Dornic entre 1 e 8°D e crematócrito) e microbiológicos (ausência de coliforme a 35°C), deverão ser descartados. Produtos que preenchem todas as especificações serão pasteurizados e categorizados de acordo com seu valor energético para em seguida serem encaminhados a administração conforme necessidades dos recém-nascidos¹⁰.

A inocuidade e a qualidade dos alimentos são o conjunto das características individuais do produto, que apresentam grande importância na determinação da aceitabilidade do alimento pelo consumidor, avaliado segundo parâmetros físico-químicos, higiênico-sanitários, sensoriais e legais¹¹. O objetivo deste trabalho foi monitorar os parâmetros físico-químicos e higiênicos sanitários do leite humano ordenhado e distribuído em um banco de leite de referência, como forma de garantir a inocuidade deste alimento e detectar possíveis falhas nesses procedimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

O banco de leite humano configura-se como um serviço especializado vinculado a um hospital de atenção materna e/ou infantil, sendo responsável por ações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno, além de executar atividades de coleta do leite materno, seleção, classificação, processamento, controle de qualidade e distribuição, sendo proibida a comercialização dos produtos por ele distribuídos¹⁰, com base nesta definição pontuamos o local de coleta como banco de leite de referência por cumprir com todas as exigências determinadas pela ANVISA⁹.

Para a realização deste trabalho, foram coletadas 20 amostras (200 mL) independentes, totalizando um volume de 4 litros de leite humano, 10 amostras

do ar ambiental, 10 dos recipientes utilizados para o armazenamento do leite e 10 das mãos dos manipuladores, provenientes de um banco de leite humano de referência, situado no município de João Pessoa – PB, no período de novembro de 2004 a setembro de 2005. A coleta foi realizada, seguindo procedimentos recomendados pela ICMSF¹² e as amostras, transportadas assepticamente sob refrigeração para os laboratórios de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos (DN/CCS/UFPB), onde foram realizadas as análises.

Análises microbiológicas

Foram realizadas em duplicata para amostras de leite humano antes do congelamento, após o congelamento, e após a pasteurização, foram realizadas as seguintes análises.

▪ **Contagem de bactérias aeróbias mesófilas:** Foi feita empregando-se a técnica “Pour Plate” em placas de Petri, usando Plate Count Agar e incubação a 37°C/48h¹².

▪ **Contagem de bolores e leveduras:** Foi realizada em Potato Dextrose Agar acidificado com ácido tartárico a 10% (pH=3,5), seguida de incubação a 25°C/5 dias¹³.

▪ **Pesquisa do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Fecais:** Foi realizada pela técnica de tubos múltiplos, usando-se Lauryl-sulfato triptose e incubação a 35°C/48h. Os tubos gás-positivos foram repicados para tubos contendo caldo bile verde brilhante, seguidos de incubação a 35°C/48h, para verificar a presença de coliformes totais e para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), incubados a 45°C/24h, em banho-maria, para verificar a presença de coliformes fecais^{12,13}.

▪ **Contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva:** Foi realizada mediante a semeadura de 0.1 ml das diluições em Ágar Baird Parker, adicionado de telurito de potássio e emulsão de gema de ovo, seguido de incubação a 35°C ± 0,2/48h, sendo feita à confirmação com a prova da coagulase e catalase¹⁴. Para as amostras de ar ambiental, recipientes de armazenamento do leite, e mãos dos manipuladores foram realizadas em duplicata as análises de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva.

Análises Físico-Químicas

As análises físico-química feitas em triplicata para as amostras de leite antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização foram:

▪ **Determinação do Teor de Proteínas:** O teor de Nitrogênio Total da amostra foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão 6,25¹⁵.

▪ **Determinação do Teor de Lipídios:** Determinado pelo método de Gerber, que se baseia na quebra da emulsão do leite pela adição de soluções específicas, com a posterior centrifugação¹⁵.

▪ **Determinação do Teor de Carboidratos Totais:** Utilizando-se dos índices obtidos pela análise da umidade, RMF, proteínas e lipídios, foi calculado o teor de carboidratos totais pela diferença¹⁵.

▪ **Determinação do Teor de Minerais:** Foi determinado pelo método gravimétrico após evaporação em banho-maria, carbonização e incineração da matéria orgânica em forno mufla a 500°C¹⁵.

▪ **Valor Energético Total:** Foi calculado, segundo Instituto Adolfo Lutz¹⁵, pela soma e multiplicação dos macroelementos, pela quantidade de calorias fornecidas, por cada um.

▪ **Determinação da Densidade:** Determinada com o auxílio de um termolactodensímetro de Quevene, que afere a temperatura e a densidade do leite¹⁵.

▪ **Determinação Eletrométrica do pH:** Determinada diretamente com o auxílio do aparelho medidor de pH¹⁵.

▪ **Determinação da acidez em graus Dornic:** Determinada por processo de titulação que estabelece uma correlação entre o volume gasto de NaOH e os graus Dornic¹⁵.

▪ **Determinação da Umidade:** Determinada pelo método direto que se fundamenta na secagem do material em estufa estabilizada a 105°C¹⁵. Não sendo utilizado um N igual a 20 para todas as análises físico-químicas.

Análise Estatística

Os dados foram agrupados em: leite antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização. Após a verificação da normalidade

(Komogorov-Smirnov), foi aplicado a ANOVA, tendo como nível de significância 5%, sendo para esta última, o teste de Tukey como prova final de comparação entre os resultados. Para as análises microbiológicas, os dados foram transformados em escala logarítmica (LogUFC/ml ou placa), e foram utilizados os procedimentos da estatística descritiva por meio de médias, desvio padrão e Teste t de Student, com a utilização do *software* SPSS for Windows, versão 14.0¹⁶.

RESULTADOS

As análises microbiológicas realizadas foram a Contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas (CPP) e a contagem padrão de bolores e leveduras (CPBL), sendo o leite avaliado após o congelamento e após a pasteurização. Os resultados obtidos para esta análise estão expostos na Tabela 1, sendo observado pela realização do teste t que não houve diferenças significativas para as variáveis analisadas a saber, CPP ($p > 0,05$) e CPBL ($p > 0,05$).

Tabela 1. Resultados das Análises Microbiológicas do Leite Humano, após o congelamento e após a pasteurização

Leite Humano	Contagem Padrão de Bactérias Aeróbias Mesófilas (CPP) Log UFC/mL		Contagem Padrão de Bolores e Leveduras (CPBL) Log UFC/mL	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Após o congelamento	2,20	1,75	2,23	2,16
Após a pasteurização	1,46	0,21	1,94	2,01

Em apenas duas amostras de leite, após o congelamento e uma de leite após a pasteurização, detectou-se a presença de coliformes a 35°C, sendo encontrada também a presença de coliformes a 45°C em uma amostra obtida após o congelamento. Depois da pasteurização, não se detectou a presença de coliformes a 45°C.

Tabela 2. Teor de Carboidratos, Proteínas e Minerais no leite Humano, antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização

Leite Humano	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Minerais (%)
Antes do congelamento	8,16 ± 0,68	0,93 ± 0,32	0,15 ± 0,06
Após o congelamento	7,28 ± 1,87	1,87 ± 1,40	0,15 ± 0,04
Após a pasteurização	6,85 ± 2,87	1,98 ± 1,18	0,14 ± 0,03

Valores médios e desvio padrão dos resultados das análises ($p > 0,05$)

Não foi observada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite, no ambiente, nos recipientes nem nas mãos dos manipuladores avaliados.

Na Tabela 2, estão expostos os resultados das análises de teor de carboidratos ($p > 0,05$), proteína ($p > 0,05$) e minerais ($p > 0,05$), não havendo diferenças significativas entre os valores médios.

Pelo teste da ANOVA, pode ser verificado que, para a variável da composição centesimal designada como teor de lipídios ($p < 0,05$) e valor energético total ($p < 0,05$), foi encontrada uma diferença significativa entre os valores médios (Tabela 3).

Tabela 3. Teor lipídico e valor energético total do leite humano, antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização

Leite Humano	Teor de lipídios totais (%)	Valor energético total - VET (Calorias)
Antes do congelamento	4,07 ± 0,30	73,00 ± 2,68
Após o congelamento	2,51 ± 0,88	56,19 ± 7,59
Após a pasteurização	1,97 ± 0,33	55,58 ± 3,62

Na Tabela 4, pode ser verificado o resultado do teste de Tukey realizado com os valores das análises do teor de lipídios e o valor energético total, sendo verificada uma diferença externamente significativa ($p < 0,001$) entre o leite antes do congelamento e o leite após a pasteurização, com um percentual de 23,28% de perda calórica após o congelamento e uma perda total de 23,86% após a pasteurização.

Tabela 4. Teste de Tukey para teor lipídico e valor energético total do leite humano, antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização

Leite Humano	Antes do congelamento	Após o congelamento	Após a pasteurização
Antes do congelamento	**	***	—
Após o congelamento	—	ns	**
Após a pasteurização	ns	—	***

ns – Não significativo estatisticamente $p > 0,05$ / * - $p < 0,05$ / ** $p < 0,01$ / *** $p < 0,001$

Dos parâmetros físico-químicos analisados para avaliar a qualidade, a densidade ($p > 0,05$) não apresentou resultados significativos, no entanto, nas análises de pH ($p < 0,05$), acidez dornic ($p < 0,05$) e teor de umidade ($p < 0,05$), quando submetidos à análise pela ANOVA, demonstraram resultados significativos entre os valores médios (Tabela 5).

Tabela 5. pH, acidez titulável e teor de umidade do leite humano antes do congelamento, após o congelamento e após a pasteurização

Leite Humano	pH	Acidez titulável (Graus Dornic)	Teor de umidade (%)
Antes do congelamento	6,97 ± 0,39	2,83 ± 2,36	86,70 ± 0,58
Após o congelamento	6,26 ± 0,17	7,91 ± 3,93	89,00 ± 1,21
Após a pasteurização	6,86 ± 0,24	3,61 ± 1,69	88,67 ± 0,74

DISCUSSÃO

A resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde¹⁷, estabelece, pela primeira vez no Brasil, critérios para o controle microbiológico do leite humano. Nessa resolução, a quantidade de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis permitida é de até 2 LogUFC/mL, ausência tanto de coliformes a 35°C como de *Staphylococcus coagulase positiva* em 1 mL de leite após a pasteurização.

Nesta pesquisa, a média das contagens de bactérias aeróbias mesófilas (CPP) no leite humano após o congelamento foi de 2,20 LogUFC/mL e no leite após a pasteurização, 1,46 LogUFC/ml, estando, portanto, dentro dos padrões preconizados pela ANVISA¹⁷ para o leite humano, indicando que as técnicas de ordenha e processamento estão sendo utilizadas corretamente.

A presença de bolores e leveduras em alimentos pode indicar contaminação proveniente do meio ambiente ou resultado de manipulação em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias¹¹. Foram encontrados valores médios para a CPBL de 2,23 LogUFC/mL no leite após o congelamento e 1,94 LogUFC/mL no leite após a pasteurização. Mesmo não sendo preocupantes, esses resultados podem ser indicativos de possíveis falhas no manuseio do produto.

O leite Humano obtido de doadoras saudáveis é livre de microrganismos patogênicos. Quando presentes podem ser provenientes de fontes externas de contaminação. Entre os contaminantes externos, os coliformes ocupam lugar de destaque devido ao seu próprio significado e elevada probabilidade de sua ocorrência quando o leite não é obtido em condições higiênico-sanitárias satisfatórias¹⁸.

Do total de 20 amostras analisadas, apenas quatro (20%) encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA¹⁷. Na pesquisa de coliformes a 35°C, duas amostras de leite após o congelamento e uma após a pasteurização, numa delas, do leite após congelamento, foi detectada a presença de coliformes a 45°C. Após a pasteurização em apenas uma amostra, foi detectada a presença de coliformes a 35°C, estando, portanto, fora dos padrões estabelecidos¹⁷. Destaca-se a importância da determinação de bactérias do grupo coliforme no controle da qualidade microbiológica do leite humano, uma vez que a sua presença pode indicar contaminação, mesmo que indireta, de origem fecal, sem implicar necessariamente a identificação de *Escherichia coli*¹⁹.

Segundo a American Public Health Association²⁰, os padrões microbiológicos para recipientes de leite e água são de 1UFC/mL da capacidade do recipiente, neste trabalho, foram encontrados resultados médios menores que 1UFC/mL de capacidade dos recipientes analisados, atestando, portanto, a higiene sanitária desses recipientes.

Nas mãos dos manipuladores, não foi detectada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Estudos de rastreamento epidemiológico identificam o manipulador de alimentos como ponto chave no processo de disseminação dos *Staphylococcus*, sendo de extrema importância o controle dos portadores assintomáticos²¹.

A presença de números elevados de *S. aureus* é uma indicação de perigo potencial à saúde pública, devido à toxicidade da enterotoxina estafilocócica, bem como ao questionamento da sanificação, especialmente quando envolve a manipulação de alimentos²².

Dependendo das condições, quando o descongelamento é realizado de forma muito lenta ou quando o alimento é deixado à temperatura ambiente, os microrganismos têm a possibilidade de multiplicar-se e desenvolver atividades como a produção de toxinas. As espécies de microrganismos que se multiplicam dependem da temperatura a que se realizou o descongelamento e do tempo em que o alimento, uma vez descongelado, ficou exposto à temperatura ambiente²³.

Fraizer e Westhoff²³ consideram que o congelamento pode diminuir o número de microrganismos viáveis existentes no alimento devido aos efeitos letais e subletais que exerce sobre eles, porém não é considerado como um processo de esterilização de alimentos, o que indica a necessidade da pasteurização, que é definida como o processo capaz de destruir no leite, pelo emprego do calor, a quase totalidade da microbiota deterioradora e a totalidade de sua microbiota patogênica, procurando alterar o mínimo possível a sua estrutura física e o seu equilíbrio químico²⁴.

Trombino, Hernandez e Rios²⁵, em um trabalho com leite humano, encontraram em 94% das amostras de leite analisadas valores menores que 1LogUFC/mL de bactérias aeróbias mesófilas e *Staphylococcus aureus* e menos de 1 UFC/mL para coliformes a 35°C, comprovando a eficiência da pasteurização para melhorar a qualidade e a obtenção de alimentos seguros.

Alencar e Araújo²⁶, analisando amostras de leite humano coletadas em dois bancos de leite do Município do Rio de Janeiro, demonstraram que a pasteurização foi eficaz em 98,69% das amostras. Em amostras de leite

pasteurizado analisadas por Kamiya e Ramos²⁷, não foi detectada a presença de coliformes a 35°C.

Segundo Wyk²⁸, a possível desvantagem ocorrida na pasteurização do leite ofertado a crianças prematuras é o ritmo mais lento de ganho de peso, que pode ser atribuído a pasteurização, que pode levar a destruição da lipase do leite, que é sensível ao calor. Outros estudos mostram que os resultados do tratamento térmico por meio da pasteurização, podem levar a uma redução ou eliminação de propriedades do leite que são fundamentais para o lactente^{29,30,31}. Por outro lado tem sido demonstrado que a capacidade bactericida do leite humano após a pasteurização se prolonga por 72 horas ou mais³².

Segundo Calil e Falcão³³, a necessidade de proteínas para o recém-nascido a termo é estimada em cerca de 2,0 a 2,5g/kg/dia, diminuindo gradualmente até um valor de 1,3g/kg/dia. O leite humano maduro fornece, em média, 1,2g de proteína/100mL de leite. Os resultados encontrados para o teor de proteína do leite, após o congelamento, e o leite, após a pasteurização, foram 1,87 e 1,98% respectivamente, atendendo às necessidades do recém-nascido.

O perfil de aminoácidos do leite humano é bastante adequado às características metabólicas do recém-nascido, especialmente o prematuro, devido à imaturidade de alguns sistemas enzimáticos, que se traduzem pela limitada capacidade para a utilização e conversão de determinados aminoácidos³³.

Dentre os componentes do leite, temos a lactose como carboidrato de maior concentração que fornece de 45 a 50% do conteúdo energético total do leite humano. Elevadas concentrações de lactose são consideradas como de grande importância para o RN, visto que seu produto metabólico, a galactose, entra na constituição dos galactolipídios, integrantes do sistema nervoso central³³. O teor de carboidratos das amostras de leite analisadas não apresentou diferença significativa, mas foi inferior à necessidade do recém-nascido.

Os lipídios do leite humano são facilmente digeríveis e absorvíveis em decorrência da ação combinada de vários fatores, tais como a organização dos glóbulos de gordura, a composição de ácidos graxos e comprimento de suas cadeias³³.

Lopes, Amâncio e Juliano³⁴ observaram um percentual de 20,42% de perda de lipídio entre o leite humano recém ordenhado e o leite humano após o congelamento, com a utilização do método de Crematocrito. Neste trabalho a quantificação de lipídios

foi realizada pelo método de Geber¹², que também detectou uma diferença significativa no teor lipídico de 23,3% entre o leite antes do congelamento e o leite após o congelamento, sendo a perda global após a pasteurização de 23,9% do valor energético total.

As perdas ocorridas podem ser consequência da quebra da membrana do glóbulo de gordura, sob ação da lipase do leite humano, reduzindo os teores de lipídios. Outra possibilidade se baseia no fato do congelamento e posterior descongelamento influírem na estrutura física das proteínas do leite, desestabilizando a emulsão. Com isso, há a formação de uma camada de gordura que pode aderir à parede do recipiente ou formar uma camada sobrenadante, dificultando a homogeneização da amostra e diminuindo os valores da gordura analisados³⁴.

Vieira, Moreira e Rocha³⁵ avaliaram 462 amostras de leite humano, encontrando um percentual de gordura e um conteúdo energético significativamente menor no leite humano processado em relação ao leite humano cru, sugerindo que o processamento pode afetar a qualidade do leite humano oferecido aos recém nascidos.

A densidade é uma constante física importante na verificação da qualidade do leite, sendo relacionada com a riqueza do leite em sólidos totais³⁶. No presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas entre os valores da densidade, podendo ser justificado pelo fato de ser um alimento com baixo percentual de matéria seca total, que compreende a todos os elementos do leite, exceto a água, com um percentual médio de 12,5%¹.

O pH do leite humano ordenhado encontra-se entre 5,47 e 7,84, variando diretamente com as semanas de lactação e inversamente com o teor de lipídios, sendo coerente afirmar que quanto maior a concentração de gordura total maior a possibilidade do leite desenvolver acidez elevada³⁷. Os resultados encontrados na determinação do pH do leite apresentaram diferenças significativas entre as médias, como ilustrado na Tabela 5.

A acidez titulável do leite humano imediatamente após a ordenha encontra-se entre 3° e 6°D²⁹. A acidez determinada neste trabalho foi de 2,83°D no leite antes do congelamento e 7,91° após o congelamento. Segundo Cavalcante et al³⁸, a temperatura atua como modificador da acidez titulável, podendo variar de 8 a 13°D.

Quantitativamente, a água é o elemento mais importante na composição química do leite, representando, aproximadamente, 9/10 do total¹⁶. Na determinação da umidade, foram verificadas diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as médias das amostras de

leite antes e após o congelamento e entre o leite após a pasteurização e antes do congelamento ($p < 0,05$), sendo o teor de umidade menor no leite antes do congelamento, o que indica possíveis perdas de solutos durante o processamento e manipulação do leite.

O leite humano processado em bancos pode ter a composição de macro e micronutrientes inadequados para o recém-nascido de baixo peso, seja porque as necessidades desses nutrientes são maiores nesse grupo, o que requer uma complementação, seja em função das perdas associadas à coleta, armazenamento e procedimentos na sua administração⁵.

CONCLUSÃO

O monitoramento de todas as variáveis envolvidas, ordenha, congelamento e pasteurização do leite humano e distribuição possibilitaram a identificação de influências positivas e negativas a qualidade do leite humano. A pasteurização foi importante para a manutenção da qualidade microbiológica do leite, no entanto, se mostrou vulnerável as contaminações do ar ambiente, recipiente de armazenamento e mão de manipuladores.

Por outro lado, foi detectada uma redução significativa no teor de lipídios possivelmente provocada pelos processos de congelamento e pasteurização o que indica a necessidade desenvolver novas tecnologias capazes de preservar o leite, sem afetar significativamente o seu valor nutritivo e suas propriedades físico-químicas.

REFERÊNCIAS

1. Behmer MLA. Tecnologia do Leite. 15a ed. São Paulo: Nobel; 1987.
2. Sim MR, MC'Neil JJ. Monitoring Chemical exposure using breast milk. A methodological review. *Am J Epidemiol*. 1992; 136(1):1-11.
3. Organização Mundial de Saúde. Alimentação Infantil: Bases Fisiológicas. James Akre Editor. São Paulo; 1994.
4. Stevenson DK, Yang C, Kerner Jr. JA, Yeager AS. Intestinal flora in the second week of life in hospitalized preterm infants fed stored frozen breast milk or a proprietary formula. *Clin Pediatr*. 1985; 24(3):338-41.
5. Popper IOP. Produção de leite humano ordenhado "zero defeitos": uma proposta. *Hig Alim*. 2001; 15(81):44-9.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Informe Saúde ano 4. 2000.
7. Góes HCA, Torres AG, Donangelo CM, Trugo NMF. Nutrient composition of banked milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk factors. *Nutrition*. 2002; 18:590-4.

8. Rêgo JD. *Aleitamento Materno*. São Paulo: Atheneu, 2000.
9. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de Leite Humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF: ANVISA, 2008; 115-49.
10. Brasil. Resolução RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite Humano. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder executivo, Brasília, DF, 5 set. 2006.
11. Chaves JBP. Controle de qualidade para indústria de alimentos (princípios gerais) Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1980.
12. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Ecologia microbiana de los alimentos 1: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos em los alimentos. Zaragoza: Acribia; 1982.
13. Vanderzante C, Spillitstoesser DF. Compendium of methods for the Microbiological examination of Foods. 3ed. Washington: Am Public Health Assoc; 1992.
14. Silva N, Junqueira VAC, Silveira NFA. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. São Paulo: Varela; 1997.
15. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2ª ed. São Paulo; 1985.
16. SAS INSTITUTE. User's Guide to Statistics. [computer program] Versão 6.12. Cary, USA: North Carolina State University; 1996.
17. Ministério da Saúde Resolução nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Regulamento técnico sobre Padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 10 de jan. de 2001.
18. Almeida JAG. Amamentação: Repensando o paradigma. Ed. Fiocruz. Rio de Janeiro; 1998.
19. Almeida JAG, Novak KFR, Almeida CHG, Serva VB. Avaliação parcial da flora microbiana do leite humano ordenhado do IMIP. *Rev Inst Mat Inf Pernambuco*. 1989; 3(1):13-6.
20. American Public Health Association (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4ed. Washington,DC; 2002.
21. Pontes MRA, Ivsaki Y, Oliveira YS. Avaliação das condições higiênicas sanitárias do leite humano pasteurizado distribuído pelo banco de leite de um hospital público do Distrito Federal. *Higiene Alimentar*. 2003; 17(107):43-9.
22. Franco, BDGM, Landgraf M. - *Microbiologia de Alimentos*. Atheneu, São Paulo; 1996.
23. Frazier WC, Westhoff DC. *Food microbiology*. 5 ed. New York: Mc Graw-Hill; 1993.
24. Veisseyre R. *Lactologia Técnica*. Zaragoza; 1972.
25. Trombino V, Hernandez M, Rios SM. Efecto de los procesos de higienización sobre la calidad microbiológica de la leche humana del Banco de Leche del Hospital Universitario de Caracas (HUC). *Inst Nacional Hig*. 2003; 34(1):10-6.
26. Alencar AP, Araújo HJ, Gonçalves MF. Avaliação microbiológica do leite materno de dois bancos de leite do município do Rio de Janeiro-RJ, Brasil. In: Congresso Latino Americano de Microbiológica e Higiene de Alimentos, Água de Lindóia. Resumos SBM, 1998; 115.
27. Kamiaya E, Ramos MIL. Avaliação microbiológica e calórica do leite humano coletado e distribuído no banco de leite humano do Hospital Universitário/NHU/UFMS. *Hig Alim*. 2003; 17(109):64-8.
28. Wyk EV. The effect of pasteurization on the composition of expressed human milk from HIV positive mothers, and its adequacy in reduction to the growth of their very low birth weight premature infants [Dissertação de mestrado]. Jonkershoek Valey, South Africa, 2008. 190pp.
29. Silvestre D, Ferrer E, Gayá J. Available lysine content in human milk: stability during manipulation prior to ingestion. *Biofactors*. 2006; 26:71-9.
30. Chen HY, Allen JC. Human milk antibacterial factors: the effect of temperature on defense systems. *Adv Exp Med Biol*. 2001; 501:341-8.
31. Silvestre D, Ruiz P, Martinez-Costa C, Plaza A, Lopez MC. Effect of pasteurization on the bactericidal capacity of human milk. *J Hum Lact*. 2008; 24(4):371-6.
32. Ogundele MO. Effect of storage on the physicochemical and antibacterial properties of human milk. *Br J Biomed Sci*. 2002; 59:205-11.
33. Calil VMLT, Falcão MC. Human milk composition: the ideal nutrition for infants. *Rev Med São Paulo*. 2003; 82(1):1-10
34. Lopes LA, Amâncio OM, Juliano Y. Influencia do congelamento na determinação de gordura total e do valor calórico total de colostro humano pelo método de crematocrito. *Rev Paul Pediatr*. 1992; 10(39): 116-9.
35. Vieira LA, Moreira MEL, Rocha AD. Análise do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascido de muito baixo peso ao nascimento. *J Pediatr*. 2004; 80(6): 490-4.
36. Goursaud J. Composition et propriéts physico-chimiques. In: Luquet FM. *Lait et produits laitiers*. Paris: Tec Doc Lavoiser. 1985; 1 parte 1 cap1: 1-93p.
37. Cavalcante JLP, Telles FJS, Peixoto MMLV, Rodrigues RCB. Uso da acidez titulável no controle de qualidade do leite humano ordenhado. *Cienc Tecnol Aliment*. 2005; 25(1):103-8.
38. Bartolozzo EAFQ, Tiboni EB, Candido LMB. Leite humano processado em bancos de leite para o recém-nascido de baixo peso: análise nutricional e proposta de um novo complemento. *Rev Panam Salud Publica*. 2004;16 (3):199-205.