

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Mayara de Simas Mesquita

**ARMAZENAMENTO DO LEITE HUMANO EM EMBALAGEM PLÁSTICA E  
FRASCO DE VIDRO: INFLUÊNCIA SOBRE A CONTAGEM DE MESÓFILOS  
AERÓBIOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Rio de Janeiro

2015

Mayara de Simas Mesquita

**ARMAZENAMENTO DO LEITE HUMANO EM EMBALAGEM PLÁSTICA E  
FRASCO DE VIDRO: INFLUÊNCIA SOBRE A CONTAGEM DE MESÓFILOS  
AERÓBIOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Orientador: Dr. Antônio Eugênio C. Cardoso de Almeida

Rio de Janeiro

2015

Catálogo na fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Mesquita, Mayara de Simas

Armazenamento de leite humano em embalagem plástica e frascos de vidro: influência sobre a contagem de mesófilos aeróbios e características físico-químicas / Mayara de Simas Mesquita. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2015.

76 f.: il

Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária. Rio de Janeiro, 2015.

Orientador: Antônio Eugênio C. Cardoso de Almeida

1. Leite Humano. 2. Banco de Leite. 3. Embalagem de Alimentos. 4. 6. Controle de Qualidade. I. Título.

Human milk storage in plastic packaging and glass bottle: influence on the count aerobic mesophilic and physical and chemical features.

Mayara de Simas Mesquita

**ARMAZENAMENTO DO LEITE HUMANO EM EMBALAGEM PLÁSTICA E  
FRASCO DE VIDRO: INFLUÊNCIA SOBRE A CONTAGEM DE MESÓFIOS  
AERÓBIOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Aprovado em 17/04/2015

**BANCA EXAMINADORA**

---

Shirley de Mello Pereira Abrantes (Doutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

João Aprígio Guerra de Almeida (Doutor)  
Instituto Fernandes Figueira

---

Daniele Mendonça Ferreira (Doutora)  
Universidade Federal Fluminense

---

Dr. Antônio Eugênio C. Cardoso de Almeida (Orientador)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dedico este trabalho à minha amada  
mãe, Andréa Blezer Franciss,  
companheira de todos os momentos e  
alicerce da minha vida e ao meu querido  
padrasto, Ricardo Franciss, pelo  
incentivo e apoio em minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram e me apoiaram incondicionalmente para a elaboração deste trabalho. Em especial...

A Deus pela força e luz constantes na minha vida.

Ao meu orientador Dr. Antônio Eugênio de Almeida pela sabedoria e ensinamentos.

Agradeço pela amizade incrível e pela confiança.

À Professora Dr<sup>a</sup> Alexandra Anastacio Monteiro, pela amizade e orientação incansável ao longo deste trabalho. Obrigada por ter me dado à oportunidade de acompanhá-la no Banco de Leite Humano do HMHP e por ter tido a chance de aprender tanto nesse período.

Ao Instituto Fernandes Figueira por ter aberto as portas para a condução deste trabalho.

Ao prof. João Aprígio pelos conselhos e convite em conduzir este trabalho no Instituto Fernandes Figueira.

Ao Prof. Jonas Borges e ao Prof. Franz Novak por todo o ensinamento e direcionamento dado a mim durante a condução prática deste estudo no laboratório do IFF.

À excelente equipe do laboratório do IFF, Ísis e Eduardo, por terem se desdobrado para que eu pudesse conduzir o trabalho da melhor maneira possível. Além de profissionais incríveis, tornaram-se grandes amigos.

À Danielle Silva pelo acolhimento e ajuda.

Ao prof. Sérgio Silva pela ajuda na estatística deste trabalho.

Às Nutricionistas do Hospital Maternidade Herculano Pinheiro, pelo acolhimento.

Às doadoras do BLH do HMHP, que de maneira voluntária, aceitaram participar deste estudo;

À Ana Paula dos Santos pela ajuda na execução de parte deste trabalho;

À coordenação do Programa e todo o corpo docente, pela atenção e ensinamentos passados.

Aos colegas do mestrado pelo apoio profissional e carinho.

A mente que se abre a uma nova ideia jamais  
voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

## RESUMO

O leite humano (LH) é o melhor alimento para o recém-nascido, contemplando todos os requisitos nutricionais necessários ao seu crescimento e desenvolvimento saudáveis. Os Bancos de Leite Humano (BLHs) são elementos estratégicos da política pública brasileira em favor da promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno. Dificuldades para obtenção de frascos de vidro para armazenamento do LH em BLHs são frequentes. É relevante o estudo de uma alternativa para a coleta e armazenamento do Leite Humano Ordenhado Cru (LHOC) em BLHs, que não traga riscos de contaminação e preserve as características físico-químicas do LH. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do Saco Plástico próprio para o armazenamento do Leite Humano (SPLH) e do frasco de vidro sobre a composição físico-química e microbiológica do LH. Foi conduzido um estudo experimental com 55 amostras de leite humano ordenhado (LHO), armazenadas em freezer à  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. A contagem de mesófilos aeróbios foi realizada em LHO e pasteurizado (LHOP), denominado controle no tempo T0 (logo após o degelo) e nas amostras de LHOP sem e com diluição ( $10^{-1}$  e  $10^{-5}$ ) nos tempos T1 e T2 (07 dias e 15 dias de armazenamento em SPLH e frasco de vidro). Foram determinadas a acidez Dornic, gordura, valor energético, lactose e proteína em LHOC e LHOP armazenado em SPLH e frasco de vidro. As metodologias utilizadas seguiram os padrões oficiais. A influência da embalagem sobre o conteúdo de macronutrientes do LH foi determinada por ANOVA. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. A ocorrência percentual dos mesófilos aeróbios foi: LHOP controle- T0= 8%. SPLH- LHOP sem diluição: T1= 14% e T2= 7%; LHOP diluído ( $10^{-1}$ ): T1=11% e T2= 0% e LHOP diluído ( $10^{-2}$ ): T1= 7% e T2=0%. Frasco de vidro- LHOP sem diluição: T1= 14% e T2= 11%; LHOP diluído ( $10^{-1}$ ): T1 e T2=7% e LHOP diluído ( $10^{-2}$ ): T1= 7% e T2= 0%. Não foram observadas contagens nas diluições  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ . O LHOC e LHOP (SPLH e vidro) apresentaram acidez  $< 8^{\circ}\text{D}$ . Estes resultados indicam que as embalagens (SPLH e vidro) não influenciaram de forma negativa o produto, como também, houve boas práticas de manipulação e qualidade higiênico sanitária do LH. A gordura, o valor energético, a lactose e a proteína foram em média, respectivamente, 3,3%, 65 Kcal/100 mL, 6,0% e 1% no frasco de vidro e 3,4%, 67 Kcal/100 mL 6,0% e 1,2% no SPLH. Não foram observadas diferenças nas características físico-químicas do LH entre as embalagens. Constatou-se que o SPLH é uma alternativa viável e segura para o armazenamento do LH em BLHs já que não provocou alterações na composição físico-química e microbiológica do LH armazenado nestas embalagens.

Palavras-chave: Leite Humano. Banco de Leite Humano. Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano. Saco próprio para acondicionamento de leite humano. Frasco de Vidro.

## ABSTRACT

Human milk (HM) is the best food for the newborn, contemplating all the nutritional requirements necessary for their healthy growth and development. The Human Milk Banks are strategic elements of Brazilian public policy in favor of promoting, protecting and supporting breastfeeding. Difficulties in obtaining glass bottles for storage of HM are common. It is relevant to the study of an alternative for the collection and storage of Human Milk Raw (HMR) in Human Milk Banks (HMB) that does not bring risks of contamination and preserve the physicochemical characteristics of HM. The objective of this study was to evaluate the use of the Bag for storage of HM and of glass bottles on the microbiological and chemical composition of the HM. An experimental study with 55 samples of HM, then stored in a freezer at  $-20^{\circ}\text{C}$  was conducted. The aerobic mesophilic counts were obtained in Human Milk and Pasteurized (HMP), called control in time T0 (after defrosting) and in samples of HMP with and without dilution ( $10^{-1}$  to  $10^{-5}$ ) at T1 and T2 (07 days and 15 days of storage in Glass and Bag for HM). Dornic acidity, fat, energy, protein and lactose were determined in HMR and HMP stored in Bag for HM and Glass. The methodologies used followed the official standards. Data were analyzed using Anova. Values of  $p < 0.05$  were considered significant. Percentage occurrence of aerobic mesophilic was: HMP control: T0 = 8%. Bag- HMP undiluted: T1 = 14% and T2 = 7%; HMP diluted ( $10^{-1}$ ): T1= 11% and T2= 0% and HMP diluted ( $10^{-2}$ ): T1 = 7% and T2=0%. Glass- HMP undiluted: T1= 14% and T2= 11%; HMHP diluted ( $10^{-1}$ ): T1 and T2= 7% and HMP diluted ( $10^{-2}$ ): T1= 7% and T2= 0%. Were not observed counts in dilutions  $10^{-3}$  to  $10^{-5}$ . HMR and HMP (Bag and Glass) had acidity  $< 8^{\circ}\text{D}$ . These results indicate that the packages did not influence negatively the product, as well as, good handling practices and sanitary hygienic quality of HM. The fat, energy, protein and lactose were averaged, respectively, 3.3%, 65 kcal / 100 ml, 6.0% and 1% in the Glass and 3.4% 67 kcal / 100 ml 6.0% and 1.2% in Bag for HM. No significant differences were observed in the physical and chemical characteristics of HM between the packages. The mesophilic aerobic count, acidity, fat, energy, lactose and protein in HM were not influenced by Bag for HM. It is possible that the Bag for storage of HM is a viable alternative to in milk banks.

**Keywords:** Human Milk. Human Milk Bank. Brazilian Network of Human Milk Banks. Bag for storage of Human Milk. Glass Bottle.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Anatomia da mama -----	23
Figura 2	Estímulos relacionados a liberação de prolactina -----	24
Figura 3	Estímulos relacionados a liberação de ocitocina -----	25
Quadro 1	Composição nutricional do leite humano em sua três fases -----	26
Tabela 1	Necessidades energéticas de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005) -----	27
Tabela 2	Necessidades proteicas de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005) -----	28
Tabela 3	Necessidades de lipídios e carboidratos de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005) -----	29
Figura 4	Ordenha de leite humano -----	34
Tabela 4	Classificação do leite humano segundo o período de lactação -----	39
Quadro 2	Principais características do vidro como embalagem -----	43
Quadro 3	Vantagens e Desvantagens do uso de plásticos -----	44
Figura 5	Arranjos moleculares dos três principais tipos de polietileno -----	46
Tabela 7	Efeito do tipo de recipiente em constituintes do leite materno após 4h e 24h de armazenamento -----	48
Figura 6	Saco Plástico próprio para o acondicionamento do LH -----	50
Figura 7	Desenho experimental Estudo 1 -----	52
Figura 8	Desenho experimental Estudo 1 -----	53
Tabela 8	Resultados das análises microbiológicas do leite humano armazenado em embalagem plástica e frasco de vidro nos tempos zero (T0), T1 (07 dias) e T2 (15 dias) ----	58
Tabela 9	Teores de acidez, gordura, energia, lactose e proteína do LH nas embalagens de vidro e plástico -----	60

## LISTA DE SIGLAS

AA	Ácido Araquidônico
AI	Adequated Intake
AME	Aleitamento Materno Exclusivo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de controle
BLH	Banco de Leite Humano
BLHs	Bancos de Leite Humano
BPA	Bisfenol A
BPA Free	Livres de Bisfenol A
(°C)	Graus Celsius
CuSO <sub>4</sub>	Sulfato de Cobre
(°D)	Graus Dornic
DHA	Ácido Docosa-Hexaenóico
IOM	Dietary Reference Intakes
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
FDA	Food and Drug Administration
FLI	Feedback Inhibitor of Lactation
GI	Gastro Intestinal
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Points
hBD-2	Peptídeo Beta-Defensina-2
HMHP	Hospital Maternidade Herculano Pinheiro
IFF	Instituto Fernandes Figueira
IgA	Imunoglobulina A
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-6	Interleucina seis
IL-8	Interleucina oito
LH	Leite Humano
LHO	Leite Humano Ordenhado
LHOC	Leite Humano Ordenhado Cru

LHOP	Leite Humano Ordenhado Pasteurizado
NaOH	Hidróxido de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PS	Poliestireno
PCLH	Postos de Coleta de Leite Humano
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PELBD	Polietileno Linear de Baixa Densidade
PET	Poli Tereftalato de Etileno
PNIAM	Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno
POP	Procedimentos Operacionais Padrão
PP	Polipropileno
PVC	Poli Cloreto de Vinila
rBLH-BR	Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano
RDA	Recommended Dietary Allowance
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SIgA	Imunoglobulina A Secretora
SPLH	Saco Plástico próprio para acondicionamento do Leite Humano
SPSS	Statistical Package for Social Science
T0	Tempo zero
T1	Tempo um
T2	Tempo dois
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UTI's	Unidades de Terapia Intensiva
Vt	Volume Titulado
Vu	Volume usado de amostra

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	16
<b>3. OBJETIVO GERAL</b>	17
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
<b>4. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	18
4.1 LEITE HUMANO E ALEITAMENTO MATERNO	18
4.2 LACTAÇÃO HUMANA	22
4.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO E NECESSIDADES NUTRICIONAIS	25
4.3.1 Energia e macronutrientes	26
<b>5. BANCO DE LEITE HUMANO (BLH)</b>	30
5.1 CONTROLE DE QUALIDADE EM BANCOS DE LEITE HUMANO	33
5.1.1 Ordenha, coleta e armazenamento	34
5.1.2 Degelo	36
5.1.3 Análises de seleção e classificação	37
5.1.4 Pasteurização e análise microbiológica	39
<b>6. EMBALAGENS DE ARMAZENAMENTO</b>	<b>41</b>
<b>7. MATERIAL E MÉTODOS</b>	49
7.1 ESTUDO 1- CONTAGEM DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS AERÓBIOS	50
7.2 ESTUDO 2 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE HUMANO	53
7.2.1 Sujeitos do estudo	53
7.2.2 Análise da acidez Dornic	54
7.2.3 Crematócrito	55
7.2.4 Pasteurização	55
7.2.5 Análise de Proteína	55
7.2.6 Análise de Lactose	56
<b>8. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	57
<b>9 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	58
9.1 CONTAGEM DE MESÓFILOS AERÓBIOS	58
9.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LH	59
<b>10 CONCLUSÃO</b>	62
<b>REFERÊNCIAS</b>	63

## 1. INTRODUÇÃO

O leite humano (LH) é o melhor alimento para o recém-nascido a termo e pré-termo (ABRANCHES et al., 2014), pois contempla os requisitos nutricionais essenciais ao seu crescimento e desenvolvimento saudáveis. Atua como agente imunizador, além de suprir as necessidades infantis tanto no aspecto biológico como no psicológico, favorecendo o vínculo entre mãe e filho (VELOSO; ALMEIDA, 2009).

O aleitamento materno é recomendado exclusivamente para os recém-nascidos até os seis meses de vida e de forma complementar até os dois anos de idade, porém, quando a amamentação não é possível, é fundamental que seja oferecido LH processado de qualidade. Para isso, conta-se com os bancos de leite humano (BLHs), distribuídos em todos os estados do Brasil, sendo esse, o detentor da maior e melhor rede de BLH do mundo (MORAES, 2013) com modelo de gerenciamento de riscos que assegura um produto de qualidade higiênico sanitário e nutricional (SILVA, 2008). O BLH é responsável pela execução do processamento, controle de qualidade e distribuição do LH (BRASIL, 2006).

Fatores como a temperatura de transporte e armazenamento, processamento térmico, embalagem de armazenamento, entre outros, influenciam a qualidade do LH coletado (HAMOSH et al., 1996; LAWRENCE, 1999; CHANG; CHEN; LIN, 2012). A falta de controle dos fatores citados pode propiciar, por exemplo, a proliferação de microorganismos contaminantes, como os mesófilos aeróbios, que estão incluídos na maioria dos contaminantes presentes no leite, e sua presença em quantidades acima de  $10^2$  UFC/mL (BRASIL, 2001) pode ser indicativa de falhas nas boas práticas de fabricação (CUNHA, 2006; NOVAK et al., 2008). Além disto, as falhas no controle de qualidade do LH podem afetar as características nutricionais do mesmo limitando o aporte de nutrientes aos recém-nascidos (CARVALHO; TAVARES, 2010).

A embalagem de armazenamento se apresenta como fator fundamental na preservação da qualidade nutricional e microbiológica do LH. Atualmente, o recipiente de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL, se mostrou adequado às necessidades de controle de qualidade dos BLHs (BRASIL, 2008). Além disto, o vidro é constituído de material inerte e inócuo ao LH, e de fácil limpeza e desinfecção e apresenta bom vedamento. Infelizmente a diminuição da oferta de embalagens de vidro no mercado e conseqüentemente, o aumento da oferta das embalagens plásticas (SECRETARIA DE SAÚDE, 2011) está limitando a doação e utilização de embalagens de vidro em BLHs. A tecnologia vem oferecendo novas opções de materiais para embalagem e isso vem se

refletindo na migração de produtos que antes eram acondicionados em vidro para as embalagens plásticas. O frasco de vidro é uma embalagem com alto custo agregado enquanto a embalagem plástica representa uma boa opção a um custo mais baixo (OLIVEIRA, 2012).

Pelo exposto, torna-se evidente a importância em adquirir uma nova opção de armazenamento para o LH que não comprometa sua composição físico-química e microbiológica. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Saco Plástico próprio para o armazenamento do Leite Humano (SPLH) e do frasco de vidro sobre as características físico-químicas e microbiológicas do LH.

## 2. JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, houve uma revolução no setor de embalagens no Brasil, tornando os frascos de vidro cada vez mais raros nos comércios, sendo esses, substituídos pelas embalagens plásticas, em diversos tipos de produtos. Atualmente, praticamente só o café solúvel é envasado em vidro com tampa plástica, que é a forma homologada para o reaproveitamento nos BLH para o acondicionamento de LH (PORTAL G1, 2014) e conseqüentemente tem havido uma limitação na doação de frascos de vidro pela população aos BLHs.

Pelo explicitado, torna-se relevante, o estudo de uma alternativa viável para a coleta e armazenamento do LHO (Leite Humano Ordenado Cru) em BLHs, que não traga riscos de contaminação microbiológica e preserve as características físico-químicas do mesmo. O presente estudo se justifica pela possível contribuição no aumento da captação de LH, à medida que o acondicionamento desse leite doado possa ser realizado em Saco Plástico próprio para o acondicionamento de LH (SPLH), como alternativa, aos frascos de vidro. Além disso, o estudo apresenta uma proposta de inovação tecnológica para o armazenamento e controle de qualidade do LH.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a influência do Saco plástico próprio para o acondicionamento de LH (SPLH) sobre as características microbiológicas e físico-químicas do LH, comparando-o com o frasco de vidro.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o efeito do SPLH e frasco de vidro sobre a ocorrência percentual de mesófilos aeróbios em Leite Humano Ordenhado Pasteurizado (LHOP) nos períodos zero (T0), sete (T1) e 15 (T2) dias de armazenamento;
- Avaliar o efeito das embalagens sobre o índice de acidez, crematócrito, gordura e valor energético, do Leite Humano Ordenhado Cru (LHOC) antes e após o congelamento de 15 dias;
- Avaliar o efeito das embalagens sobre o índice de acidez, crematócrito, gordura e valor energético, em LHOP após o congelamento de 15 dias;
- Avaliar o efeito das embalagens sobre o teor de proteína e lactose em LHOC e LHOP após o congelamento de 15 dias;

## 4. REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 LEITE HUMANO E ALEITAMENTO MATERNO

O Leite Humano (LH) é o alimento mais importante e necessário para o recém-nascido, oferecendo inúmeras vantagens fisiológicas, através de quantidades adequadas de nutrientes, fatores imunogênicos, representando, portanto, a primeira imunização passiva da criança, como também, benefícios psicológicos e afetivos, onde se destaca o ato de amamentar, representado por um momento de entrega entre mãe e filho (LUNA; OLIVEIRA; SILVA, 2014).

Minerais como ferro, zinco, cálcio, fósforo são fornecidos em forma altamente biodisponível no LH (ANASTACIO, et al., 2004; OLIVEIRA, 2008). Macronutrientes, fatores de proteção como as imunoglobulinas, fator bífidus, melhora o processo digestivo, além de, promover o desenvolvimento do sistema nervoso e cognitivo. O LH representa uma importante fonte de vitamina E, e sua ingestão representa uma excelente defesa antioxidante (SILVA; ESCOBEDO; GIOIELLI, 2007; LIMA; DIMENSTEIN; RIBEIRO, 2014).

Biologicamente é um fluido complexo, contendo mais de 200 substâncias com uma combinação única de proteínas, carboidratos, lipídeos, predomínio de água, vitaminas, minerais, fatores de crescimento e imunológicos (fatores de proteção – maior parte das imunoglobulinas: IgA, IgG, IgM, IgD, IgE, a lactoferrina, o interferon, os fatores de complemento C3 e C4, o fator bífidus, fator anti-cólera, anti-dengue e lactoperoxidase (FEFERBAUM; FALCÃO, 2005; ISSLER et al., 2008; FROTA, et al., 2009; NEVES, et al., 2011; ACCIOLY; SAUNDERS; LACERDA, 2012; THOMAZ, et al., 2012; HALLEUX; RIGO, 2013). A IgA é o isotipo fundamental do LH que confere proteção contra todos os micróbios que a mãe tenha ou não em seu tubo digestivo, evitando que esses possam vir aderir às superfícies mucosas (MUSSI-PINHATA & REGO, 2005). Ademais, apresenta outros anticorpos importantes como as IgG, IgM, IgE e IgD (TOMA; REA, 2008; LIMA, et al., 2012).

O produto da secreção láctea da nutriz pode ser classificado em três tipos: colostro, transição e maduro. O colostro é o primeiro produto de secreção láctica da nutriz e permanece, em média, até o 4º ou 7º dia após o parto, permitindo uma boa adaptação fisiológica do recém-nascido à vida extrauterina. Apresenta-se como uma secreção líquida de cor amarelada, rico em proteínas e com baixos teores de carboidratos e gordura, alta

concentração de sódio, potássio e cloro, em relação ao leite maduro e o volume secretado varia em torno de 10 a 100 mL/dia. Aproximadamente, 40 horas pós-parto, há uma mudança na composição desse leite, com o aumento na concentração de lactose e no volume (REGO, 2009; BECKER, 2012). O colostro apresenta mais anticorpos e mais células brancas que o leite maduro, oferecendo a “primeira imunização” para proteger o bebê contra a maior parte das bactérias e vírus (ESTEVES, 2007; SILVA, 2009; FARIA, 2010).

O leite de transição é secretado entre o sétimo e o décimo quarto dia pós-parto (produção de aproximadamente 500 mL/dia) e sua composição muda gradualmente: a concentração de imunoglobulinas e proteínas totais diminui e a lactose, as gorduras e as calorias totais se elevam (FERNANDES, 2000; LAURINDO, et al., 2001; PAUROSÍ, 2009).

Há fatores que podem influenciar a composição do LH, como: estágio da lactação, idade e paridade materna, variação diária entre as lactações, medicamentos, hábito alimentar e estado nutricional materno (COSTA; SABARENSE, 2010). Em se tratando da dieta materna, o conteúdo calórico, as concentrações de gorduras totais, carboidratos, proteínas totais, minerais e vitaminas lipossolúveis não mostram variações significativas de acordo com a dieta materna recente, sendo seus valores relacionados aos depósitos maternos, ou seja, à dieta anterior e habitual (ISSLER et al., 2008).

Ademais, já é consenso na literatura que o tipo de dieta e a qualidade da gordura consumida pela nutriz influenciam fortemente no perfil dos ácidos graxos do leite secretado. Após dois a três dias de ingestão alimentar, as características da gordura do leite materno passam a refletir a gordura da dieta. Uma dieta rica em carboidratos salienta a produção endógena de ácido láurico, mirístico (principais ácidos graxos de cadeia média do leite materno) e especialmente do palmítico. Entretanto, em situações em que há deficiência calórica, os ácidos graxos do tecido adiposo são mobilizados e irão refletir no perfil lipídico do leite secretado (VITOLLO; MERIDA, 2001).

O LH é composto por aproximadamente, 3 a 5% de lipídeos, onde 98% são triacilgliceróis, 1% de fosfolipídeos e 0,5% de esteróis. Metade do valor calórico do LH advém da gordura sendo ela fonte de colesterol, conferindo papel protetor contra infecção e facilitando o controle da hipercolesterolemia na idade adulta, através de estímulo enzimático (BATTOCHIO; SANTOS; COELHO, 2003). Há predomínio dos ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa e níveis ótimos de ácido araquidônico (fundamental já que, o recém-nascido não consegue transformar ácido linoléico em ácido araquidônico).

A proteína presente no leite materno está em quantidade adequada, 1,0 a 1,5g por 100mL, (BATTOCHIO; SANTOS; COELHO, 2003) e de fácil digestão. Sua composição é

80% de lactoalbumina, apresentando baixa concentração de caseína resultando numa formação de coágulo gástrico mais leve, com flóculos que facilitam a digestão e com redução do tempo de esvaziamento gástrico (SILVA; ESCOBEDO; GIOIELLI, 2007).

O carboidrato predominante no LH é a lactose, um dissacarídeo formado por dois monossacarídeos (galactose e glicose). Ela é sintetizada por células da glândula mamária durante a lactação. O elevado teor deste carboidrato vinculado a outros componentes (fator bífido, monossacarídeos e oligossacarídeos) protege o intestino contra patógenos (BATTOCHIO; SANTOS; COELHO, 2003).

O aleitamento materno pode contribuir de maneira consistente para a redução da mortalidade infantil e promoção da saúde materna. O LH previne contra diarreias, infecções respiratórias, diabetes e alergias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009) e confere ao sistema imune da criança, o qual é imaturo, a proteção necessária contra infecções. Os anticorpos são recebidos pelos recém-nascidos, por meio de suas mães durante a gravidez (via placenta) e através do LH após o nascimento (SANTOS, et al., 2013).

Estudos apontam que oferecer o leite materno, especialmente na primeira hora de vida, acarreta em redução na mortalidade neonatal, já que, quanto maior o tempo de atraso na amamentação pós-parto, maiores as chances de mortalidade provocada por infecções. Além disso, tal conduta estimula o desenvolvimento físico, mental e emocional, como também, o neuromotor (BATTOCHIO; SANTOS; COELHO, 2003; SOUZA; BISPO, 2007; ODDY, 2013).

Segundo Fonseca, et al., (2013) o LH contribui para o desenvolvimento intelectual, diferentemente, de fórmulas infantis. É sabido que o ácido araquidônico (AA) e o ácido docosa-hexaenóico (DHA) são componentes lipídicos presentes no LH importantes para o desenvolvimento das membranas celulares, principalmente das células da retina e do sistema nervoso central. Esses ácidos graxos de cadeia longa estão no leite materno, mas não na maioria das fórmulas lácteas infantis (NISHIMURA et al., 2013).

O uso de fórmulas na alimentação de neonatos está nitidamente relacionado a uma frequência cada vez maior de doenças inflamatórias e alergias (SOUZA; SILVA, 2010). Estudo recente mostrou evidências do papel do peptídeo beta-defensina-2 (hBD-2), presente no LH, conferindo proteção antimicrobiana contra infecções entéricas em neonatos. Foi visto que vários patógenos (cepas de *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, cepas de *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*) se mostraram sensíveis a esse peptídeo (HAKANSSON, 2015).

Os neonatos alimentados com LH em comparação com as fórmulas apresentam menores taxas de mortalidade infantil, menor incidência de infecções, gastrointestinais e respiratórias, como também, do trato urinário e alergias (BORTOLOZO, 2002; CORTEZ, et al., 2007), além de menor risco no desenvolvimento de obesidade a longo prazo (SPYRIDES, et al., 2005). A explicação está nos fatores antimicrobianos do LH, que vão atuar dificultando a aderência de bactérias patogênicas nas superfícies da mucosa, auxiliando o neonato a criar uma microflora saudável no intestino, ajudando no aprimoramento do seu sistema imunológico (HAKANSSON, 2015).

Atualmente, há consenso de que a composição da flora GI entre lactentes que recebem LH e os que são alimentados através das fórmulas infantis são bem diferentes, exemplo disso se observa em relação às bifidobactérias, que apesar de estarem presentes na flora de ambos os grupos, sua prevalência é muito maior nos lactentes que recebem LH (VANDENPLAS et al., 2011).

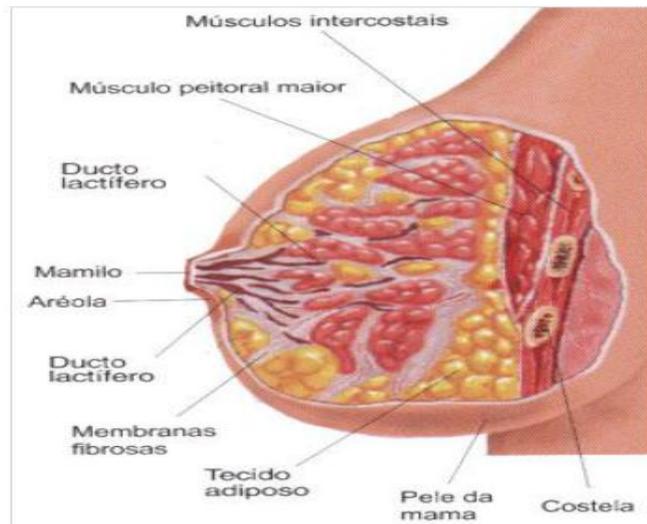
Segundo Machado (2002) a relação proteína do soro/caseína do LH é cerca de 80/20, a do leite de vaca 20/80 e de fórmulas varia entre 18/82 a 60/40. Embora haja semelhanças, nenhuma proteína do leite de vaca é semelhante a do LH. As proteínas do LH são, especialmente,  $\alpha$ -lactoalbumina (componente do sistema enzimático da síntese de lactose). Já a proteína dominante do leite de vaca é a  $\beta$ -lactoalbumina (capaz de contaminar o LH quando a mãe o consome, podendo provocar resposta antigênica). A proteína em excesso ( $>4,0\text{g/kg/dia}$ ) pode acarretar em alterações metabólicas, estrabismo, retardo mental, letargia, hipertermia e aumento da mortalidade (MARGOTTO, 2004).

Estudo recente concluiu que 13,9% das mortes de recém-nacidos seriam evitadas pela prática do aleitamento materno exclusivo (AME) no mínimo por três meses, como também, pelo aleitamento parcial até o primeiro ano de vida (NOGUEIRA et al., 2015). Esses dados são consistentes com o estudo epidemiológico ecológico de Boccolini e Boccolini (2011), que utilizaram dados secundários de internação por doenças diarréicas (desfecho) e de aleitamento materno (exposição) e observou que tanto o aleitamento materno exclusivo quanto aleitamento materno em crianças de 09 a 12 meses pode reduzir as taxas de diarreia na população estudada. Em outro estudo utilizando dados secundários de amamentação e mortalidade neonatal de 67 países, observou-se uma associação negativa entre o percentual de amamentação na primeira hora de vida com as taxas de mortalidade neonatal. Países com menores índices de aleitamento materno na primeira hora apresentavam maior taxa de mortalidade neonatal (BOCCOLINI et al., 2013).

## 4.2 LACTAÇÃO HUMANA

Lactação é uma propriedade única dos mamíferos e esse potencial de assegurar que a mesma continue independente da estação do ano, confere ao ser humano vantagens evolutivas sobre outras espécies (TAVARES, 2014). A lactação humana é um fenômeno complexo, onde estão envolvidos diversos hormônios e mecanismos de adaptação da fisiologia da mama e, produz um alimento, que desde a existência da humanidade, apresenta-se como um alimento completo e ideal para a nutrição infantil, especialmente nos primeiros meses de vida e apesar do surgimento de substitutos cada vez mais parecidos, ainda continua a ser específico da espécie humana (MAIA, 2007).

A glândula mamária (Figura 1) é uma glândula sudorípara, de origem ectodérmica, cuja função especializada é a produção de leite. Esse órgão par encontra-se localizado nas paredes antero-laterais do tórax (numa posição superior à de outros mamíferos), escorada sobre o músculo peitoral maior, propagando-se da segunda à sexta costela, apresentando o formato de uma proeminência cônica. A dimensão das mamas pode variar de mulher para mulher, sendo que, cada uma possui aproximadamente de 15 a 20 lobos protegido por tecido gorduroso, colaborando para o tamanho e forma das mesmas (MAIA, 2007; SILVA et al., 2012; BREGER; SANTOS; FIORINI, 2012). Na base da mama está localizada uma área discóide cutânea denominada aréola e envolve toda a região do mamilo. Tanto o mamilo como a aréola, são cobertos por uma pele pigmentada, que vai variar conforme etnia de cada indivíduo, ficando entre o rosa e o marrom. Este tecido passará por alterações durante o período gestacional e no de lactação, apresentando aumento de tamanho e de pigmentação. Após término da lactação os níveis de pigmentação diminuem, entretanto, sua cor original não é recuperada (RIGONI; ROMANI, 2008).

**Figura 1 - Anatomia da mama**

Fonte: (Silva, et al., 2012)

Para que a lactação aconteça são imperativos inúmeros fatores neurais e endócrinos que iniciam ainda durante a gestação. A Lactogênese é o processo de preparação da Glândula Mamária que inicia durante a gestação para a produção de leite e tem continuidade no puerpério (ALVES, 2010). Este processo tem seu início na hipófise (glândula situada na base do cérebro e próxima ao hipotálamo) a qual secreta a prolactina em sua parte anterior, também denominada, adenohipófise (FERRO, et al.; 2009).

A lactogênese I ocorre no último trimestre de gestação (a partir da vigésima semana). Neste período, a gestante produz leite e pré-colostro, entretanto, em pequena quantidade, já que, a presença da placenta bloqueia a prolactina (hormônio responsável pela produção e secreção do leite pelas células alveolares) graças às altas concentrações de estrogênios e progesterona durante a gravidez. Após o parto, a placenta é removida e o nível sanguíneo de progesterona diminui, ocorrendo ligeira elevação na concentração da prolactina no sangue, induzindo a síntese do leite (colostro). Após a apojadura (afluxo de leite aos seios) ocorre a descida do leite, marcando o início da lactogênese II (ejeção do leite) (ALVES, 2010).

Os alvéolos e o sistema de ductos mamários são responsáveis por reter o leite. A ejeção do leite envolve estimulação neural e endocrinológica; o reflexo de ejeção vai depender de receptores alocados no sistema canalicular da mama. Com isso, a estimulação das terminações nervosas do mamilo, presentes devido aos receptores táteis para a liberação reflexa da prolactina e a ocitocina, durante a sucção pelo lactente, produz impulsos sensitivos que são conduzidos até o hipotálamo (ALVES, 2010).

Com a lactação estabelecida, a fase III vem em seguida, sendo também nomeada galactopoiese. Essa fase é caracterizada pela manutenção da produção de leite, a qual ocorre especialmente a partir do terceiro dia após o nascimento. A sucção do bebê e o hormônio prolactina são fundamentais nesta fase. A sucção do bebê favorece o contato com as terminações sensitivas do mamilo e da aréola, provocam o reflexo neuro-endócrino essencial à manutenção da lactação (BORDALO, 2008). Durante a sucção pelo lactente serão produzidos impulsos sensitivos somáticos norteados até o hipotálamo, com isso, a ocitocina alcança a mama através da corrente sanguínea, o que acarreta na contração das células mioepiteliais dos alvéolos mamários. Toda essa dinâmica ocorre após cerca de um minuto de sucção do lactente. Entretanto, não é somente a sucção do bebê que provoca a saída do leite, é necessário que a ocitocina esteja atuando, como também, estímulos condicionados (Figuras 2 e 3), como visão, cheiro e choro da criança; e ainda, a fatores de ordem emocional, como motivação, autoconfiança e tranquilidade. Já situações de ansiedade, estresse, dor e desconforto, medo e insegurança são considerados fatores inibidores. Além de estimular a descida do leite, a ação da ocitocina leva à contração uterina, favorecendo a involução mais rápida do útero no pós-parto (EUCLYDES, 2005; BORDALO, 2008; LEVY; BÉRTOLO, 2008).

**Figura 2.** Estímulos relacionados a liberação de prolactina



Fonte: (Levy; Bértolo, 2008)

**Figura 3.** Estímulos relacionados a liberação de ocitocina



Fonte: (Levy; Bértolo, 2008)

A liberação, em pico, de prolactina garante a próxima mamada. Com o esvaziamento da mama há uma diminuição na pressão intra-alveolar contribuindo para o reflexo neuroendócrino e a atividade secretora. Cessando a prática da amamentação ou se a liberação de prolactina, por algum motivo, for impedida, ocorre a parada da secreção de leite. Todavia, se o aleitamento perdurar, a síntese de leite poderá acontecer por muitos anos, independentemente de alterações endócrinas, como por exemplo, as que ocorrem nos ciclos menstruais e em uma nova gestação (ALVES, 2010; GONÇALVES; SILVA; MARTINES, 2012).

#### 4.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO E NECESSIDADES NUTRICIONAIS

As três frações do leite apresentam uma relação de proporcionalidade entre si, decorrente do próprio movimento de síntese do leite humano. Dessa maneira, a variação na concentração de um dos constituintes do leite sempre acarreta alteração nos demais, podendo essa relação de proporcionalidade se dar de forma direta ou indireta, dependendo dos constituintes considerados. Os constituintes lipossolúveis, que integram a fração emulsão, por exemplo, tendem a se relacionar de forma inversamente proporcional com as proteínas do soro do leite ou proteínas solúveis, principais representantes dos imunobiológicos. Tal

tendência permite afirmar que quanto maior o conteúdo de gordura maior será o aporte energético e menor será a concentração de imunobiológicos (ALMEIDA, 1999; LAWRENCE, 1999).

Quadro 1: Composição nutricional do leite humano em suas três fases.

<b>Componente</b>	<b>Colostro</b>	<b>Leite de transição</b>	<b>Leite maduro</b>
Água (g/dl)	87	86	88
Energia (g/dl)	58	74	71
Sólidos totais (g/dl)	12,8	13,6	12,4
Minerais	0,33	0,24	0,21
Gorduras	1,8-2,9	2,9-3,6	3,0-3,8
Lactose	5,3	6,6	7,0
Proteínas totais	2,7	1,6	1,2

Fonte: Adaptado de ISSLER et al., 2008

Levando em consideração as alterações na composição do LH no decorrer da mamada, podemos dividi-la em três fases: fase inicial, fase intermediária e fase final. A fase inicial é a fração aquosa, rica em substâncias hidrossolúveis e corresponde a 87% do volume da mamada; sua composição inclui água, proteínas do soro, lactose e oligossacarídeos, sais minerais (sódio, potássio, cloreto, cálcio, magnésio, fosfato e citratos), vitaminas hidrossolúveis, enzimas e hormônios. A fase intermediária é a fração suspensão e corresponde a 3% do volume da mamada; sua composição inclui proteínas do leite com função plástica, micelas de alfa, beta e kappa caseína, fosfato e cálcio orgânico. Já a fase final, representa a fração emulsão ou lipídica, sendo rica em substâncias lipossolúveis, correspondendo a 6% do volume da mamada. Sua composição inclui vitaminas lipossolúveis, lipídios e ésteres, gorduras livres e colesterol (APRILE; FERFEBAUM, 2012).

#### 4.3.1 Energia e macronutrientes

O recém-nascido e o lactente possuem uma atividade anabólica intensa, diferente de qualquer outra fase da vida, portanto, necessitam de uma oferta correspondente de nutrientes a serem fornecidos nos primeiros seis meses de vida (CALIL; FALCÃO, 2003).

O requerimento energético do lactente compreende: metabolismo basal, termogênese, termorregulação, crescimento, perdas e atividade física. A adequação da oferta energética pode ser monitorada pelos dados do crescimento, e se baseia no consumo de 500 kcal/dia, de um volume estimado de 780 mL de leite, com conseqüente densidade energética de 65 Kcal/100 mL. A Tabela 1 apresenta as necessidades energéticas de lactentes de 0 a 12 meses, segundo a Dietary Reference Intakes (IOM, 2005).

**Tabela 1.** Necessidades energéticas de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005).

Idade (meses)	Fórmulas
0-3	$(89 \times \text{peso [kg]} - 100) + 175 \text{ kcal}$
4-6	$(89 \times \text{peso [kg]} - 100) + 56 \text{ kcal}$
7-12	$(89 \times \text{peso [kg]} - 100) + 22 \text{ kcal}$

No tocante às necessidades protéicas, o recém-nascido e o lactente apresentam elevada atividade anabólica, necessitando, portanto, de uma ingestão protéica correspondente. A necessidade protéica do recém-nascido a termo é estimada em aproximadamente de 2,0 a 2,5g/kg/dia, decrescendo gradualmente até 1,3g/kg/dia, por volta do quarto mês, enquanto o LH maduro fornece, em média, 1,2 g de proteína para cada 100 mL (APRILE; FERFEBAUM, 2012). Esse valor, por muito tempo, foi superestimado por ter sido analisado com base no conteúdo de nitrogênio total. Contudo, a fração que retrata o nitrogênio não proteico representa aproximadamente de 20 a 25%, ou seja, a sua concentração real varia de 0,8 a 0,9 g/100 mL (ALMEIDA, 2008).

As proteínas do LH podem ser divididas em três grupos: caseína, proteínas do soro e mucinas. Em relação à caseína, o leite humano possui dois tipos:  $\beta$  e  $\kappa$ - caseínas. A  $\beta$  caseína é uma proteína altamente fosforilada, e os fosfopeptídeos formados durante a digestão mantêm o cálcio solúvel favorecendo sua biodisponibilidade. Já a  $\kappa$ - caseína exerce atividade antimicrobiana, encontrando-se ligada a resíduos de ácido siálico e inibe a adesão do *H. pylori* à mucosa gástrica e do *S. pneumoniae* e *H. influenzae* às células epiteliais do trato respiratório (EUCLYDES, 2005).

No soro do LH, a  $\alpha$ -lactalbumina é a proteína mais abundante, sendo encontradas também em quantidade significativas de lactoferrina, imunoglobulinas, albumina, lisozima e em menor quantidade enzimas, hormônios e peptídeos de baixo peso molecular. A  $\alpha$ -

lactalbumina representa 20-25% da proteína total e possui grande importância como fonte de aminoácidos essenciais, além de fazer parte da enzima lactose sintetase, que participa da síntese da lactose na glândula mamária (EUCLYDES, 2005; SILVA et al., 2007).

A lactoferrina é a segunda proteína predominante no LH, com concentrações mais elevadas no colostro (5,0 a 6,7 mg/mL) em relação ao leite maduro (0,2 a 2,6 mg/mL). Ela desempenha diversas funções fisiológicas na proteção do trato gastrointestinal, sendo sua atividade antimicrobiana relacionada à capacidade de sequestrar ferro dos fluidos biológicos e/ou de desestruturar a membrana de microorganismos. Além disso, a lactoferrina também possui a ação anti-inflamatória. A lisozima também apresenta função bactericida e é encontrada em quantidades significativas em todas as fases da lactação (APRILE; FERFEBAUM, 2012; QUEIROZ; ASSIS; JUNIOR, 2013).

A Tabela 2 apresenta as necessidades protéicas de lactentes segundo a IOM, 2005.

**Tabela 2.** Necessidades proteicas de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005)

Idade (meses)	Proteínas		
	RDA		EAR
	g/kg/dia	g/dia	g/kg/dia
0-6	1,52	9,1	-
7-12	1,20	11,00	1,00

RDA- Recommended Dietary Allowance

EAR- Estimated Average Requirement

O recém-nascido começa a consumir esta dieta rica em gorduras em um período em que tanto a secreção de lipase pancreática quanto a eficiência da conjugação de sais biliares são imaturas. Essa imaturidade é parcialmente compensada por lipases linguais e gástricas, entretanto, a presença de lipase não específica no leite humano é particularmente significativa. Esta enzima, ativada por sais biliares no duodeno, contribui para a digestão das gorduras no recém-nascido, característica ausente da maioria dos outros leites. Além dessa lipase o leite humano também apresenta a lipase lipoproteica, que é essencial a síntese de gordura na glândula mamária (AKRÉ, 1997; EUCLYDES, 2005).

A qualidade dos lipídios da dieta materna tem influência direta no perfil de ácidos graxos do leite secretado. Uma dieta rica em carboidratos irá favorecer a síntese endógena dos ácidos graxos de cadeia curta e média e uma dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados vai determinar maiores níveis destes no leite secretado. Porém, crianças que recebem leite

contendo menor teor de lipídios tendem a mamar mais e por maiores períodos de tempo, causando um aumento no volume do leite. Há também uma correlação positiva entre o ganho de peso durante a gestação e o conteúdo de lipídios do leite. Assim, a relação entre a ingestão dietética materna de lipídios, a composição corporal adiposa materna e a concentração de lipídios no leite é de grande importância na nutrição infantil durante o aleitamento (TINOCO et al., 2007).

Como dito anteriormente, o carboidrato predominante no LH é a lactose, e essa, é metabolizada em glicose e galactose, um constituinte dos galactolipídeos, necessários para o desenvolvimento do sistema nervoso central. Facilita a absorção de cálcio e ferro e promove a colonização intestinal com *Lactobacillus bifidus*, que são bactérias fermentativas que promovem meio ácido no trato gastrintestinal, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas, fungos e parasitas (AKRÉ, 1997; TOMA; REA, 2008).

Além disso, a elevada concentração de lactose acarreta em um grande volume de água livre que não precisa ser obrigatoriamente excretada pelos rins, constituindo um mecanismo para a termorregulação nos lactentes amamentados (ISSLER, 2008). A Tabela 3 apresenta as necessidades de lipídios e carboidratos para lactentes, segundo a IOM, 2005.

**Tabela 3.** Necessidades de lipídios e carboidratos de lactentes de 0 a 12 meses (IOM, 2005).

Idade (meses)	Lipídios	Proteínas
	AI	RDA/AI
	g/dia	g/dia
0-6	31	60
7-12	30	95

RDA- Recommended Dietary Allowance

AI- Adequated Intake

## 5. BANCO DE LEITE HUMANO (BLH)

A amamentação apresentou diferentes significados e foi alvo de interesse de vários grupos sociais ao longo da história. Influenciada por fatores socioculturais, nenhuma função humana foi tão atacada e artificializada quanto à amamentação, e atualmente o aleitamento materno é apenas uma das opções de alimentação para o recém-nascido. A escolha de alternativa, diferente da amamentação, tem ocasionado diversos quadros patológicos como a desnutrição e a mortalidade infantil. Sendo inquestionáveis os benefícios advindos do LH, torna-se imprescindível dispor desse alimento, em quantidades que permitam o atendimento, nos momentos de urgência, aos lactentes que, por motivos clinicamente comprovados, não possam receber aleitamento ao seio. Por essa razão, os Bancos de Leite Humano (BLH) constituem uma solução (GALVÃO; VASCONCELOS; PAIVA, 2006).

A primeira iniciativa de manipulação de leite humano ordenado no Brasil ocorreu no Abrigo Maternal da cidade de Salvador, na Bahia, no então chamado Lactário de leite humano, organizado e construído por Martagão Gesteira. Porém, foram Mário Olinto e Adamastor Barbosa, professores de pediatria do Departamento Nacional da Criança, os responsáveis pela implantação da primeira estrutura operacional de um banco de leite humano no País, no Instituto Nacional de Puericultura, hoje Instituto Fernandes Figueira/Fiocruz (ALMEIDA, 1999).

Os Bancos de Leite Humano (BLHs) são reconhecidos como política pública de saúde voltada para o incentivo à amamentação. Entretanto, as percepções e construções sociais acerca dessas unidades lidaram com importantes divergências ao longo do tempo, e dentro de nosso momento histórico, atores e grupos sociais lhes atribuíram diferentes significados (ALMEIDA, 1999; MAIA, 2006).

Os BLHs foram inicialmente projetados para atender casos especiais, em que o leite humano era considerado imprescindível, muito mais por suas propriedades farmacológicas do que por suas qualidades nutricionais. Assim o leite humano destinava-se às situações de emergência que não podiam ser solucionadas com a alimentação artificial, que era colocada como primeira alternativa. Porém, do ponto de vista epidemiológico, neste período, 85% dos óbitos decorrentes de desnutrição nos lactentes desmamados, estavam relacionados ao uso de alimentação artificial. Dessa forma, era necessária a ampliação da oferta de leite humano para atender esta demanda, o que justificava a criação de BLHs (ALMEIDA, 1999).

Em 1943 foi implantado o primeiro BLH do país, no Instituto Nacional de Puericultura, atual Instituto Fernandes Figueira (IFF) da Fundação Oswaldo Cruz, sendo inicialmente criado para casos específicos, como os de prematuridade, distúrbios nutricionais e alergias a proteínas heterólogas. Embasado neste mesmo panorama, foram instituídas mais cinco unidades no país, entre a década de 40 e início dos anos 80 (ALMEIDA, 1999).

Até o início da década de 80, as condições operacionais dos BLHs no Brasil constituíam motivo de preocupação para os profissionais encarregados de formular e implementar a política estatal a favor da amamentação. Além de não atuarem como elementos de promoção da amamentação, os Bancos de Leite, em sua maioria, apresentavam acentuado grau de risco para a saúde dos receptores, em virtude de sua estrutura operacional imprópria (ALMEIDA, 1999).

Ao longo dos anos 80 estrutura-se um novo modelo, ocorrendo uma expansão expressiva no número de BLH instalados no Brasil e como parte desse crescimento, houve um importante papel do Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno (PNIAM). Com a formalização do Grupo Técnico de BLHs em 1984, teve início um processo de institucionalização de experiências até então isoladas. Três anos mais tarde seria elaborado o primeiro documento oficial de recomendações técnicas, que serviu de base para elaboração da primeira legislação federal, publicada na forma de portaria pelo Ministério da Saúde, demonstrando oficialmente a formalização de um processo de articulação das ações dos BLH com o Estado (ALMEIDA, 1999; MAIA, et al., 2006; MONTEIRO; NAKANO; GOMES, 2011).

Até 1985 destacaram-se as propriedades farmacológicas em relação às nutricionais, portanto, os BLH restringiam-se à coleta e distribuição de LH, sendo que nem sempre seguiam os critérios de prioridade clínica. Todavia, foi com o lançamento do primeiro documento oficial de recomendações técnicas que se deu início a uma construção positiva da Rede brasileira de BLH, fundamentada em metodologias alternativas, de custo reduzido, concentradas no processamento e no controle de qualidade do LH. Foi também com o desenvolvimento do PNIAM (1985) que os BLHs atingiram papel característico no panorama da saúde pública brasileira, criando recursos estratégicos para as ações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno (MAIA, 2004; GOMES, 2008; VIECZOREK, 2010; DUNDA, 2012).

Este novo modelo provocou um período de forte expansão e com isso, vir a se transformar na mais sólida rede de BLH do mundo. Atualmente, o Brasil possui a maior rede de bancos de leite do mundo, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (PORTAL

DA SAÚDE, 2013), com 215 BLH e 145 postos de coleta localizados em todas as regiões do país (FIOCRUZ, 2015). A OMS considera essa rede a maior e mais complexa do mundo (BRASIL, 2013). Sua consolidação resulta de um processo histórico evidenciado pela busca da qualidade atrelada à experiência e conhecimentos acumulados em seu âmbito de atuação. Os Postos de Coleta de LH (PCLH) têm como objetivo ações de promoção e apoio ao aleitamento materno, sensibilização quanto à doação de LH, coleta e armazenamento do LH (processo privativo dos BLHs) e a obrigatoriedade de possuir licença sanitária atualizada (ALCINE; MALAQUIAS; GOMES, 2012).

A partir de 1985 o IFF foi responsável pela reestruturação operacional dos BLH, com o principal objetivo de melhorar a qualidade sanitária do LHO ofertado pelo BLH. Como resultado dessa ação foram incluídos novos procedimentos como a pasteurização, tornando-se um tratamento térmico obrigatório (ALMEIDA, 1999). O próximo passo consistia em transformar o BLH em uma unidade promotora da amamentação, desfazendo o modelo antigo de BLH e criando uma nova visão. Atualmente, o BLH é definido como um centro especializado, obrigatoriamente vinculado a um hospital materno e/ou infantil, responsável pela proteção, promoção e incentivo ao aleitamento materno, além da execução de atividades de coleta, processamento e controle de qualidade do LH, para posterior distribuição, sob prescrição de médicos ou de nutricionista. “É uma instituição sem fins lucrativos, sendo vedada a comercialização dos produtos por ela distribuídos” (ALMEIDA, 1999). Importante resaltar que as doadoras são nutrizas voluntárias, que aderiram à iniciativa por uma questão de consciência social. Por toda essa razão, o BLH do IFF tornou-se pioneiro no Brasil, criando um modelo de serviço em favor do aleitamento materno (BRASIL, 2008).

Foi realizado em novembro de 1992, no Rio de Janeiro, o I Encontro Nacional de Bancos de Leite, com o patrocínio do Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição do Ministério da Saúde, possibilitando a reunião de 150 profissionais ligados a bancos de leite de todo o País. Além da troca de experiências, este evento funcionou como uma espécie de pedra fundamental para a construção do projeto da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano. O II Encontro Nacional de Bancos de Leite foi realizado em 1995, também no Rio de Janeiro e teve a participação de cerca de trezentos participantes (ALMEIDA, 1999).

Em julho de 1998, realizou-se o I Congresso Brasileiro de BLH, congregando o III Encontro Nacional de BLH e o I Fórum Nacional de Vigilância Sanitária em Bancos de Leite. O evento contou com a participação de mais de setecentos profissionais, representando cerca de, 95% dos BLH de todo o País (MAIA, 2006).

Ainda em 1998, foi criado pelo Ministério da Saúde, através do Centro de Referência Nacional da Fundação Oswaldo Cruz, a Rede Nacional de Bancos de Leite Humano, atual Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano. O movimento da Rede BLH-BR atravessou as fronteiras do território nacional e culminou, em 2001, com o recebimento do Prêmio Sasakawa (concedido pela OMS, durante a 54ª Assembléia Mundial de Saúde) em decorrência do impacto na redução da mortalidade infantil (ALMEIDA, 1999).

## 5.1 CONTROLE DE QUALIDADE EM BANCOS DE LEITE HUMANO

A atuação dos BLHs constitui uma medida eficaz para as políticas públicas de amamentação e têm o objetivo de garantir a segurança sanitária do leite humano ordenhado (RDC nº171, 2006).

A Rede BLH-BR contribui com o conhecimento científico para o desenvolvimento de padrões de qualidade e implementação de ferramentas que subsidiem a manutenção da qualidade em BLHs. A adoção da metodologia do sistema HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Points*) ou do português, Análise de Perigos e Pontos Críticos de controle (APPCC) como modelo para gerenciamento preventivo de riscos em BLHs, caracteriza-se por ser um sistema qualitativo que torna viável a segurança alimentar por meio da análise e controle de perigos (físicos, químicos e/ou biológicos) em cada fase da produção (SILVA, 2009). A elaboração dos Manuais de Boas Práticas de Fabricação em BLHs, e a descrição dos Procedimentos Operacionais Padrão (POP) são exigências fundamentais para a execução dos procedimentos dentro de um BLH e asseguram um produto com qualidade higiênico sanitário e nutricional.

Neste contexto, os BLHs brasileiros operam como centros de promoção e estímulo ao aleitamento materno e, oferecem leite em perfeita conformidade de consumo proporcionando mais de 100 mil atendimentos a recém-nascidos prematuros ou internados em hospitais. Para que esse público possa ser tão bem atendido, os bancos devem obedecer a um rigoroso controle de qualidade e padrões de funcionamento (SILVEIRA et al., 2014).

A qualidade do LHO pode ser definida como uma grandeza que resulta da avaliação conjunta de uma série de parâmetros, incluindo as características nutricionais, imunológicas, químicas e microbiológicas. Dessa forma, o controle de qualidade deve ser parte de um sistema integrado, que engloba todas as etapas do processo, sem limitar-se somente às análises laboratoriais (RONA et al., 2008).

O controle de qualidade do leite humano ordenhado é na prática realizado por dois sistemas paralelos: o controle de qualidade dinâmico e o estático. O primeiro sistema é baseado no controle de todas as etapas e processos, incluindo a determinação da cor, a verificação de sujidades e temperatura de estocagem, a pesquisa do *Off-flavor*, a verificação da acidez Dornic e o crematócrito. Já o sistema estático é baseado em análises microbiológicas do produto final, sendo aplicado aos produtos pasteurizados (APRILE; FERFEBAUM, 2012).

#### 5.1.1 Ordenha, coleta e armazenamento

A ordenha do LH “é a ação de manipular a mama lactante pressionando cuidadosamente para a retirada do leite” (Figura 4). Essa manipulação pode ser realizada por um profissional de saúde, por alguma pessoa que a lactante prefira ou ainda por ela mesma. A técnica deve ser efetuada com as mãos, já que é o modo mais efetivo, econômico e menos doloroso e de abrandar uma possível contaminação. Um modo que não apresenta muita segurança é o uso da bomba tira-leite, pois essa pode causar traumas mamilares e gerar desconfortos, além de serem de difícil higienização e esterilização, podendo ocasionar proliferação bacteriana e conseqüentemente, contaminação do leite humano ordenhado cru.

**Figura 4-** Ordenha de leite humano



Fonte: Acervo pessoal

A técnica de ordenha deve ser realizada com cautela para evitar traumas na aréola ou em outras áreas do seio. Além disso, essa técnica pode ser usada como indicador de controle de qualidade do leite, pois se não for realizada de maneira correta, pode acarretar ao leite presença de sujidades, odores estranhos, entre outras características e, com isso, inviabiliza o seu uso. A ordenha pode ser efetuada no BLH, nos postos de coleta de leite humano como também, na residência da lactante (BRASIL, 2008).

*A priori*, é fundamental instigar o relaxamento e a tranquilidade da lactente para que essa mulher desenvolva sua autoconfiança e através disso, haja o estímulo ao reflexo da ocitocina. Devem ser usados para a coleta do leite, utensílios esterilizados, vestimentas apropriadas e exclusivas para tal fim, prender os cabelos, usar touca protetora e utilizar máscara a fim de proteger a boca e narinas. Devem-se lavar as mãos e antebraços com água corrente e sabonete até os cotovelos e as unhas devem estar aparadas e limpas. As mamas devem ser lavadas somente com água, pois o sabonete acarreta em ressecamento e fissuras (RDC nº171, 2006; PASSOS; BOSCO, 2013).

A conduta para a ordenha realizada pelo profissional de saúde consiste em: (ANVISA, 2008).

- Evitar conversas durante a ordenha;
- Fazer uso de luvas;
- Deixar a doadora em posição confortável com os ombros relaxados;
- Apoiar o seio com uma das mãos e com a outra posicionar os dedos indicador e médio na região areolar; posteriormente, iniciar massagens circulares até chegar à base do seio, próximo às costelas;
- Estimular o reflexo da ocitocina;
- Manter a lactante inclinada levemente para frente, para iniciar a retirada do leite.
- Colocar o dedo polegar no limite superior da aréola e o indicador no limite inferior, pressionando o peito em direção ao tórax;
- Aproximar a ponta dos dedos polegar e indicador e pressionar de forma intermitente os reservatórios de leite;
- Descartar os primeiros jatos de leite (0,5 a 1 mL);
- Mudar de cinco em cinco minutos, mais ou menos, a posição dos dedos (de superior e inferior para lateral direita e esquerda, e para a posição oblíqua), buscando retirar o leite de todo o peito;
- Elucidar a nutriz que nos primeiros minutos o leite não sai, ou sai em pequena quantidade, e que isso ocorre até a liberação do reflexo da ocitocina (descida do leite). O tempo de

ordenha vai variar de mulher para mulher, podendo demorar de 15 minutos a mais de uma hora, especialmente nos casos de ingurgitamento mamário severo;

- Durante a ordenha, deve-se evitar puxar ou comprimir o mamilo e fazer movimentos de deslizar ou de esfregar a mama, pois podem lesar a pele e o tecido mamário.

O LH após ser ordenhado, precisa ser congelado. Manter o produto nessa condição permite impedir alterações químicas, físico-químicas, microbiológicas e imunológicas (LIRA; MATTAR, 2008). O congelamento é uma das técnicas mais utilizadas para uma boa conservação de alimentos e tem o objetivo de expandir a duração e preservação dos nutrientes. Além disso, protela reações enzimáticas e químicas indesejáveis, como a oxidação de lipídeos, como também, inibindo o crescimento de microorganismos presentes no alimento. Armazenar o produto sob essa ótica não provoca alteração na qualidade da fração lipídica do leite cru ou do pasteurizado (LHOP), confirmando com isso, a recomendação dessa prática (LIRA; CRUZ, 2008).

Com relação à embalagem de armazenamento, utiliza-se recipiente de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL. As embalagens que apresentarem não conformidades como manchas, sujidades, rachaduras, trincas, etc., são imediatamente, descartadas (SOUZA; SERAPIÃO, 2008).

O BLH deve possuir freezer exclusivo para o armazenamento do leite cru, como também, possuir termômetro de máxima e mínima em todos os equipamentos destinados ao armazenamento do LHOC. O LHOC e o LHOP devem ser estocados sob congelamento, que é uma das técnicas mais aplicadas na conservação de alimentos com a finalidade de prolongar a vida útil, retardando a ocorrência de reações enzimáticas e químicas indesejáveis, além de inibir a multiplicação e a atividade dos microorganismos que se encontram no alimento. O LHOC congelado pode ser estocado por um período máximo de 15 dias a partir da data da primeira coleta, e o LHOP congelado por no máximo seis meses, ambos a uma temperatura máxima de  $-3^{\circ}\text{C}$ . Após degelo, o LHOP pode ser mantido sob-refrigeração por um período máximo de 24 horas, à temperatura limítrofe de  $5^{\circ}\text{C}$  (ANVISA, 2008).

### 5.1.2 Degelo

O degelo do LHO é um processo monitorado que transfere calor ao leite humano ordenhado congelado, suficientemente para uma mudança de uma fase sólida para uma fase líquida, não admitindo que a temperatura final do produto ultrapasse os  $5^{\circ}\text{C}$ . O tempo que levará para o degelo do LHO irá variar segundo o volume, o tipo de embalagem e o

equipamento que será usado. Este processo poderá ser feito através do banho-maria ou por meio de microondas, sempre respeitando a temperatura limite de 5°C (CRUZ, 2008).

Técnica – O equipamento utilizado para a realização do banho-maria deve estar a uma temperatura de 40°C, apresentar termômetro, uso de água filtrada e deverá ser preenchida uma planilha de controle deste degelo.

- O profissional que conduzirá a técnica deverá estar paramentado para que assim, haja prevenção de possíveis contaminações do produto.
- A embalagem, o equipamento e as superfícies devem estar limpos e desinfetados.
- No preparo do banho-maria deve-se: colocar água, regular a temperatura a 40°C, preparar o banho de gelo e controlar a temperatura da água (máxima de 5°C). Controlar no equipamento as embalagens de mesmo tamanho, formato e volume, verificar se o nível da água está acima do nível do leite, acompanhar o degelo agitando os frascos a cada cinco minutos até o final do processo e, em seguida, tirar as embalagens do banho-maria e colocar prontamente no banho de gelo (ANVISA, 2008).

### 5.1.3 Análises de seleção e classificação

Todo LH recebido pelo BLH é submetido aos procedimentos de seleção e classificação. As análises de seleção e classificação compreendem: condições da embalagem (presença de rachaduras, trincas, material inadequado), presença de sujidades, cor, *off-flavor*, período de lactação, análises físico químicas (acidez Dornic e crematócrito) e controle microbiológico (ANVISA, 2008).

A verificação de sujidades tem como objetivo determinar prováveis alterações que caracterizem o leite humano ordenhado como impróprio para consumo, ou seja, se contem algum corpo estranho no momento da verificação, como por exemplo, pêlos, cabelos, fragmentos de unha e/ou pele, pedaços de papel, etc. Caso haja alguma destes fragmentos, o conteúdo do frasco deverá ser descartado.

A cor pode variar segundo os seus constituintes e tem o predomínio de uma determinada fração, geralmente, a cor semelhante à água de coco ao amarelo-alaranjado condiz com a aparência do colostro. A cor do leite maduro pode sofrer mudança pela dieta da mãe e o uso de medicamentos, por exemplo, dietas ricas em vegetais pode provocar um aspecto esverdeado do leite devido à riboflavina. Além disso, o leite pode adquirir uma cor amarelada quando congelado. Torna-se impróprio para a doação o leite que apresentar

coloração entre o “vermelho-tijolo” e o “marrom-escuro”, já que podem indicar a presença de sangue (ALMEIDA; GUIMARÃES; NOVAK, 2005; MITSUE, 2010).

O *flavor* – característica organoléptica não conforme com o aroma primitivo do LHO, é um importante instrumento para revelar não conformidades no LHO, especialmente as que advêm do crescimento de microrganismos que pertencem à microbiota secundária do leite. Isso irá tornar o produto impróprio para o consumo, sobretudo por acarretar alterações físico-químicas na composição do leite. A técnica consiste em próximo a um campo de chama, remover a tampa do frasco, agitar o frasco contendo o LHO vigorosamente e inspirar e descrever as impressões de *flavor*.

A verificação da acidez Dornic consite em técnica segura, confiável, pouco onerosa e um dos principais métodos para garantir a qualidade do leite humano ordenhado cru em relação à presença de contaminantes e alterações físico-químicas. A determinação dessa técnica é o teste de seleção mais confiável para apontar se o leite humano foi ordenhado com cuidado higiênico, estocado e transportado de forma correta. Além disso, visa o controle de qualidade, avalia a manutenção das propriedades físico-químicas do LH cru e desempenha papel fundamental para a seleção antes da pasteurização (GRAZZIOTIN, 2014).

O aumento da acidez resulta em perdas na qualidade do leite como, por exemplo, precipitação da caseína, diminuição da biodisponibilidade do cálcio e do fósforo e redução do valor imunológico. Essa elevação da acidez é resultado da proliferação de microrganismos que promovem o desdobramento da lactose em ácido láctico (CARVALHO; TAVARES, 2010).

A titulação do LH prontamente após a ordenha acarretará um LH com acidez total considerada original (valores entre 1 e 4°D). Entretanto, se a acidez for maior a 8°D indicará um crescimento exacerbado da microbiota, havendo então, produção de ácido láctico e conseqüentemente um aumento da acidez, desqualificando a distribuição do produto (BRASIL, 2008).

A classificação do LH também abrange as análises do período lactacional e do crematócrito (ALMEIDA, 2008). A Tabela 4 apresenta a classificação do LH, segundo o período lactacional.

**Tabela 4.** Classificação do leite humano segundo o período de lactação.

<b>Classificação</b>	<b>Período</b>
Colostro	Menos de sete dias após o parto
Leite de transição	Sete a 14 dias após o parto
Leite maduro	Mais de 14 dias após o parto
Leite de mãe de prematuro	Idade gestacional inferior a 37 semanas

Fonte: ALMEIDA, (2008).

O crematócrito é a técnica analítica utilizada como critério de classificação do LH e determina o conteúdo energético e gorduroso (MARTINS, 2010). Essa técnica é simples e rápida que separa as gorduras pela força centrífuga e pela diferença de densidade, formando uma fração mais evidente (esbranquiçada ou amarelada) denominada creme. O creme ocupa a extremidade posterior do capilar, já que se apresenta de forma mais densa. O soro, menos viscoso e mais ralo, fica abaixo do creme (porção sobrenadante). A fração emulsão (menor densidade) tende a subir ao se colocar o LH sob centrifugação e a separar-se dos demais componentes, arrastando junto micelas de caseína, o que origina um aglomerado denominado creme, porção que permite o cálculo do valor calórico final do LH pelo crematócrito (GRAZZIOTIN, 2014); (VIEIRA et al., 2004).

A classificação do LH, por meio desta técnica, é importante, pois dessa maneira, poderá ser oferecido um tipo de leite mais adequado (hipo, normo ou hipercalórico) ao bebê, dependendo da sua condição no momento (BORTOLOSO, 2002).

#### 5.1.4 Pasteurização e análise microbiológica

O leite humano ordenhado cru coletado e aprovado pelo controle de qualidade necessita ser pasteurizado a 62,5°C por 30 minutos. “A pasteurização não visa à esterilização do leite, mas sim a uma letalidade que garanta a inativação de 100% dos microrganismos patogênicos passíveis de estarem presentes, quer por contaminação primária ou secundária, além de 99,99% da microbiota saprófita ou normal” e envolve três operações sequenciais: pré-aquecimento, a letalidade térmica e o resfriamento (BRASIL, 2008); (BRAGA; PALHARES, 2007; ISSLER et al., 2008).

Os microorganismos que estão inseridos na microbiota do LHO são considerados contaminantes primários (os que passam da corrente sanguínea para o leite, por exemplo,

HIV) e secundários (os que residem em regiões mais externas dos canais mamilares). Esses microorganismos ainda podem ser nomeados como saprófitos ou patogênicos. Devido a isso, não podem estar presentes em quantidade capazes de representar agravos à saúde de recém-nascidos, especialmente, os internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI's), sendo necessário o uso da pasteurização nos BLHs (ALMEIDA, 2008).

O tempo necessário para elevar a temperatura do leite de 5°C para 62,5°C é definido como tempo de pré-aquecimento. A temperatura da água para o aumento e manutenção da temperatura do leite nos 62,5°C é superior a esse valor (2 a 3°C a mais). A temperatura da água deve ser definida e monitorada durante o processo. “A curva de penetração de calor deve ser refeita a cada 30 ciclos e estar registrada, com o bulbo do termômetro no ponto frio, localizado no terço inferior da coluna de leite e no centro do frasco” (ALMEIDA, 2008).

O controle de qualidade microbiológico do LHO praticado pela rede brasileira de banco de leite humano segue a lógica preconizada para alimentos, que institui a utilização de grupos de microorganismos indicadores (ALMEIDA; GUIMARÃES; NOVAK, 2005). A ocorrência de coliformes indica o descumprimento das boas práticas de manipulação e constitui um alerta para a possível presença de outros microorganismos entéricos de maior patogenicidade e mais difíceis de serem detectados (APRILE; FERFEBBAUM, 2012).

## 6. EMBALAGENS DE ARMAZENAMENTO

As embalagens estão presentes na vida do ser humano desde o dia em que se percebeu a necessidade de conduzir e guardar alimentos (BORGES, 2007). No primeiro século depois de Cristo o vidro foi a primeira matéria-prima empregada na produção de embalagem (SCHIMMELFENIG; SANTOS; BERNIERE, 2009) e é um dos materiais mais tradicionais e mais antigos usados como embalagem de alimento (AZEREDO, et al., 2012; BRASIL b, 2014).

Considerado um material inerte, o vidro não ocasiona transtornos relacionados à transferência de sabores indesejáveis ao alimento, entretanto, tem sido amplamente substituído pelo plástico, especialmente por fatores como, alto custo, fragilidade e a alta densidade, que acarreta o encarecimento do transporte (AZEREDO; FARIA; BRIZO, 2012).

A principal função de uma embalagem é a de proteger o produto contido em seu interior, ou seja, preservar da ação de fatores ambientais tais como, luz, umidade, oxigênio e microorganismos, como também, ser uma barreira ao ambiente externo, além de garantir a integridade do produto tanto no transporte como em seu armazenamento (FABRIS; FREIRE; REYES, 2006; QUADROS, 2010).

O mercado de embalagem é um dos mais importantes para a economia mundial mobilizando, aproximadamente, 500 bilhões de dólares e cerca de 1 a 2% do Produto Interno Bruto (PIB) dos países. No Brasil, representa 1,3% do PIB, sendo que, 60% desse mercado é absorvido pela indústria alimentícia. O aperfeiçoamento da tecnologia está cada vez mais ofertando opções inovadoras de materiais para embalagem. Desde a última década, o plástico está sendo inserido no mercado em substituição ao vidro em inúmeros setores e, com relação a embalagens, o plástico já é uma realidade em 30% dos materiais utilizados (CAPELINI, 2007; OLIVEIRA, 2011).

Segundo Fabris e colaboradores (2006) no ano de 2006 a exportação de embalagens plásticas cresceu mais de 23% em comparação ao ano anterior e nos países desenvolvidos as indústrias alimentícias fazem uso de 50% do total de embalagens plásticas produzidas. Neste contexto, é importante ressaltar que a indústria do plástico conquistou nos últimos 10 anos a primeira colocação no setor de embalagens, substituindo com isso, materiais tradicionais como o vidro, devido a menores custos de fabricação, diversidade de materiais, formatos, etc. O plástico quando sólido em seu formato final, tornam-se fluidos e novamente moldados quando submetidos à ação do calor e pressão a temperaturas relativamente baixas se comparadas às condições utilizadas para o vidro e metais”. Portanto, são materiais que podem

ser deformados sucessivamente sem haver ruptura quando submetidos a uma determinada tensão durante seu processamento.

A embalagem destinada ao acondicionamento do leite humano ordenhado deve ser de fácil limpeza e desinfecção, apresentar vedamento perfeito, e ser constituída de material inerte e inócuo ao leite em temperaturas na faixa de  $-25^{\circ}\text{C}$  (vinte e cinco graus Celsius negativos) a  $128^{\circ}\text{C}$  (cento e vinte e oito graus Celsius), não permitindo trocas indesejáveis com o produto acondicionado e mantendo seu valor biológico (BRASIL, 2008).

As embalagens e os materiais que entram em contato com o leite ordenhado precisam ser resistentes aos processos de esterilização. Quanto aos frascos destinados às doadoras, eles têm de ser embalados individualmente para posterior esterilização. A data de validade da esterilização deverá estar registrada no invólucro das embalagens estéreis. Utiliza-se como embalagem para acondicionamento do leite humano ordenhado recipiente de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL, previamente testado (BRASIL, 2008).

A embalagem de vidro apresenta como principal vantagem ser autoclavável, entretanto, apresenta como desvantagens a possibilidade de quebrar e o risco de foto degradação de nutrientes (WEISS, 2005). Paxson e Cress (1979) apontaram que o LH armazenado em embalagem de vidro apresentou maior perda de leucócitos por aderência na parede do vidro.

Considerado um material inerte, o vidro não ocasiona transtornos relacionados à migração de compostos e não transfere sabores indesejáveis ao alimento. Além disso, apresenta como vantagens a impermeabilidade a gases e vapores de água, quando está hermeticamente fechado e possibilita a passagem de luz (AZEREDO; FARIA; BRITO, 2012). No quadro 2, as principais características do vidro como embalagem.

## Quadro 2. Principais características do vidro como embalagem

Alta resistência, entretanto, não confere resistência ao impacto. Porém, suporta a altas temperaturas.

É reutilizável e reciclável por várias vezes.

É maleável de modo excepcional.

Sua fabricação pode ser determinada segundo o tipo de embalagem ou o uso específico.

Material limpo, puro e higiênico.

Totalmente herméticas.

Não pode ser perfurado.

Não se deforma e sendo rígido, garante um volume constante.

Bom condutor em altas temperaturas.

Ao ser usado, não oxida nem perde atração. É impermeável, resistente ao calor, não se desgastando facilmente e possibilita o consumidor visualizar o produto contido na embalagem.

Impermeável a gás e inerte com seu conteúdo. Muito resistente a todas as substâncias orgânicas e inorgânicas (com exceção de álcalis concentrado).

Fonte: (BUGS, 2004).

Com a menor disponibilidade de frascos de vidro no mercado, já que, as indústrias estão comercializando os seus produtos em embalagens plásticas, a captação de LH pode ser limitada pela ausência de frascos de vidro. Atrelado a isso, está disponível no comércio brasileiro, sacos plásticos para o armazenamento de leite humano (SPLH). Estas embalagens poderiam ser utilizadas para coleta de LH e armazenamento do LHOC. O LHOC armazenado pode ser descongelado e reenvasado para um frasco de vidro para a realização do processo de pasteurização.

Segundo Capelini, (2007) o conceito de plástico é: “material cujo elemento essencial é constituído por ligações moleculares orgânicas, que resultam de síntese ou através de transformação de produtos naturais”, ou seja, os materiais poliméricos. A matéria prima que constitui os polímeros são os monômeros e para esses, a matéria prima são especialmente, o petróleo e o gás natural. Os materiais plásticos abrangem quase todas as resinas que exercem atividade como embalagem, de maneira separada ou mancomunada com outro material. Portanto, os plásticos de maneira geral, são produzidos a partir do petróleo, sendo 4% desse consumido no Brasil, utilizado para a produção de plásticos. Os produtos retirados do petróleo

para manufaturar materiais plásticos são convertidos nas resinas plásticas. Essas, por sua vez, podem apresentar composição química alterada e originar diversos tipos de plásticos, sendo por essa razão, que alguns plásticos apresentam-se mais transparentes ou passam para o estado líquido com mais facilidade. Os termoplásticos (materiais plásticos utilizados na confecção de embalagens) amolecem quando submetidos ao calor, podendo tomar nova feição (PLANETA RECICLÁVEL, 2014). Os termoplásticos podem ser convertidos para produzir embalagens em forma de sacos, frascos, bolsas, etc. (SILVA, 2002).

Os cinco tipos de plásticos mais utilizados no Brasil, também conhecidos como resinas termoplásticas são: o poliestireno (PS), polipropileno (PP), Policloreto de vinila (PVC), politereftato de etileno (PET) e o polietileno (PE) sendo esse, de alta ou baixa densidade (CAPELINI, 2007). As embalagens plásticas apresentam diversas vantagens e desvantagens, que são apresentadas no quadro a seguir.

**Quadro 3.** Vantagens e Desvantagens do uso de plásticos.

Vantagem	Desvantagem
Baixa permeabilidade a vapores	-----
Características de amortecimento	Alto custo de transporte
Economia em peso	Instabilidade dimensional
Facilidade de fabricação	Baixa resistência
Isolação Térmica	Odor
Isolação Elétrica	Sujeitos à deterioração
Resistência à corrosão	Termicamente instáveis
Transparência	Dificuldade de reparação

Fonte: (BUGS, 2004).

O polietileno é o material polimérico mais utilizado em embalagens plásticas de alimento, já que, apresenta baixo custo de fabricação, sendo de fácil processamento e com boa termossoldabilidade. Além disso, macio e flexível, com excelentes propriedades isolantes, baixa permeabilidade à água, atóxico e inodoro. Apresenta a composição química mais básica em comparação com os demais polímeros, sendo um hidrocarboneto de cadeia linear. Esse material divide-se em três categorias principais: Polietileno de Alta Densidade (PEAD), Polietileno de Baixa Densidade (PEBD) e Polietileno Linear de Baixa Densidade (PELBD)

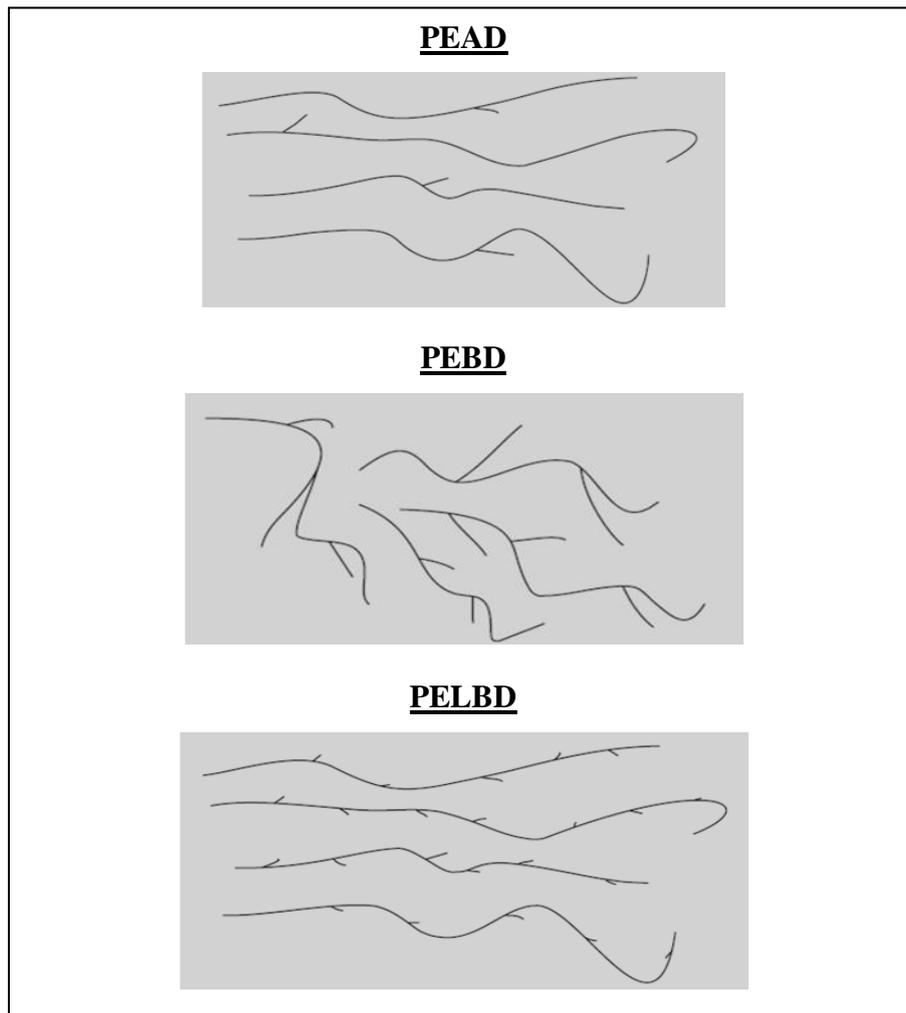
(COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003; GORNI, 2003; AZEREDO; FARIA; BRITO, 2012).

O polietileno é um polímero parcialmente cristalino, flexível, cujas propriedades são acentuadamente influenciadas pela quantidade relativa das fases amorfa e cristalina. As menores unidades cristalinas, lamelas, são planares e consistem de cadeias perpendiculares ao plano da cadeia principal e dobradas em zig-zag, para cada 5 a 15nm, embora haja defeitos que são pouco frequentes (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003).

Normalmente, os polímeros etilênicos não são tóxicos, podendo ser utilizados para armazenar alimentos e produtos farmacêuticos. Atualmente, os polietilenos são apropriadamente classificados em polietilenos ramificados e lineares (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003).

O Polietileno de alta densidade (PEAD) é um polímero linear, com escassas ramificações, suas cadeias permanecem enroladas em estrutura opaca e cristalina. Comparando com o PEBD, o PEAD apresenta maior ponto de fusão, maior cristalinidade, maior resistência à tração, maior dureza, melhor resistência química, boa hermeticidade à água, resistente ao frio e transparente (exemplos de aplicação: garrafas sopradas para embalagem de leite e iogurte). Já o PEBD abrange inúmeras ramificações relativamente longas, apresentando bastante flexibilidade, alta transparência, boa termossoldabilidade, resistência ao impacto, boa estabilidade térmica e resistente à produtos químicos (exemplos: elaboração de filmes e camada adesiva em embalagens compostas). Ademais, o PELBD contém muitas cadeias laterais de baixo comprimento, conciliando a transparência e a termossoldabilidade do PEBD à força e à rigidez do PEAD (BUGS, 2004; AZEREDO; FARIA; BRITO, 2012). Na figura 5 podem-se observar os arranjos moleculares das principais categorias de polietileno.

**Figura 5** - Arranjos moleculares dos três principais tipos de polietileno



Fonte: (AZEREDO; FARIA; BRITO, et al. 2012)

Polietileno de Alta Densidade – PEAD.

Polietileno de Baixa Densidade – PEBD.

Polietileno Linear de Baixa Densidade – PELBD.

Os SPLH, comercializadas no Brasil, são livres de plastificantes e bisfenol A (BPA) e compostas por polietileno de baixa densidade (PEBD) e polietileno linear de baixa densidade (PELBD). Essas embalagens são transparentes, inertes e com excelente desempenho em acondicionamentos. Destacam-se as seguintes vantagens: baixo custo, pouca energia para sua produção e ainda com redução de resíduo sólido, boa processabilidade e boas propriedades óticas. Pela ótica industrial, confere resistência mecânica para inúmeras aplicações, uma excelente resistência à corrosão, ótimas características para isolamento e ausência de cheiro e sabor. As embalagens de PEBD que se destinam ao armazenamento de LH necessitam ser isentas de microorganismos patogênicos e quaisquer outros que possam vir se desenvolver

no período de estocagem do alimento (PINTO, 2009). Essas embalagens são isentas de registro/cadastro na ANVISA, se enquadrando na lista para produtos de uso pessoal ou doméstico, assim como, os frascos de vidro utilizados nos bancos de leite.

Os plásticos são a classe que mais interagem com os alimentos. Sua propriedade de barreira vai depender do tipo de material ao qual foi utilizado em sua confecção. De maneira geral, maior cristalinidade acarreta em maior resistência mecânica e em melhores propriedades de barreiras. A cristalinidade é a medida do grau de organização das moléculas em um polímero. Um polímero apresenta dois tipos de regiões em sua estrutura: as cristalinas (alinhadas) e as amorfas (arranjo aleatório). Como exemplo há o polietileno linear que é altamente cristalino. Portanto, quanto maior o grau de cristalinidade do polímero, menor será a difusão de moléculas por sua estrutura (AZEREDO; FARIA; BRITO, 2012).

Como mencionado anteriormente, o plástico passou a ser utilizado na produção de embalagens devido ao seu baixo custo de produção, entretanto, apresentava rachaduras que inviabilizavam seu uso. As indústrias passaram a utilizar o bisfenol A (BPA) para a produção de plásticos mais resistentes. O BPA também foi usado como resina epóxi em revestimento interno de latas de alimentos e bebidas. A resina epóxi é o resultado da reação do bisfenol A: 2,2'bis (4-didroxifenil) propano com 1-cloro-2,3-epoxi-propano na presença de hidróxido de sódio resultando em éter diglicídico do Bisfenol A (BESERRA, et al. 2012).

O BPA foi utilizado na fabricação de vários produtos infantis como mamadeiras, frascos para alimentos infantis, brinquedos, etc., e com isso, tem sido alvo de estudos em prol do estabelecimento de um limite máximo admissível que não represente risco à saúde humana, já que, há possibilidade de migração desse composto para o produto acondicionado. Estudos demonstram que até baixas doses dessa substância se relacionam à infertilidade, alterações do sistema nervoso, câncer, obesidade, doenças cardíacas, etc. Além disso, por assemelhar-se, quimicamente, ao hormônio feminino (estrógeno) o BPA poderia agir como um desregulador endócrino (tal fato ainda permanece como teoria) (BESERRA, et al. 2012).

Devido às evidências negativas do uso de BPA, a ANVISA decretou a proibição tanto da fabricação como da comercialização de mamadeiras manufaturadas com o BPA desde janeiro de 2012 (BRASIL, 2011).

Em relação à influência da embalagem sobre os constituintes do LH, sabe-se que não há aderência significativa de células nas embalagens de polietileno (LAWRENCE, 1999) e que o conteúdo de macronutrientes do LH não é afetado significativamente pelas embalagens de plástico e vidro (CHANG; CHEN; LIN, 2012).

A Tabela 7 apresenta o efeito do tipo de embalagem sobre os constituintes do LH.

**Tabela 7.** Efeito do tipo de recipiente em constituintes do leite materno após 4h e 24h de armazenamento

		Vidro	PP	PE flexível	PE rígido
Colostro		NM	NM	NM	NM
Volume		NM	NM	NM	NM
Leite maduro	Nº células	A	A	A	A
Proteínas	Lactoferrina	R	R	NM	NM
	Lisozima	R	NM	R	A
IgA		NM	NM	NM	NM
Total IgA		NM	NM	NM	NM
Anticorpos para E. Coli		NM	NM	R	R
Vitaminas solúveis em água		NM	NM	NM	NM
Vitamina C		NM	R		

Fonte: (WEISS, 2005).

NM – Nenhuma Mudança

R – Redução

A – Aumento

PP – Polipropileno

PE - Polietileno

## 7. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi dividida em dois estudos, a saber: Estudo 1- Determinação da contagem de microorganismos mesófilos aeróbios em LHOP (n=28) e Estudo 2- Análise da acidez e do crematócrito em LHOC e LHOP (n=27). Em ambos os estudos, as amostras foram armazenadas em SPLH e frascos de vidro.

Foi realizado um teste prévio de esterilidade em dois lotes de SPLH (BG20450BN0310 e BG20450BN0413). Os frascos de vidro foram usados como controle neste ensaio. Foram analisadas cinco unidades de cada lote de SPLH e cinco unidades de frascos de vidro, mediante a adição de água peptonada a 0,1%. Os SPLH e os frascos de vidro foram colocados em estufa a 36°C por dois dias e posteriormente, por sete dias à 25°C. Após esse período, os SPLH e os frascos de vidro foram observados e considerados estéreis quando não apresentavam turvação no meio. Por fim, a água peptonada dos SPLH e dos frascos de vidro foi plaqueada em Plate Count Agar (PCA) e novamente acondicionadas em estufa à 36°C por dois dias.

Os SPLH, utilizadas neste estudo, são aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA), possuem 3,0 mm de espessura e capacidade para 150 mL, com dimensões aproximadas de: 11,1 cm x 4,5 cm x 15,2 cm (Figura 6). São livres de bisfenol A (BPA Free) e comercializados no Brasil, segundo a legislação para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos (BRASIL b, 2014). Segundo seu fabricante, a embalagem possui excelentes propriedades isolantes, baixa permeabilidade à água, são atóxicas e inodoras. A marca de embalagem estudada foi a lansinoh, fabricada na Tailândia em 2013.

Os frascos de vidro utilizados no presente estudo são estéreis, de boca larga, tampa plástica rosqueável, de fácil limpeza e desinfecção, composto de material inerte e inócuo ao leite e com volume variável de 50 a 500 mL. As embalagens para armazenamento de LH (vidro ou plástico) são isentas de registro na ANVISA, se enquadrando na lista para produtos de uso pessoal ou doméstico.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense da Universidade Federal Fluminense (Anexo 1), sob o número 35028114600005243.

**Figura 6** – Saco Plástico próprio para o acondicionamento do LH



Fonte: Página da lansinoh Brasil<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Disponível em: <<http://www.lansinohbrasil.com.br>> Acesso em: nov. 2014.

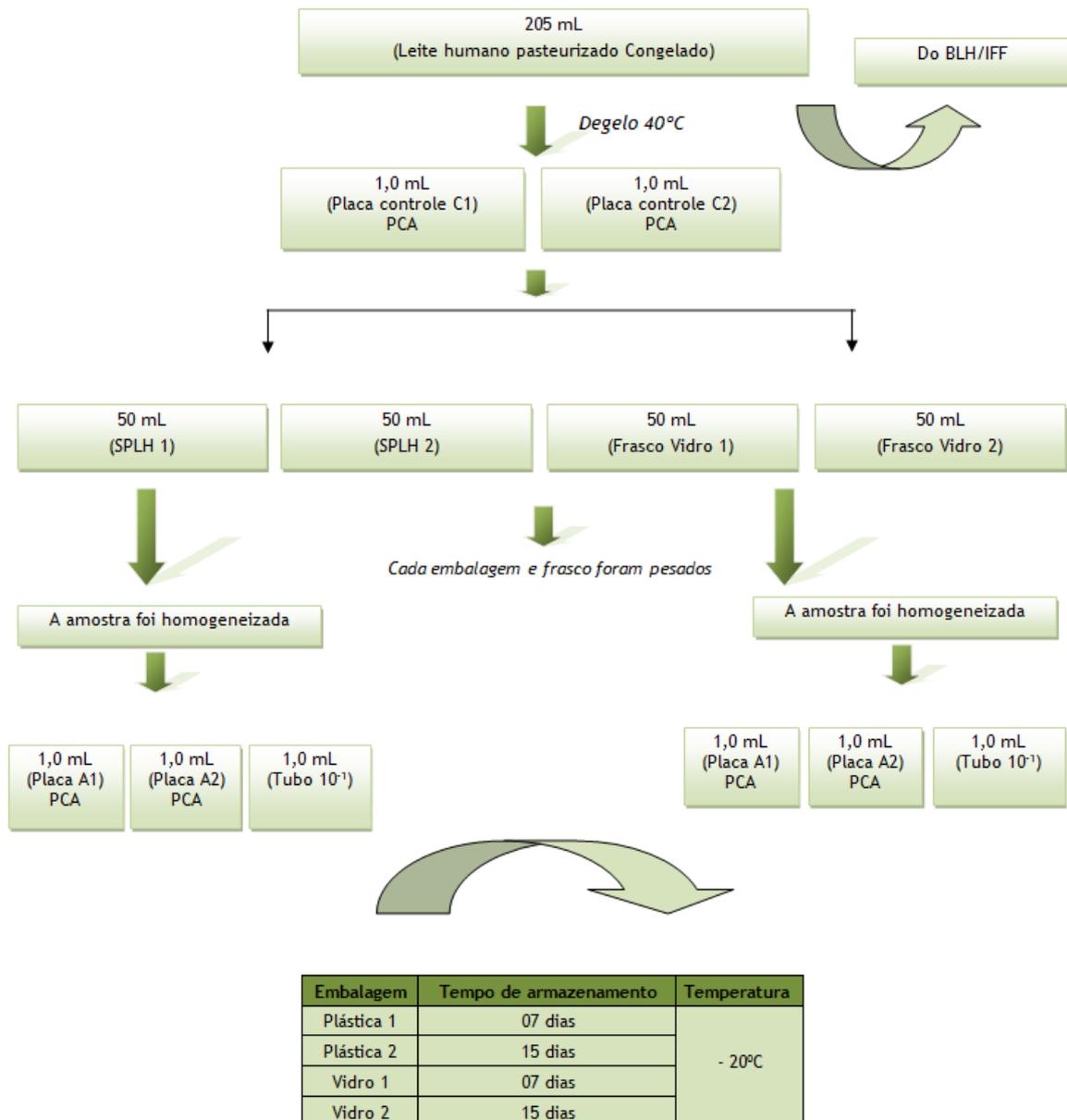
## 7.1 ESTUDO 1- CONTAGEM DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS AERÓBIOS

A análise de microorganismos mesófilos aeróbios foi realizada no Laboratório de Controle de Qualidade de LH do Instituto Fernandes Figueira. Vinte e oito amostras de LHOP congelado com aproximadamente 205 mL foram obtidas do estoque do BLH do IFF, após consentimento do mesmo. As amostras do estudo foram retiradas de freezer localizado no BLH e levadas, sob cadeia de frio, ao laboratório de controle de qualidade de LH, onde foram colocadas em banho-maria a 40°C até o seu degelo parcial (manutenção de uma pedra de gelo). Posteriormente, a amostra foi colocada em banho de gelo (5°C) e levada para cabine de segurança onde foi realizada a análise microbiológica do LH. As amostras de leite foram divididas da seguinte forma: LHOP controle degelado e analisado imediatamente (Tempo 0-T0); LHOP sem diluição e LHOP diluído ( $10^{-1}$ - $10^{-2}$ ) degelados e armazenados em frasco de vidro e SPLH durante sete dias (Tempo-T1 1) e 15 dias (Tempo 2-T2).

A análise foi conduzida em cabine de segurança após a sua completa limpeza com álcool 70%, posteriormente, a mesma ficou por 15 minutos em ventilação e luz ultravioleta. Após, foi inoculado, em duplicata, 1,0 mL da amostra em placas de Petri (placas controle). Em seguida, 50 mL desse leite foi distribuído em cada uma das quatro embalagens: dois frascos de vidro, sendo um frasco com a indicação de armazenamento para sete dias e o outro com 15 dias e em dois SPLH com as mesmas indicações. Utilizou-se aleatoriamente um

desses frascos de vidro e um desses SPLH para que fosse retirada a alíquota necessária para a inoculação. Após homogeneização da amostra foi retirado 1,0 mL para o tubo de ensaio ( $10^{-1}$ ) contendo solução salina (9,0 mL), 1,0 mL para cada placa A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>. Em seguida, foram realizadas diluições decimais de  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  em tubos com solução salina (9,0 mL). Alíquotas de 1,0 mL foram inoculadas em Plate Count Agar (PCA) em duplicata e incubadas a 35°C por 48 horas em estufa bacteriológica, tendo sido considerado para a contagem as placas que continham entre 30 e 300 colônias. As análises foram conduzidas conforme descrito no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (2002). Após 48 h, procedeu-se a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC/mL). De acordo com a Resolução RDC nº12 de 2001, uma contagem de microorganismos aeróbios mesófilos de até 100 UFC/mL é permitida (SERAFINI et al., 2003). Nas Figuras 7 e 8 são apresentados os desenhos experimentais do Estudo 1.

**Figura 7** - Desenho experimental Estudo 1



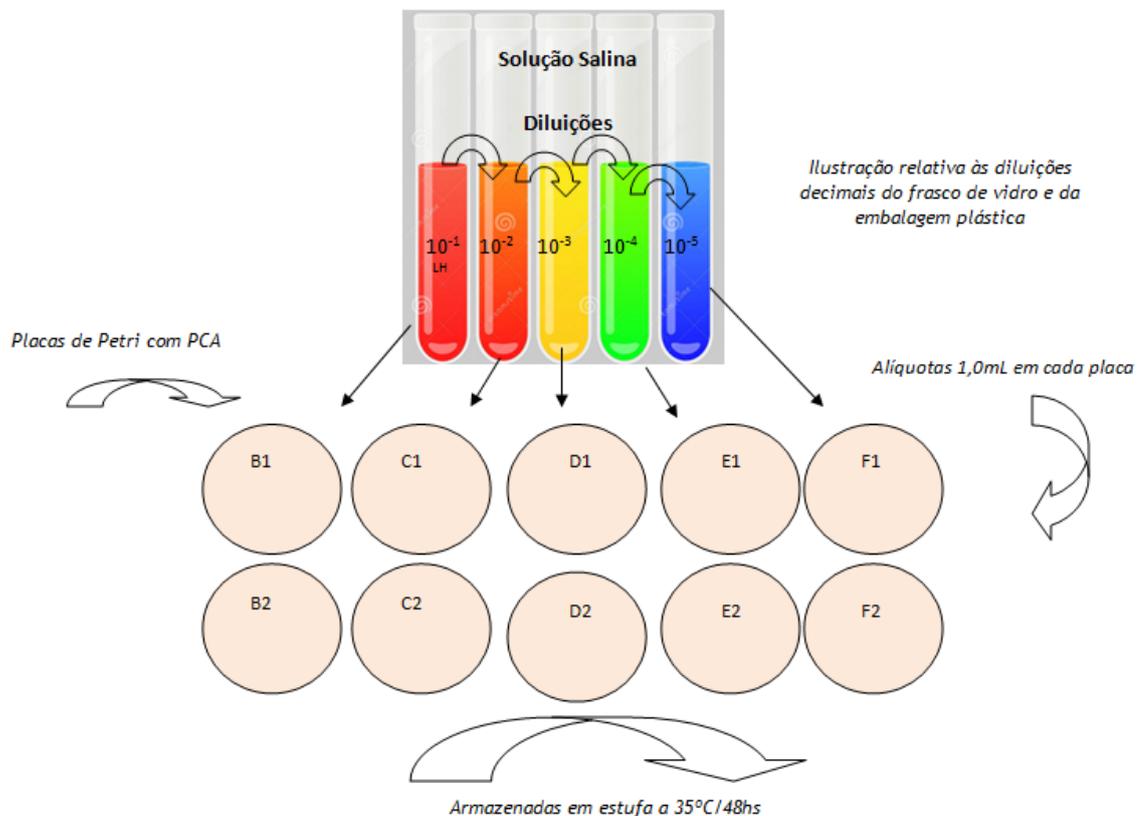
Fonte: “elaborado pela autora”

Legenda:

PCA – Plate Count Agar

SPLH – Saco Plástico próprio para o armazenamento de Leite Humano

**Figura 8** - Desenho experimental Estudo 1



Fonte: “elaborado pela autora”

## 7.2 ESTUDO 2 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE HUMANO

### 7.2.1 Sujeitos do estudo

O estudo dois foi conduzido no Hospital Maternidade Herculano Pinheiro (HMHP), pertencente à rede de saúde do município do Rio de Janeiro. Nutrizes doadoras do BLH foram informadas sobre o estudo, e após Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), convidadas a participar do mesmo. Participaram do estudo 27 nutrizes saudáveis, que após orientações quanto à higienização das mamas e paramentação (BRASIL, 2008), doaram cerca de 200 mL de leite por meio de ordenha manual do leite excedente. As amostras de leite coletado foram em sua maioria, de leite maduro e com relação ao momento da ordenha, de leite posterior.

As amostras de leite foram divididas nos seguintes Grupos: (1) LHOC antes do congelamento, (2) LHOC armazenado por 15 dias no vidro e plástico e (3) LHOP. O grupo 3

se refere ao LHOC armazenado por 15 dias no vidro e plástico, que foi degelado e pasteurizado para posterior análise. As amostras congeladas foram submetidas à etapa de degelo em Banho Maria a 40°C. Os índices de acidez e o crematócrito foram determinados nos três grupos. As análises do teor de lactose e de proteína foram realizadas nos grupos 2 e 3 (as mesmas não foram realizadas no grupo um por motivos de logística). Cabe ressaltar que os grupos 1, 2 e 3 foram formados por amostras obtidas de uma mesma nutriz.

### 7.2.2 Determinação da acidez Dornic

A acidez das amostras (n=27) foi determinada pelo método de acidez Dornic, expressa em graus Dornic (°D) (BRASIL, 2008). Para a efetivação da mesma, são utilizados os reagentes: solução-padrão de hidróxido de sódio 0,1 N fatorada e solução indicadora de fenolftaleína hidroalcoólica a 1%.

A amostra foi homogeneizada e em seguida transferiu-se 4,0 mL de leite para um tubo de ensaio de 10 x 10 mm, que permaneceu sob cadeia de frio até o início da análise. Após essa etapa, transferiu-se 1,0 mL do leite para três tubos de ensaio com capacidade de 5,0mL, adicionou-se uma gota da solução indicadora de fenolftaleína e iniciou-se à titulação da alíquota de LHO com NaOH 0,1 N, gota a gota. Durante toda a titulação, o tubo de ensaio contendo o leite foi permanentemente agitado manualmente, através de movimentos leves, para evitar a incorporação de ar. Quando ocorria a viragem do indicador, o procedimento era imediatamente interrompido, passando a assumir coloração róseo-clara. Cada 0,01 mL de hidróxido de sódio 0,1 N gasto correspondeu a 1°D.

### 7.2.3 Crematócrito

A determinação do teor de creme, gordura e o valor energético foram obtidos pelo método de crematócrito (LUCAS et al., 1978). O método consistiu na centrifugação do LH por 15 minutos, para obtenção da separação do creme e do soro do leite e posterior cálculo do teor de creme a partir da razão entre creme e soro.

O LH foi homogeneizado e em seguida foi transferido 1,0 mL para um tubo de ensaio de 5,0 mL. Os tubos foram colocados em banho-maria a 40°C durante 15 minutos e após esse período foi colhido três alíquotas de cada uma das amostras, com ajuda de tubos microcapilares, vedando uma das extremidades dos tubos com massa. Após essa etapa, colocaram-se os capilares na centrífuga de Micro-Hematócrito, 110 v, da marca Microspin,

por 15 minutos a 3500 RPM. Após a centrifugação, as colunas de creme e de soro foram observadas. A partir da medida das colunas de creme e total (creme mais soro), foram utilizados os cálculos abaixo para a obtenção do resultado (BRASIL, 2008).

- Teor de creme

$$\text{Coluna de creme (mm)} \times 100 \div \text{coluna total (mm)} = \% \text{ de creme}$$

- Teor de gordura

$$(\% \text{ de creme} - 0,59) \div 1,46 = \% \text{ de gordura}$$

- Conteúdo energético total

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

#### 7.2.4 Pasteurização

A pasteurização consistiu no aquecimento do LH a 62,5°C por 30 minutos. O processo envolveu três operações sequenciais: o pré-aquecimento, a letalidade térmica e o resfriamento (BRASIL, 2008). Para a pasteurização das amostras do grupo 3 (vidro ou plástico), as mesmas foram reenvasadas para frascos de vidro.

O banho-maria (com agitador automático) foi regulado à temperatura de operação (suficiente para atingir 62,5°C no ponto frio) e esperado que o mesmo estabilizasse. Os frascos com LH foram distribuídos no banho-maria, através de frascos do mesmo tamanho e os mesmos ficaram abaixo do nível da água do equipamento. Durante o processo as tampas dos frascos permaneceram semifechadas (folga de ¼ de volta). Após alcance da temperatura preconizada (62,5°C) (tempo de pré-aquecimento) iniciou-se a marcação do tempo de letalidade térmica (30 minutos). Passados 30 minutos, os frascos foram colocados no resfriamento até que o leite alcançasse uma temperatura igual ou inferior a 5°C. Esse processo foi realizado através de resfriador automático. A pasteurização foi analisada a cada cinco minutos, com a temperatura anotada em planilha, não tendo sido aceito oscilações superior a 0,1°C.

#### 7.2.5 Análise de Proteína

O teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando o kit comercial *Genese*. A determinação se baseia na utilização do corante *Comassie Brilliant Blue* que reage com as proteínas, particularmente, com as bases aromáticas e os resíduos de

aminoácidos. Sob condições ácidas, o corante fica predominantemente em sua forma catiônica protonada vermelha. Quando o corante se liga às proteínas, ele é convertido a uma forma estável não protonada azul. Essa forma, azul e não protonada é detectada a 595nm para quantificar a concentração de proteínas. A dosagem foi realizada utilizando-se 10µL de amostra de LH diluído em água deionizada (1:10), adicionado de 790µL de água deionizada e 200µL do reagente de Bradford. A curva padrão foi feita com Albumina Sérica Bovina (BSA) em uma concentração de 0-1 mg/mL, a leitura foi realizada em espectrofotômetro com absorvância de 595 nm e os resultados foram expressos em g/dL.

#### 7.2.6 Análise de Lactose

A lactose foi realizada em amostras de leite (n=27) pelo método de Lane Eynon (IAL, 2008), também conhecido como método de Fehling. A reação se baseia na redução de solução alcalina de  $\text{CuSO}_4$  em presença de tartarato de sódio e potássio. O sulfato de cobre em meio alcalino, é reduzido a óxido cúprico formando um precipitado vermelho tijolo.

Para a utilização desse método, primeiramente, realiza-se a precipitação de proteína, deixando a amostra (5,0 mL) reagir com a solução de ferrocianeto de potássio a 15% (0,4 mL) e com a solução de acetato de chumbo a 30% (0,4mL) em um balão volumétrico de 100 mL, que deve ter seu volume completado com água destilada. Após a filtração em papel de filtro, obtém-se o filtrado e transferiu-se para uma bureta de 25 mL.

Em um Erlenmeyer, transferiu-se 10 mL de solução de Fehling A (sulfato de cobre) e 10 mL de solução de Fehling B (tartarato duplo de sódio e potássio e hidróxido de sódio) e foram colocados 40 mL de água destilada. Depois se aqueceu até a ebulição, quando se iniciou a titulação até o aparecimento do precipitado de coloração vermelho tijolo. Os valores obtidos na titulação de cada amostra foram aplicados na fórmula:

$$\text{Lactose: } \frac{20 \times 0,068 \times 100}{V_t \times V_u}$$

Onde:

$V_t$  = volume titulado

$V_u$  = volume usado de amostra

Os resultados foram expressos em lactose (g/dL).

## **8. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A análise da influência do tipo de embalagem sobre as características do leite foram determinadas por análise de variância (ANOVA). O programa estatístico “Statistical Package for Social Science” (SPSS), versão 12.0 0, ano 2003 foi utilizado e valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## 9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 9.1 CONTAGEM DE MESÓFILOS AERÓBIOS

Em nosso estudo, os lotes BG20450BN0310 e BG20450BN0413 dos SPLH foram considerados estéreis, por não apresentarem turvação no meio e por não observarmos crescimento bacteriano nas placas. A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos para contagem total de mesófilos aeróbios do LH armazenado na embalagem de plástico e no frasco de vidro.

**Tabela 8** - Ocorrência percentual de mesófilos nas amostras de leite humano pasteurizado.

Ocorrência de mesófilos (%)					
Amostras (UFC/mL)		SPLH		Vidro	
		T1	T2	T1	T2
LHOP sem diluição	<10 <sup>1</sup>	14	7	14	11
	10 <sup>1</sup> -10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
	≥10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
LHOP diluído 10 <sup>-1</sup>	<10 <sup>1</sup>	11	0	7	7
	10 <sup>1</sup> -10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
	≥10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
LHOP diluído 10 <sup>-2</sup>	<10 <sup>1</sup>	7	0	7	0
	10 <sup>1</sup> -10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
	≥10 <sup>2</sup>	0	0	0	0

SPLH- Saco plástico próprio para armazenamento do leite humano  
T1 e T2- 07 e 15 dias de armazenamento

Em 92% das amostras de LHOP controle não houve crescimento bacteriano. As amostras de LHOP diluído e não diluído, nos tempos T1 e T2, em ambas as embalagens, também, não apresentaram crescimento bacteriano, com mais de 80% das amostras sem formação de colônias.

No LH sem diluição, armazenado na embalagem plástica, o número de colônias variou de 0-4 UFC/mL (T1) e 0-1 UFC/mL (T2). No frasco de vidro, o número de colônias variou de 0-1 UFC/mL (T1) e 0-2 UFC/mL (T2). Esses resultados indicam que, a embalagem plástica não exerceu influência negativa sobre o LH nela armazenado, sugerindo a segurança em se armazenar o leite humano nesse recipiente.

## 9.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LH

Na Tabela 9 são apresentadas as médias de acidez, teor de gordura, valor energético, lactose e proteínas no LH em diferentes embalagens. Em nosso estudo, a acidez do LHOc após o congelamento nas embalagens plástica e frasco de vidro foram aproximadamente 3°D. Todas as amostras em ambas as embalagens apresentaram acidez <8°D, indicando controle na ordenha e processamento do LH, porém mais que isso, as embalagens estudadas (vidro e plástico) não interferiram na qualidade do leite.

A acidez do LH também está relacionada à biodisponibilidade de cálcio. O LH é a única fonte de cálcio para a criança nos primeiros meses de vida e sua absorção irá depender de inúmeros fatores, entre eles a relação cálcio/fósforo, a qual se apresenta ideal nesse alimento. O pH do LH é ligeiramente alcalino ou neutro (~7,0) e representa a acidez atual do leite que assegura a estabilidade da caseína. O aumento da acidez pode desestabilizar as micelas de caseína e conseqüentemente afetar sua ligação com o cálcio, o tornando menos biodisponível (TAVARES, 2014). Podemos sugerir que o baixo teor de acidez das amostras estudadas em ambas as embalagens pode favorecer adequada biodisponibilidade de cálcio nas amostras. Estudos investigando esta afirmação são necessários.

**Tabela 9** - Teores de acidez, gordura, energia, lactose e proteína do LH nas embalagens de vidro e plástico.

	Controle LHOC antes congelamento	LHOC Vidro	LHOC SPLH	LHOP Vidro	LHOP SPLH
Acidez (°D)	2,9±0,9	3,1±1,4	3,1±1,2	3,0±0,8	3,2±1,1
Gordura (%)	3,4±1,1	3,2 ±1,5	3,3±1,2	3,4±1,4	3,5±1,6
Energia (kcal/100 mL)	65,0±1,7	64±1,5	65±1,2	65±1,4	68,0±1,6
Lactose (%)	nd	6,0±0,9	6,0±1,4	6,0±1,3	6,0±1,3
Proteínas (%)	nd	1,0±0,7	1,3±0,7	0,9±0,6	1,2±0,6

Média±Desvio Padrão  
Nd - Não disponível

O teor de gordura e o valor energético das amostras estudadas variaram, em média, de 3,2 a 3,5% e 64-68 kcal/100 mL. Os teores de gordura observados em nosso estudo são semelhantes ao estudo de Abranches et al. (2014), cuja média do LHOC antes do congelamento foi de 3,05±1,18%. Entretanto, o valor energético em nosso estudo foi 15% mais elevado do que o observado por Abranches et al. (2014). Sousa e Silva (2010) analisaram 20 amostras de LH do BLH do município de João Pessoa - PB e obtiveram médias dos teores de gordura de 4,1%, 2,5% e 2% e valor energético de 73%, 56% e 56% no LHOC antes do congelamento, LHOC após o congelamento e LHOP, respectivamente. As diferenças observadas entre os estudos podem ser justificadas pelo tipo de leite coletado (em nosso estudo 89% das amostras foram de leite maduro) e momento da ordenha (em nosso estudo, obtivemos amostras de leite posterior).

A redução do teor de gordura e valor energético é explicada pela aderência da gordura às embalagens, lipólise e lipoperoxidação (CHANG; CHEN; LIN, 2012). De maneira geral as amostras de LHOP e LHOC armazenadas no plástico apresentaram, respectivamente, o teor de gordura e energia 5% e 4% maiores, comparado ao vidro. Este dado pode ser justificado pela porosidade do plástico, ou seja, há perda de água no leite armazenado na embalagem plástica, ocasionando um aumento aparente da gordura e valor energético. Portanto, apesar de perda de água, houve a manutenção do nutriente pela embalagem.

A pouca influência do congelamento e pasteurização sobre os teores de gordura e valor energético pode ser justificada pelo controle rigoroso do manejo e do tempo de armazenamento do LH. Nossos resultados são comparáveis ao estudo de Chang e colaboradores (2012) que analisaram o conteúdo de macronutrientes do LH armazenado em embalagens plásticas e frasco de vidro e não encontraram redução no teor de gordura e valor energético com o congelamento.

Na Tabela 9 os teores de lactose se apresentaram em média 6,0% no LHOC e LHOP em ambas as embalagens. Esses resultados são consistentes com a estabilidade da lactose mediante processo de congelamento, pasteurização e descongelamento, já observado em diferentes estudos (LAWRENCE, 1999; ZANOLA, 2009; VIEIRA et al., 2011) e com a ausência de influência da embalagem plástica sobre seu conteúdo, semelhante ao observado por CHANG et al. (2012). Nossos resultados são comparáveis ao estudo de Abranches et al. (2014), onde o conteúdo de lactose foi, em média, 6,5%. Semelhante aos nossos resultados, Braga e Palhares (2007) também não encontraram diferenças significativas entre a lactose nos grupos LHOC congelado e LHOP, quando analisaram 12 amostras provenientes de *pool* de leite maduro doado por nutrizas atendidas no BLH do Hospital Universitário - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Os valores de proteína encontrados em nosso estudo (Tabela 9) foram em média 1,0% e 1,2% no frasco de vidro e no SPLH (LHOP e LHOC), respectivamente. O conteúdo de proteínas do LH armazenado no SPLH foi 20% maior que no frasco de vidro, porém, sem nenhuma diferença estatística significativa. Nossos resultados são comparáveis ao estudo de Braga; Palhares (2007); Chang et al. (2012) e Abranches et al. (2014) que reportaram valores médios de proteínas de 1%, 0,9% e 1,1%, respectivamente. Semelhante ao estudo de Chang et al. (2012), não encontramos diferenças no conteúdo de proteína na embalagem plástica e frasco de vidro, embora em nosso estudo e no estudo de Chang et al. (2012) sejam observados percentuais mais elevados de proteínas no LH armazenado na embalagem plástica. De acordo com este estudo, o aumento aparente da proteína é consistente com a perda de água ocasionada pelos processos de congelamento, descongelamento e pasteurização.

Com relação aos nutrientes analisados no SPLH, todos apresentaram boa conservação, ou seja, a embalagem plástica não proporcionou nenhum risco de perdas desses nutrientes durante o armazenamento do LH.

## 10. CONCLUSÃO

A contagem de mesófilos nas amostras armazenadas em SPLH e em frascos de vidro mostrou-se semelhante e com valores abaixo de  $<10^{-1}$  UFC/mL. Esses resultados demonstraram que a embalagem plástica não propiciou veículo de contaminação ao LH, ou seja, é segura e assim como o vidro, garantiu ao LH um bom acondicionamento. Ademais, a técnica de ordenha e processamento do LH foi adequada, sendo tais fatores importantes para a prevenção de contaminação. Portanto, do ponto de vista microbiológico, o SPLH se apresentou como alternativa segura para armazenamento do LH.

O índice de acidez do LHOC antes do congelamento, após congelamento e LHOP (SPLH e vidro), apresentaram resultados semelhantes e dentro dos valores preconizados, resultando possivelmente em um LH com menor precipitação de caseína, maior biodisponibilidade de cálcio, fósforo e valor imunológico e sem alteração do *flavor*. Esses resultados são consistentes com a qualidade microbiológica observada em nossas amostras, visto que em uma condição de contaminação microbiológica a elevação da acidez é resultado da proliferação de microorganismos que promovem o desdobramento da lactose em ácido láctico. Assim, concluímos que a acidez do LH não foi influenciada pelo armazenamento deste em SPLH.

Foi demonstrado que o valor energético, gordura, proteína e lactose se mostraram dentro dos valores esperados e semelhantes entre as amostras armazenadas no SPLH e frasco de vidro. Nosso estudo sugere que a embalagem plástica reduz a perda de nutrientes durante o armazenamento do LH, já que há aderência do nutriente à embalagem. Portanto, apesar de uma pequena perda de água, há a manutenção do nutriente pela embalagem.

O controle rigoroso de fatores como: tempo de armazenamento, temperatura, amostras de LH (que eram oriundas de uma mesma nutriz e em sua maioria de LH maduro) contribuiu, em parte, para minimizar grandes variações de energia e macronutrientes nas amostras.

Concluímos que o SPLH se mostrou como alternativa viável para armazenamento do LH, à medida que não trouxe riscos de contaminação microbiológica, não promoveu perda de nutrientes e não influenciou o teor de acidez, valor energético, gordura, proteínas e lactose do LH. Mais estudos são necessários para se verificar a influência do SPLH sobre outros nutrientes e compostos bioativos do LH.

## REFERÊNCIAS

ABRANCHES, A. D et al. Freezing and thawing effects on fat, protein, and lactose levels of human natural milk administered by gavage and continuous infusion. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.90, n.4, p.384-388, 2014.

ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; LACERDA, E. **Nutrição e obstetrícia e pediatria**. 2ªed. Rio de Janeiro: Cultura Médica: Guanabara Koogan, 2012. 657p.

AKRÉ, J. **Alimentação infantil: bases fisiológicas**. Organização Mundial de Saúde. 2ª ed. Genebra: OMS; 1997.

ALCINE, F. B.; MALACHIAS, A. R.; GOMES, C. F. Implantação de unidade de coleta de leite humano e sala de apoio ao aleitamento materno em empresa. In: VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. 2012. Maringá, PR. **Anais Eletrônico da VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica**, Maringá, PR. p.1-21.

ALENCAR, S. M. S. M. Ordenha e Coleta. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

ALMEIDA, J. A. G. Bancos de Leite Humano: o estabelecimento de um novo paradigma. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**, 1999. p.91-113.

ALMEIDA, J. A. G.; GUIMARÃES, V.; NOVAK, F. R. Normas técnicas redeblh-br para bancos de leite humano. Fiocruz, 2005. Disponível em: <http://www.redeblh.fiocruz.br/media/controlesan.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2014.

ALMEIDA, J. A. G. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

ALMEIDA, J. A. G. Pasteurização. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

ALMEIDA, S. D. S. **Contagem celular somática, bacteriana total e composição do leite humano**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2008.

ALVES, R. B. S. **A prática da amamentação: implicações socioeconômicas e culturais.** 2010. Monografia (Especialização em gestão de sistemas e serviços de saúde) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas AGGEU Magalhães, Recife, 2010.

ANASTÁCIO, A. S. **Composição e distribuição de chumbo no leite humano: relação com minerais essenciais e influência de fatores não ocupacionais sobre níveis de chumbo em sangue e leite maternos.** 2001. Dissertação (Mestrado em ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, 2001

ANASTÁCIO, A. S et al. Distribution of lead in human milk fractions: relationship with essential minerals and maternal blood lead. **Rev. Biological Trace Element Research**, v.102, p.27-37, 2004.

APRILLE, M. M.; **Crescimento de recém-nascidos de muito baixo peso alimentados com leite de banco de leite humano selecionado segundo o valor calórico e proteico.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, São Paulo, 2006.

APRILE, M. M.; FEFERBAUM, R. **Banco de leite humano.** São Paulo: Editora Atheneu, 2012. 166p.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; BRITO, E. S. Fundamentos de estabilidade de alimentos. Embalagens e suas interações com os alimentos. **Rev. Embrapa Agroindústria Tropical**, Brasília, DF, 2<sup>o</sup>ed., p.223-252, 2012.

BARICELLI, J. et al.  $\beta$ -defensina 2 no leite materno mostra uma ampla atividade antimicrobiana contrabactérias patogênicas. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.91, p.36-43, 2015.

BATTOCHIO, A. P. R.; SANTOS, A. G.; COELHO, C. A. R. Leite materno: considerações sobre nutrientes específicos e seus benefícios. **Rev. Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v.18, n.3, p.136-141, 2003.

BECKER, B. B. **As causas da interrupção precoce do aleitamento materno no Brasil.** Artigo de Revisão Bibliográfica (Pós-graduação em Nutrição Clínica) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, UNIJUÍ, RS, 2012.

BESERRA et al. O Bisfenol A: sua utilização e a atual polêmica em relação aos possíveis danos à saúde humana. **Rev. Eletrônica TECCEN**, Vassouras, v.5, n.1, p.37-46, 2012.

BOCCOLINI, C. S. et al. Breastfeeding during the first hour of life and neonatal mortality. **J. Pediatr**, (Rio J), v.89, n.2, p.131-136, 2013.

BOCCOLINI, C. S.; BOCCOLINI, P. M. M. Relationship Between Breastfeeding and Hospitalization Due to Diarrheal Diseases Among Children Under one Year of Life in Brazilian State Capitals and the Federal District, 2008. *Rev. Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v.20, n.1, p.19-26, 2011.

BORBA, L. M. **Efeito do processo de pasteurização do leite humano no crescimento de Bifidobacterium spp. "IN VITRO"**. 2001. Tese (Doctor Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2001.

BORDALO, J. D. **Aleitamento materno: relactação e lactação induzida**. 2008. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Universidade da Beira Interior, Faculdade de Ciências da Saúde, FCS, Covilhã, 2008.

BORGES, D. G. **Aproveitamento de embalagens cartonadas em compósito de polietileno de baixa densidade**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade de São Paulo, Escola Politécnica de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, São Paulo, 2007.

BORTOLOZO M.M, E. A. F. Q. **Análise nutricional do leite humano processado em banco de leite e desenvolvimento de um suplemento que atenda às necessidades específicas do recém-nascido de baixo peso**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

BORTOLOZO, E. A. F. Q.; TOBONI, E. B.; CÂNDIDO, L. M. B. 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**. v.16, n.3, p.199-205, 2004.

BRADFORD. M.M A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*.v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAGA, L. P. M.; PALHARES, D. B. Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.83, n.1, p.59-63, 2007.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, Poder Executivo, 10 jan. 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008. 160p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 41, de 16 de setembro de 2011. Dispõe sobre a proibição de uso de bisfenol A em mamadeiras destinadas a alimentação de lactentes e dá outras providências. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, Poder Executivo, 21 ago. 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 56, de 16 de novembro de 2012. Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, Poder Executivo, 21 nov. 2014. a.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Uso de materiais menos agressivos ao meio ambiente na fabricação de embalagens. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/item/7653/usodemateriaismenosagressivosaomeioambientena fabricacaodasembalagens><. Acesso em: 26 set. 2014. b.

BREGER, G.; SANTOS, L. M.; FIORINI, D. L. S. Benefícios do aleitamento materno para crianças até seis meses de idade e a introdução da alimentação complementar. **Rev. Universo da Enfermagem**, Nova Venécia, v.01, n.2, p. 55-64, 2012.

BUGS, G. L. **Embalagem e rotulagem de produtos alimentícios: um enfoque ambiental**. 2004. Trabalho de Conclusão de Estágio (Bacharel em Administração) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

CALIL, V. M. L. T.; FALCÃO, M. C. Composição do leite humano: o alimento ideal. **Rev. Med**, v.82, n.1-4, p.1-10, 2003.

CAPELINI, M. **Potencialidade e aplicação da prevenção de resíduos de embalagens: abordagem sobre o projeto do produto e o consumo**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2007.

CARVALHO, M. R.; TAVARES, L. A. M. Amamentação: bases científicas. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 435p.

CASTILHO, S. D.; RACHED, C. R. Hábitos de exposição de lactentes ao sol. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, v.19, n.1-6, p.43-52, jan.-dez., 2010.

CASTRO, M. R. C. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de leite humano cru recebido em banco de leite humano.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2006.

CHANG, Y.; CHEN, C.; LIN, M. The macronutrients in human milk change after storage in various containers. **Rev. Pediatrics and Neonatology**, n.53, p.205-209, 2012.

CHIMMELFENIG, C.; SANTOS, D. M.; BERNIERE, E. Inovação de embalagens. **Rev. de Administração e Ciências Contábeis do IDEAU**, Alto Uruguai, v.4, n.9, p.1-15, 2009.

COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS, 4<sup>o</sup>ed., Hardcover, Abr., 2001.

CORTEZ, A. P. B. et al. Pediatricians and nutritionists knowledge about treatment of cow milk allergy in infants. **Rev. Paul Pediatría**, v.25, n.2, p.106-113, 2007.

COSTA, A. G. V.; SABARENSE, C. M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Rev. Nutr.**, v.23, n.3, p.445-457, Campinas, 2010.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Rev. Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.13, n.1, p.1-12, 2003.

CUNHA, M. A. Métodos de detecção de microorganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em revista**, v.1, n.1, p.09-13, jan.-jun., 2006.

CRUZ, E. Degelo. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

DIRETRIZES ASSISTENCIAIS. Albert Einstein Hospital Israelita. Radiação ionizante nos estudos radiológicos, 2009.

DUNDA, F. F. E. Cooperação Internacional em Saúde: O caso dos bancos de leite humano. In: Seminário Brasileiro de Estudos Estratégicos Internacionais SEBREEI. 2012. Porto Alegre, RS. **Anais do Seminário Brasileiro de Estudos Estratégicos Internacionais – SEBREEI**, Porto Alegre, RS: Integração Regional e Cooperação Sul-Sul no Século XXI; 2012. p.176-199.

ESTEVEES, F. A. M. **Avaliação da IgA secretora total e específica contra Escherichia coli enteropatogênica em colostro de mães eutróficas e desnutridas.** 2007. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Recife, 2007.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente: bases científicas para uma alimentação saudável.** 3 ed. Viçosa: UFV, 2005, 548p.

EMMETT, P.; ROGERS, I. Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition. **Early Human Development**, v.49, n.7, p.7-28, 1997.

FABRIS, S.; FREIRE, M. T. A.; REYES, F. G. R. Embalagens plásticas: tipos de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de legislação. **Rev. Brasileira de Toxicologia**, v.19, n.2, p.59-70, 2006.

FARIA, C. C. Q. G. **Aquisição passiva de anticorpos protetores reativos com Bordetella pertussis pelo recém-nascido via transferência placentária e aleitamento materno.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, São Paulo, 2010.

FEFERBAUM, R.; FALCÃO, M. C. **Nutrição do recém-nascido.** São Paulo: Ed. Atheneu, 600p, 2005

FERNANDES, F. B. U. **Pensando no bebê: benefícios, técnicas e dificuldades no aleitamento materno.** 2000. Monografia (Especialização em Motricidade Oral) – Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, CEFAC, Rio de Janeiro, 2000.

FERRO, N. G. Fatores relacionados ao insucesso da lactogênese – revisão da literatura. Online Brazilian Journal of Nursing, v.8, n.3, 2009. Disponível em: <<http://www.objnursing.uff.br/index.php/nursing/article/view>>.

FIOCRUZ. Portal da Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano. Banco de Leite Humano, 2015. Disponível em: <<http://portal.fiocruz.br/pt-br/content/banco-de-leite-humano>>. Acesso em: 17 fev. 2015.

FIOCRUZ. Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano. Comunicação e informação – Aleitamento materno. Disponível em: <http://www.redeblh.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm>>. Acesso em: 26 set. 2014.

FONSECA, A. L. M. et al. Impact of breastfeeding on the intelligence quotient of eight-year-old children. **J Pediatr**, Rio J, v.89, n.4, p.346-353, 2013.

FROTA, M. A. et al. Fatores que interferem no aleitamento materno. **Rev. Rene. Fortaleza**, v.10, n.3, p.61-67, 2009.

GALVÃO, M. T. G.; VASCONCELOS, S. G.; PAIVA, S. S. Mulheres doadoras de leite humano. **Rev. Acta Paul Enferm**, v.19, n.2, p.157-161, 2006.

GOMES, F. Banco **de leite humano: contextualização e relevância**. 2008. Monografia (Trabalho de conclusão do curso de Nutrição) – Universidade do Porto, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Porto, 2008.

GONÇALVES, E. M.; SILVA, J. G. F.; MARTINES, M. A. **Aleitamento materno: determinantes que causam o desmame precoce**. 2012. Monografia (Bacharel em Enfermagem) – Faculdade Assis Gurgacz, FAG, Cascavel, 2012.

GORNI, A. A. Introdução aos plásticos. **Rev. Plástico Industrial**. 2003. Disponível em: ><http://www.gorni.eng.br/intropol.html>>. Acesso em: 13 set. 2014.

GRAZZIOTIN, M. C. B. Efeito dos diferentes modos e tempos de estocagem sobre a acidez e o valor calórico do leite humano ordenhadp cru de mães com recém-nascidos internados numa unidade de neonatologia. 2014. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

HAKANSSON, A. P. Protective effects of human milk antimicrobial peptides against bacterial infection. **J Pediatr**, Rio J, v.91, n.1, p.4-5, 2015.

HALLEUX, V.; RIGO, J. Variability in human milk composition: benefit of individualized fortification in very-low-birth-weight infants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.98, n.2, p.529-535, 2013.

HAMOSH, M. et al. Breastfeeding and the Working Mother: Effect of Time and Temperature of Short-term Storage on Proteolysis, Lipolysis, and Bacterial Growth in Milk. 1996. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**. Disponível em: ><http://pediatrics.aappublications.org/content/97/4/492.short><. Acesso em: 07 mar. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo, 1020p, 2008.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington (DC): National Academy Press; 2005.

ISSLER, H. O aleitamento materno no contexto atual: políticas, práticas e bases científicas. São Paulo: **Sarvier**, 2008. 627p.

LAURINDO, V. M. et al. A. Composição nutricional do colostro de mães de recém-nascidos de termo adequados e pequenos para a idade gestacional. II – Composição nutricional do leite humano nos diversos estágios da lactação. Vantagens em relação ao leite de vaca. 2001. Dissertação (Mestrado em Pediatria) – Universidade de São Paulo, FMUSP, São Paulo, 2001.

LAWRENCE, R. A. Storage of human milk and the influence of procedures on immunological components of human milk. **Acta Paediatr Suppl**, v.88, p.14-8, 1999.

LEAL, C. R.; KOEHLER, G. Aleitamento materno como fator determinante do estado nutricional na infância. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Fundação Universidade Regional de Blumenau, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Blumenau, 2010.

LEONE, C. R.; NEIVA, F. C. B. Avaliação e estimulação do recém-nascido pré-termo para alimentação por via oral. Nutrição do recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Editora Medbook, p.61-68, 2008.

LEVY, L.; BÉRTOLO, H. **Manual de Aleitamento Materno**. Portugal: Comitê Português para a UNICEF, 43p. 2008.

LIMA, M. S. R.; DIMENSTEIN, R.; RIBEIRO, K. D. S. Concentração de vitamina E no leite humano e fatores associados: uma revisão de literatura. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.90, p.440-448, 2014.

LIMA, M. S. R. et al. Influência da suplementação pós-parto de vitamina A sobre os níveis de imunoglobulina A no colostro humano. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.88, n.2, p.115-118, 2012.

LIRA, B. F.; CRUZ, E. Estocagem. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

LIRA, B. F.; MATTAR, M. J. G. Transporte. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

LUCAS, A. et al. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. **British Medical Journal**, London, v.1, n.6119, p.1018-1020, 1978.

LUNA, F. D. T.; OLIVEIRA, J. D. L.; SILVA, L. R. M. Banco de leite humano e estratégia saúde da família: parceria em favor da vida. **Rev. Bras. Med. Fam. Comunidade**, Rio de Janeiro, v.9, n.33, p.358-364, 2014.

MACHADO, M. M. T. Fatores de proteção do leite humano. **Rev. Pediatr Ceará**, v.3, n.2, 2002.

MAIA, M. J. C. **O papel do enfermeiro num estudo de adesão ao aleitamento materno**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências de Enfermagem) – Universidade do Porto, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Porto, 2007.

MAIA, P. R. S. **Geração, difusão, e apropriação do conhecimento na Rede Nacional de Bancos de Leite Humano**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências – Saúde da mulher) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Fernandes Figueira, IFF, Rio de Janeiro, 2004.

MAIA, P. R. S. et al. A Rede Nacional de Bancos de Leite Humano: gênese e evolução. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, Recife, v.6, n.3, p.285-292, 2006.

MARGOTTO, P. R. Assistência ao recém-nascido de alto risco. **Nutrição Enteral**, 2ºed. 2004.

MARTINS, F. R. D. Leite humano ordenhado: uso consciente e otimizado. **Anais**, XIX Encontro Anual de Iniciação Científica - EAIC, Universidade Estadual de Maringá, Guarapuava, PR, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde da criança: nutrição infantil: aleitamento materno e alimentação complementar. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: **Editora do Ministério da Saúde**, 112p. 2009.

MITSUE, S. C. **Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um banco de leite humano no Vale do Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade de Taubaté, São Paulo, 2010.

MONTE, C. M. G.; GIUGLIANI, E. R. J. Recomendações para alimentação complementar da criança em aleitamento materno. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.80, 5 Supl, S131-S141, 2004.

MONTEIRO, J. C. S.; NAKANO, A. M. S.; GOMES, F. A. O aleitamento materno enquanto uma prática construída. Reflexões a cerca da evolução histórica da amamentação e desmame precoce no Brasil. **Investigación y Educación en Enfermería**, Medellín, v.29, n.2, p.315-321, 2011.

MORGANO, M. A et al. Composição mineral do leite materno de bancos de leite. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.4, p.819-824, 2005.

MUSSI-PINHATA, M. M.; REGO, M. A. C. Particularidades imunológicas do pré-termo extremo: um desafio para a prevenção da sepse hospitalar. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.81, Supl.1, S59-S68, 2005.

NEVES, L. S.; SÁ MARIA, V. M.; MATTAR, M. J. G.; GALISA, M. S. Doação de leite humano: dificuldades e fatores limitantes. **Rev. O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.35, n.2, p.156-161, 2011.

NISHIMURA, R. Y. et al. Breast milk fatty acid composition of women living far from the coastal area in Brazil. **J Pediatr**, Rio J, v.89, n.3, p.263-268, 2013.

NOGUEIRA, Z. D et al. Aleitamento materno e perfil antropométrico de crianças com doença falciforme acompanhadas em serviço de referência em triagem neonatal. **Rev. Paul Pediatr**, p.1-6, 2015.

NOVAK, F. R.; CORDEIRO, D. M. B. The correlation between aerobic mesophilic microorganism counts and Dornic acidity in expressed human breastmilk. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.83, n.1, p.87-91, 2007.

NOVAK, F. R et al. Análise sensorial do leite humano ordenhado e sua carga microbiana. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.84, n.2, p. 181-184, 2008.

NOVAK, F. R. **Ocorrência de Staphylococcus aureus resistentes à meticilina em leite humano ordenhado**. 1999. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo Góes, Rio de Janeiro, 1999.

ODDY, W. H. Aleitamento materno na primeira hora de vida protege contra a mortalidade neonatal. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.89, n.2, p.109-111, 2013.

OLIVEIRA, A. M. M et al. Interferência do controle glicêmico na transição entre as fases I e II da lactogênese em pacientes com Diabetes Melito Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v.52, n.3, p.473- 481, 2008.

OLIVEIRA, A. S. **Níveis de hemoglobina segundo os diferentes regimes alimentares nos primeiros seis meses de vida: um estudo de coorte.** 2008. Trabalho de Conclusão de Curso, sob a forma de artigos (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição, Salvador, 2008.

OLIVEIRA, C. B. **Utilização na indústria farmacêutica de vidro e PET em frascos de xarope.** 2011. Monografia (Pós-graduação em Engenharia de Processos Industriais) – Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2011.

OLIVEIRA, D. J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais: aprendendo a aprender.** Sarvier, São Paulo, 760p., 2008.

PATIN, R. V et al. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. **J. Pediatr**, Rio de Janeiro, v.82, n.1, p.63-69, 2006.

PAUROSÍ, D. R. **Estímulo ao aleitamento materno exclusivo – um relato de experiência.** 2009. Monografia (Trabalho de conclusão de curso em Enfermagem) – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Dourados, UEMS, Dourados, 2009.

PAXSON, C. L.; CRESS, C. C. Survival of human milk leukocytes. **The Journal of Pediatrics**, v.94, n.1, p.61-64, 1979.

PINTO, M. S. **Efeito de embalagens flexíveis na qualidade de leite pasteurizado e na sua aceitabilidade.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2009.

PORTAL DA SAÚDE SUS. Banco de Leite Humano. Disponível em: >[http://www.portal.saude.gov.br/portal/saude/cidadao/visualizar\\_texto.cfm](http://www.portal.saude.gov.br/portal/saude/cidadao/visualizar_texto.cfm)<. Acesso em 17 jun. 2013.

PLANETA RECICLÁVEL. Disponível em: >[http://www.planetareciclavel.com.br/sala\\_de\\_aula/Tetra\\_Pak/Caderno\\_do\\_aluno.pdf](http://www.planetareciclavel.com.br/sala_de_aula/Tetra_Pak/Caderno_do_aluno.pdf)<. Acesso em 26 set. 2014.

PORTAL G1. Falta de potes de vidro prejudica estoque de leite materno no Recife. Disponível em: ><http://g1.globo.com/pernambuco/noticia/2014/06/falta-de-potes-de-vidro-prejudica-estoque-de-leite-materno-no-recife.html><. Acesso em: 26 set. 2014.

QUADROS, L. S. **Embalagens: design e comunicação**. 2010. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Design Gráfico) – Centro Universitário Univates, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Lajeado, 2010.

QUEIROZ, V. A. O.; ASSIS, A. O.; JÚNIOR, H. C. R. Efeito protetor da lactoferrina humana no trato gastrointestinal. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v.31, n.1, p.90- 95, 2013.

REGO, J. D. Aleitamento materno. 2º Ed, São Paulo: Ed. Atheneu, 2009. 660 p.

RIGONI, R.; ROMANI, R. **Conhecimento da população masculina e feminina acima de treze anos do bairro Bagatini, em relação à prevenção e detecção precoce do câncer de mama**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Palmitos, Santa Catarina, 2008.

RONA, M. S. et al. Efeito do tempo e da temperatura de estocagem nas determinações de acidez, cálcio, proteínas e lipídeos de leite de doadoras de bancos de leite humano. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, Recife, v.8, n.3, p.257-263, jul.-set., 2008.

SANTOS, S. M. R et al. Leite de mulheres brasileiras apresenta anticorpos IgA secretores (SIgA) que neutralizam o rotavírus G9P[5]. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.89, n.5, p.510-513, 2013.

SCHIMMELFENIG, C.; SANTOS, D. M.; BERNIERE, E. Inovação de embalagens. **Rev. de Administração e Ciências Contábeis do IDEAU**, Alto Uruguai, v.4, n.9, p.1-15, 2009.

SECRETARIA DE SAÚDE. Bancos de leite pedem recipiente. 2011. **Jornal do Comercio**, Pernambuco, 2011. Disponível em: >[http://www.cremepe.org.br/leitorClipping.php?cd\\_clipping=46883](http://www.cremepe.org.br/leitorClipping.php?cd_clipping=46883)<. Acesso em: 13 set. 2014.

SERAFINI, A. B et al. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. **Rev. de Saúde Pública**, v.6, n.37, p.775-779, 2003.

SILVA, L. F. Afinal, cadê a embalagem? **Rev. Cadernos de Debate**, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, Campinas, v.9, p.38-54, 2002.

SILVA, R. C., ESCOBEDO, J. P., GIOIELLI, L. A. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. **Quim. Nova**, São Paulo, V.30, n.7, p.1535-1538, 2007.

SILVA, F. F. **Qualidade do leite materno em banco de leite humano: aspectos bacteriológicos, físico-químicos e perfil de aminos bioativas**. 2008. Dissertação (Mestrado em ciências dos alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG, 2008.

SILVA, D. A. **Ensaio de proficiência para bancos de leite humano: formulação e avaliação de uma proposta para a rede brasileira de bancos de leite humano**. 2009. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e da Mulher) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, M. G. **Aleitamento materno: relação do conhecimento e sua prática entre as primíparas de Baguari, distrito Governador Valadares no período de Junho a Outubro de 2009**. Monografia (Especialização em Saúde da Família) – Universidade Candido Mendes, Governador Valadares, 2009.

SILVA, C. P., et al. Mamografia um toque pela vida. São Paulo, 2012. Disponível em: >[http://playmagem.com.br/mamografia/mamografia\\_tcc.pdf](http://playmagem.com.br/mamografia/mamografia_tcc.pdf)<. Acesso em: 13 set. 2014.

SILVEIRA, M. M. M et al. Fluxo da informação no sistema de produção da rede de bancos de leite humano: uma proposta. **J. Bras tele**, Rio de Janeiro, v.3, n.2, p.51-55, 2014.

SOUZA, P. P. R.; SILVA, J. A. Monitoramento da qualidade do leite humano ordenhado e distribuído em banco de leite de referência. **Rev. Inst Adolfo Lutz.**, v.69, n.1, p.7-14, 2010.

SOUZA, S. F.; SERAPIÃO, M. V. Embalagem e Rotulagem. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos – Série Tecnologia em Serviços de Saúde. 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2008.

SOUZA, T. O.; BISPO, T. C. Aleitamento materno exclusivo e o programa saúde da família da Chapada, município de Aporá (BA). **Rev. Baiana de Saúde Pública**, Bahia, v.31, n.1, p.38-51, 2007.

SPYRIDES, M. H. C et al. Efeito das práticas alimentares sobre o crescimento infantil. **Rev. Práticas Alimentares e Crescimento Infantil**, 2005.

TAVARES, A. P. S. R. **Influência do congelamento e da pasteurização sobre as características físico-químicas do leite humano**. Trabalho de Conclusão de Curso

(Graduação em Nutrição) – Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Nutrição Emília de Jesus Ferreiro, Rio de Janeiro, 2014.

THOMAZ, D. M et al. Comparação entre suplementos homólogos do leite humano e um suplemento comercial para recém-nascidos de muito baixo peso. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, p.119-124, 2012.

TINOCO, S. M. B et al. The importance of essential fatty acids and the effect of *trans* fatty acids in human milk on fetal and neonatal development. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.3, p.525-534, 2007.

TOMA, T. S.; REA, M. F. Benefícios da amamentação para saúde da mulher e da criança: um ensaio sobre as evidências. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.235-246, 2008.

TON, A. P et al. **Fatores que levam à interrupção do aleitamento materno exclusivo: uma revisão bibliográfica**. 2009. Monografia (Bacharel em Enfermagem) – Universidade Vale do Rio Doce, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Governador Valadares, 2009.

VANDENPLAS, Y et al. Probiotics and prebiotics in prevention and treatment of diseases in infants and children. **J Pediatr**, (Rio J), v.87, n.4, p.292-300, 2011.

VELOSO, F. L.; ALMEIDA, J. A. Breastfeeding in Brazilian pediatrics postgraduate programs: a profile of academic papers made from 1971 to 2006. **Rev. Paul Pediatr**, v.27, p.154-159, 2009.

VIECZOREK, A. L. **Avaliação dos bancos de leite humano do Estado do Paraná**. 2010. Dissertação (Pós-graduação em Enfermagem) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Curitiba, 2010.

VIEIRA, A. A et al. Análise do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso ao nascimento. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.80, n.6, p.490-494, 2004.

VIEIRA, R. W, et al. Do aleitamento materno à alimentação complementar: atuação do profissional nutricionista. **Rev. Saúde & Amb**. Duque de Caxias, v.4, n.2, p.1-8, 2009.

VIEIRA, F., et al. Diagnósticos de enfermagem relacionados à amamentação no puerpério imediato. **Revista Rene**. v. 3, n.12, p. 462-470, 2011.

VITOLLO, M. R.; MERIDA, S. R. R. Intervenção na dieta materna e sua repercussão em um recém-nascido com quilotórax. **Rev. Pediatria, São Paulo**, v.23, n.2, p.188-192, 2001.

WEISS, P. P. W. The Storage of Breast Milk: A review written for MAM Babyartikel GesmbH. **International Children Medical Research Association**, 2005.

ZANOLA, M. **Processamento do leite UHT**. 2009. Monografia (Pós-graduação em higiene e inspeção de produtos de origem animal) – Instituto Qualittas, Campinas, 2009.