

Fabiane de Fátima Silva

**QUALIDADE DO LEITE MATERNO EM BANCO DE
LEITE HUMANO: ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS,
FÍSICO-QUÍMICOS E PERFIL DE AMINAS
BIOATIVAS**

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2008

Fabiane de Fátima Silva

**QUALIDADE DO LEITE MATERNO EM BANCO DE
LEITE HUMANO: ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS,
FÍSICO-QUÍMICOS E PERFIL DE AMINAS
BIOATIVAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial
à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Maria Beatriz Abreu Glória

**Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte, MG
2008**

Aos meus pais, minhas irmãs e meu irmão,
que sempre me acompanham e me incentivam na busca
dos meus ideais em todos os momentos da minha vida.

Muito Obrigada!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, fé e luz constantes no meu caminho.

À Professora Doutora Maria Beatriz pela oportunidade e orientação.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Bioquímica de Alimentos pelo incentivo, paciência e imensas contribuições em cada etapa deste trabalho.

À Coordenação e funcionários do Banco de Leite Humano Dona Mariquinha pela oportunidade e colaboração durante toda a coleta de dados.

Aos colegas do mestrado pelo companheirismo e momentos agradáveis.

Às funcionárias da Secretaria da Pós-graduação pela presteza e atenção.

A todos que, através de palavras, gestos e orações, me incentivaram e contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO	13
REVISÃO DA LITERATURA.....	15
1. ALEITAMENTO MATERNO.....	15
1.1 Produção e classificação do leite humano.....	16
1.2 Composição do leite humano.....	17
2. AMINAS BIOATIVAS NO LEITE HUMANO	22
2.1 Aminas biogênicas.....	23
2.1.2 Aminas biogênicas no leite humano.....	25
2.2 Poliaminas	25
2.2.1. Poliaminas em leite humano.....	28
2.3 Métodos para determinação de aminas bioativas.....	31
3. BANCO DE LEITE HUMANO.....	32
3.1 Captação de doadoras.....	33
3.2 Pasteurização do leite.....	34
3.3 Armazenamento do leite	39
3.4 Métodos utilizados para a avaliação da qualidade do leite humano	39
CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS.....	43
1. CASUÍSTICA.....	43
2. MATERIAL	43
3. MÉTODOS.....	44
3.1 Estudos das práticas de coleta do leite humano no BLH nos anos de 2006 a 2007.....	44
3.2 Avaliação da qualidade físico-química do leite coletado e encaminhado ao BLH no período de janeiro a março de 2008.....	44
3.3 Avaliação da qualidade bacteriológica do leite pasteurizado em BLH no período de janeiro a março de 2008.....	45
3.4 Estudo da influência da pasteurização sobre os teores de aminas bioativas em leite humano	45
4. MÉTODOS DE ANÁLISE	46
4.1 Características sensoriais	46
4.2 Índice de acidez	46
4.3 Crematócrito	46
4.4 Teores de aminas bioativas	47
4.5 Presença de coliformes totais	47
4.6 Análise estatística	48

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
1. PRÁTICAS DE COLETA DO LEITE NO BANCO DE LEITE HUMANO NO PERÍODO DE 2006 E 2007.....	49
2. QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE HUMANO COLETADO PELO BLH NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2008	52
2.1 Avaliação sensorial.....	52
2.2 Acidez.....	52
2.3 Crematócrito	54
3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DO LEITE HUMANO PASTEURIZADO NO BLH NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2008	56
4. A PASTEURIZAÇÃO E OS TEORES DE AMINAS BIOATIVAS NO LEITE HUMANO.....	57
4.1 Classificação.....	57
4.2 Acidez	57
4.3 Crematócrito	58
4.4 Presença de coliformes.....	59
4.5 Teores de Aminoácidos Bioativos no leite humano cru	60
4.6 Teores de Aminoácidos Bioativos no leite humano pasteurizado.....	61
4.7 Influência da Pasteurização nos teores de Aminoácidos Bioativos no leite humano.....	61
CONCLUSÕES.....	67
CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
APÊNDICE	76
ANEXO 1.....	77
ANEXO 2.....	78

LISTA DE TABELAS

1 - Classificação do leite humano conforme o período de lactação.....	17
2 - Composição nutricional do leite humano em suas três fases de lactação	18
3 - Teores das poliaminas espermina e espermidina no leite humano	30
4 - Comparação de diferentes métodos de pasteurização do leite humano.....	38
5- Parâmetros estatísticos de aminos bioativas no leite humano cru coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.....	60
6 - Parâmetros estatísticos de aminos bioativas no leite humano pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.....	61

LISTA DE FIGURAS

1 - Estrutura química das amins bioativas.....	22
2 - Síntese de amins a partir dos aminoácidos precursores.	24
3 - Síntese e interconversão de poliaminas.	26
4 - Mecanismo de absorção das poliaminas.	27
5 - Acidez (°D) do leite humano coletado em janeiro, fevereiro e março de 2008.	53
6 - Crematócrito do leite humano coletado pelo BLH em janeiro e fevereiro de 2008.	55
7 - Percentual de coliformes totais no leite humano pasteurizado coletado pelo BLH nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2008.	56
8 - Distribuição percentual da acidez nas amostras de leite humano cru.	57
9 - Distribuição percentual do crematócrito nas amostras de leite humano coletadas pelo BLH de janeiro e fevereiro de 2008.	59
10 - Detecção de coliformes totais nas amostras de leite humano pasteurizadas pelo BLH de janeiro a março de 2008.	59
11 - Influência da pasteurização nos teores de poliaminas em leite humano.	62
12 - Gráficos Box plot e os teores de espermina, espermidina, putrescina, cadaverina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.	64
13 - Gráficos Box plot e os teores de histamina, feniletilamina, triptamina, serotonina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.	65
14 - Gráfico Box plot e o teor de triptamina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.	66

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA.....	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AGM.....	Agmatina
BLH.....	Banco de Leite Humano
CAD.....	Cadaverina
DAO.....	Diamina oxidase
DFMO.....	Difluorometilornitina
DNA.....	Ácido desoxirribonucléico
FEN.....	Feniletilamina
GABA.....	Ácido gama aminobutírico
IMC.....	Índice de Massa Corporal
kcal.....	Quilocaloria
LBqA	Laboratório de Bioquímica de Alimentos
nmol.....	Nanomol
ODC.....	Ornitina descarboxilase
PAO.....	Poliamina oxidase
PCLH.....	Posto de Coleta de Leite Humano
PUT.....	Putrescina
RNA.....	Ácido ribonucléico
SAM.....	S-adenosilmetionina
SAM-DC.....	S-adenosilmetionina descarboxilase
SAM-HC.....	S-adenosilmetionina homocisteamina
SPM.....	Espermina
SPD.....	Espermidina
SRN.....	Serotonina
TIM.....	Tiramina
TRM.....	Triptamina
UBS.....	Unidade Básica de Saúde

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência das práticas de coleta e processamento em Banco de Leite Humano (BLH) no perfil e teores de aminas bioativas, qualidade físico-química e bacteriológica do leite humano. As atividades desenvolvidas em um BLH situado na região metropolitana de Belo Horizonte, MG foram acompanhadas e as amostras de leite humano foram analisadas quanto aos teores de aminas bioativas e as qualidades físico-química e bacteriológica. As práticas de coleta e processamento do leite estavam de acordo com as recomendações da ANVISA. Entretanto, isto não foi suficiente para garantir a qualidade do leite captado, obtendo-se um elevado percentual de perdas. O leite humano cru apresentou boas características sensoriais, predominância de acidez de 4,0 a 5,0 °D e conteúdo energético entre 500 e 700 kcal/L. Das dez aminas bioativas, nove foram detectadas: espermina, espermidina, putrescina, cadaverina, feniletilamina, histamina, triptamina, tiramina e serotonina. A espermina foi a amina predominante (0,65 mg/L) apresentando o mesmo teor médio tanto no leite cru quanto no leite pasteurizado. A maior parte do leite humano pasteurizado (90%) apresentou ausência de coliformes totais e um perfil de aminas similar ao do leite cru. Para avaliar a influência da pasteurização empregada no BLH, utilizou-se o teste estatístico de *Mann-Whitney U* demonstrando uma diferença significativa somente para histamina, que aumentou significativamente após tratamento térmico ($p < 0,05$).

Palavras-chave: leite humano, qualidade, aminas bioativas, pasteurização.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the influence of collection and processing the practices used by Human Milk Centers (HMC) on the profile and levels of bioactive amines and physico-chemical and bacteriological quality of human milk. The usual practices were followed in a HMC located in the metropolitan region of Belo Horizonte, MG, Brazil. The human milk collection and processing practices followed the recommendations established by ANVISA. However, they were not enough to assure the quality of the milk, resulting in a high percentage of milk loss. The human milk had good sensory quality, predominance of 4.0 to 5.0 °D acidity and energetic content between 500 and 700 kcal/L. Among the ten amines investigated, nine were detected: spermine, spermidine, putrescine, cadaverine, phenylethylamine, histamine, tryptamine, tyramine and serotonin. Spermine was the prevalent amine, followed by spermidine. 90% of the pasteurized milk showed absence of total coliforms and had a similar profile of amines compared to the raw milk. In order to evaluate the influence of pasteurization at 62 °C/30 min, the Mann-Whitney U statistical test was used and indicated significant difference only for histamine, which increased during pasteurization ($p < 0.05$).

Key words: breast milk, quality, bioactive amines, pasteurization.

INTRODUÇÃO

O aleitamento materno é sinônimo de sobrevivência para o recém-nascido, portanto um direito inato. É uma das maneiras mais eficientes de atender aos aspectos nutricionais, imunológicos e psicológicos da criança no primeiro ano de vida. É uma prática natural e eficaz. É um ato cujo sucesso depende de fatores históricos, sociais, culturais e psicológicos da puérpera; do compromisso e conhecimento técnico-científico dos profissionais de saúde envolvidos na promoção, incentivo e apoio ao aleitamento materno (ALMEIDA et al., 2004). Os órgãos representativos no Brasil já trabalham com a proposta da duração do aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de vida (BRASIL, 2002).

O leite humano é um alimento completo com energia e nutrientes importantes para atender as necessidades de desenvolvimento adequado da criança, além de apresentar fatores protetores. Dentre os fatores de crescimento destacam-se as poliaminas, que são polications orgânicos de baixo peso molecular que estabilizam o complexo DNA/cromatina (JEEVANANDAM & PETERSEN, 2001). As poliaminas compreendem a espermina e a espermidina. A putrescina é uma diamina precursora das poliaminas. O fornecimento exógeno de poliaminas é obtido pelo consumo dietético e pela absorção intestinal dos produtos do metabolismo bacteriano. Estas substâncias apresentam um papel importante na regulação do crescimento e proliferação celular, na estabilização de mutações negativas do DNA, transcrição do RNA, síntese de proteínas, apoptose e regulação da resposta imune. A concentração dessas substâncias no leite humano depende da dieta e da capacidade de serem secretados pelo epitélio da glândula mamária. O leite humano contém quantidades importantes de poliaminas, principalmente de espermina e espermidina (LARQUÉ et al., 2007).

Outras aminos podem também ser encontradas no leite humano (DINIZ, 2005). Estas compreendem as aminos biogênicas que podem estar presentes no leite em função da dieta materna, ou da descarboxilação de aminoácidos pelo uso de temperaturas elevadas ou pela ação de enzimas descarboxilantes de bactérias contaminantes. Estas aminos podem ser vaso ou neuroativas.

A política de saúde pública, voltada para o incentivo à amamentação tem, ao longo das últimas décadas, fortalecido a importância dos Bancos de Leite Humano (BLH). Essas unidades configuram-se como locais privilegiados para as ações de incentivo ao

aleitamento materno no território nacional (MAIA et al., 2006).

A pasteurização a 62,5 °C por 30 minutos nos BLH é um método usado para eliminar contaminantes viróticos potenciais como, por exemplo, o vírus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), vírus T-linfoma e citomegalovírus, assim como contaminantes bacterianos como da tuberculose, mantendo grande parte dos fatores bioativos do leite (TULLY et al., 2001). Diante do exposto, denota-se a importância de verificar se a concentração das poliaminas presentes no leite humano é alterada após a pasteurização, tendo em vista os efeitos benéficos que elas apresentam e também a necessidade de controlar estes níveis.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência das práticas de coleta e processamento do leite humano em Bancos de Leite Humano no perfil e nos teores de aminos bioativas e qualidade físico-química e bacteriológica preconizada pela ANVISA (2007).

Os objetivos específicos foram:

(i) verificar as práticas de coleta e a qualidade do leite humano disponibilizado em um BLH situado na região metropolitana de Belo Horizonte, MG;

(ii) avaliar os tipos e teores de aminos bioativas e as características físico-químicas do leite humano disponibilizado no BLH;

(iii) verificar a influência da pasteurização nos teores de aminos bioativas em leite humano distribuído em um BLH; e

(iv) pesquisar a presença de coliformes totais no leite humano pasteurizado no BLH.

REVISÃO DA LITERATURA

1. ALEITAMENTO MATERNO

Os primeiros anos de vida de uma criança são caracterizados por crescimento acelerado e requerimentos nutricionais elevados para seu desenvolvimento. A Organização Mundial da Saúde (OMS), o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) e o Ministério da Saúde (MS) preconizam o aleitamento materno exclusivo até os seis meses de idade e, depois dessa idade, que os lactentes recebam alimentos complementares, mas que continuem com o leite humano até os dois anos. As práticas apropriadas de alimentação são de fundamental importância para a sobrevivência, crescimento, desenvolvimento, saúde e nutrição dos lactentes em qualquer lugar. Nessa ótica, o aleitamento materno exclusivo é de crucial importância para que se obtenham bons resultados (SILVA & SOUZA, 2005).

A quase totalidade, cerca de 97%, das crianças brasileiras inicia a amamentação ao peito nas primeiras horas. No entanto, o início do processo do desmame ocorre precocemente. Nos primeiros seis meses de vida, o número de crianças em aleitamento materno exclusivo é pequeno e o de crianças desmamadas é considerável ficando muito aquém das recomendações do Ministério da Saúde (BRASIL, 2002).

Em um estudo realizado em Campinas, São Paulo, observou-se que a proporção de crianças amamentadas diminuiu abruptamente entre aquelas de 0 a 4 meses de idade, caracterizando processo de desmame precoce e rápido. Entre as idades de 4 e 6 meses a intensidade da queda foi muito maior (23,8%), e apenas 11,4% das crianças recebiam exclusivamente leite humano (NEJAR et al., 2004).

Embora, a superioridade do aleitamento materno seja reconhecida mundialmente, muitas são as causas de desmame precoce e dentre essas se destacam as doenças infecto-contagiosas, que podem acometer tanto a mãe quanto a criança. Vale lembrar que, quando uma nutriz apresenta sintomas de uma doença infecto-contagiosa, geralmente já expôs seu filho ao agente patogênico, e a manutenção da amamentação deve ser avaliada como forma de proteger a criança. Entretanto, há situações de doenças infecciosas que contra indicam o aleitamento materno ou exigem cuidados

especiais para que a amamentação seja mantida. Apesar desses eventos apresentarem baixa frequência, o domínio das condutas relacionadas à amamentação na vigência de algumas doenças maternas, por parte dos profissionais de saúde, representa atitude de proteção à vida da criança. Nutrizes com doenças causadas pelos vírus da hepatite, vírus da herpes, sarampo, caxumba e rubéola, dentre outras, podem excretar os vírus no seu leite, mas a transmissão para o lactente não é frequente. Entretanto, nas infecções causadas pelos retrovírus, a transmissão através do leite humano é mais frequente e a amamentação deve ser contra indicada (ANVISA, 2007).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é excretado livre ou no interior de células no leite de nutrizes infectadas e a contaminação pode ocorrer em qualquer estágio do aleitamento, sendo mais frequente nas primeiras semanas e, em especial, nas infecções mais recentes. O Ministério da Saúde recomenda que as mães portadoras do vírus HIV não amamentem e que a amamentação cruzada seja terminantemente contra indicada (ANVISA, 2007). O desenvolvimento adequado de estratégias para prevenir a transmissão de doenças de mãe para filho através do leite humano, principalmente, o vírus HIV tipo 1 (HIV-1) torna-se muito importante em todas as populações. O tratamento térmico é uma das opções sugeridas pela OMS e demonstra ser uma estratégia simples e barata (HARTMANN et al., 2006).

1.1 Produção e classificação do leite humano

O leite humano se forma na própria glândula mamária, sendo que as células epiteliais dos alvéolos mamários sintetizam alguns componentes do leite e retiram outros do plasma sanguíneo. Cada célula alveolar é capaz de produzir leite com todos os seus constituintes (JALDIN & SANTANA, 2006). Alguns fatores podem influenciar, tanto na composição quanto no volume da secreção láctea, dentre eles, os genéticos, a nutrição materna, as técnicas de extração, o armazenamento e a administração ao bebê (CORRÍA, 2005).

Na tabela 1 são mostrados os períodos de lactação. O colostro é um fluido acumulado nas células alveolares nos últimos meses de lactação e secretado nos primeiros dias pós-parto. Apresenta coloração amarelada, devido ao seu elevado teor de beta-caroteno. É particularmente rico em imunoglobulinas, peptídeos antimicrobianos e outras moléculas bioativas, incluindo fatores tróficos e substâncias imunomoduladoras e antiinflamatórias (EUCLYDES, 2005). A duração do período do colostro não é bem

definida, existindo grandes variações individuais. Portanto, considera-se colostro a produção láctea do primeiro ao sexto-dia. O leite de transição é aquele produzido no período intermediário entre o colostro e o leite maduro. Embora se considere como um “período de transição” aquele compreendido entre o sexto e o décimo dias pós-parto, poucos nutrientes atingem o décimo dia com seus valores definitivos. O processo de transição perdura, na verdade, por todo o primeiro mês de lactação, mas convencionou-se definir como leite maduro aquele produzido posteriormente ao décimo - quinto dia pós-parto (CALIL et al., 1991).

Tabela 1 - Classificação do leite humano conforme o período de lactação

Classificação	Período de lactação
Colostro	Menos de 7 dias após o parto
Leite de transição	7 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: ANVISA (2007).

1.2 Composição do leite humano

O leite humano é, inquestionavelmente, o alimento de escolha para o bebê. A sua composição é elaborada para fornecer energia e os nutrientes necessários nas quantidades adequadas. A composição do leite humano varia em cada mãe, no decorrer do dia, inclusive em uma mesma mamada. A fração mais estável é a protéica e a de maior variabilidade é a gordura. Na tabela 2 são mostrados os valores nutricionais do leite humano de acordo com as fases de lactação.

Proteínas

A necessidade protéica do recém-nascido a termo é estimada em 2,0 a 2,5 g/Kg/dia, decrescendo gradualmente até chegar a 1,3 g/Kg/dia por volta do quarto mês de amamentação. O leite humano fornece, em média, 1,2 g de proteína por 100 mL (CALIL et al., 1991).

Tabela 2 - Composição nutricional do leite humano em suas três fases de lactação

Componentes		Colostro	Leite de transição	Leite maduro
Água (g/dL)		87,2	86,4	87,6
Energia (Kcal/dL)		58	74	71
Sólidos totais (g/dL)		12,8	13,6	12,4
Minerais		0,33	0,24	0,21
Gorduras		1,85-2,9	2,9-3,6	3,0-3,8
Lactose		5,3	6,6	7,0
Proteínas totais		2,7	1,6	1,2
Frações protéicas (g/dL)	Caseína	1,2	0,7	0,25
	Lactoalbumina	-	0,8	0,3
Minerais	Sódio (mEq/L)	21	13	7
	Potássio (mEq/L)	19	16	14
	Cloreto (mEq/L)	26	15	12
	Cálcio (mg/dL)	31-32	29-34	28-33
	Cálcio (mEq/L)	15,5-16	14-17	14-16,5
	Magnésio (mg/dL)	3-4	2,7-4	3-4
	Magnésio (mEq/L)	2,5-3,3	2,2-3,3	2,5-3,3
	Fósforo (mg/dL)	12-14	15-17	13-15
	Sulfato (mg/dL)	22	20	14
	Ferro (mg/dL)	0,09	0,04	0,15
	Iodo (mg/dL)	0,012	0,002	0,007
	Cobre (mg/dL)	0,05	0,05	0,04
	Zinco (mg/dL)	0,50-0,96	0,32-0,46	0,25-0,37
Aminoácidos (mg/dL)	Arginina	75	63	51
	Cistina	-	-	29
	Histidina	41	38	23
	Isoleucina	101	97	86
	Leucina	165	151	161
	Lisina	117	112	79
	Metionina	25	24	23
	Fenilalanina	70	62	64
	Tirosina	-	-	62
	Treonina	85	78	62
	Triptofano	32	28	22
Valina	117	105	90	
Ácidos graxos (% do total)	Total de saturados	47,7	-	48,2
	Láurico	0,9	-	4,7-5,5
	Mirístico	2,8	-	7,9-8,5
	Palmítico	24,6	-	23,2-26,7
	Estearico	9,9	-	6,9-8,3
	Total de insaturados	52,4	-	51,8
	Palmitoléico	1,8	-	3,0-3,4
	Oléico	36,0	-	36,5-37,5
	Linoléico	7,5	-	10,7
	Linolênico	0,3	-	0,4
Vitaminas	Vitamina A (µg/dL)	161	88	53
	Carotenóides (µg/dL)	137	38	27
	Vitamina B1 (µg/dL)	1,9	5,9	16
	Vitamina B2 (µg/dL)	30,2	36,9	43
	Niacina (µg/dL)	-	-	172
	Vitamina B6 (µg/dL)	1,7	3,5	11
	Ácido fólico (µg/dL)	-	-	4-5
	Vitamina B12 (µg/dL)	0,05	-	0,18
	Vitamina C (mg/dL)	7,2	7,1	4,3
	Vitamina D (UI/dL)	-	-	0,4-10,0
	Vitamina E (mg/dL)	1,5	0,68	0,46
	Vitamina K (µg/dL)	-	-	1,5

Fonte: Adaptado de CALIL et al. (1991).

As proteínas fornecem de 6 a 7% da energia do leite humano e podem ser divididas em duas classes: as proteínas do soro e as caseínas. Cerca de 60% é lactoalbumina e 40% caseína. A primeira forma coágulos macios, em flocos, fáceis de digerir; enquanto a segunda forma um coágulo duro, difícil de digerir no estômago do bebê (TRAHMS, 2002).

O leite humano contém β e κ -caseínas, sendo a subunidade β predominante. Estas são altamente fosforiladas, e os fosfopeptídeos formados durante a digestão mantêm o cálcio solúvel, favorecendo sua biodisponibilidade (EUCLYDES, 2005). Existem evidências de que a κ -caseína humana impede a aderência da *Helicobacter pylori* às células da mucosa intestinal (EUCLYDES, 2005; LAMOUNIER et al., 2006).

A α -lactoalbumina é necessária para a síntese de lactose na glândula mamária, através da ação da enzima lactose sintetase. A concentração desta proteína varia de 0,22 a 0,46 g/dL. A lactoferrina é uma glicoproteína, sendo que uma de suas funções é quelar íons Fe^{3+} , que são essenciais para a multiplicação de microrganismos patogênicos, diminuindo assim a sua disponibilidade no intestino. Além deste mecanismo, a lactoferrina também pode se ligar diretamente a certos componentes da parede bacteriana como lipoproteínas e porinas, bem como pode inibir diretamente certos vírus como citomegalovírus e o HIV (CARBONARE & CARNEIRO-SAMPAIO, 2006).

A lisozima é capaz de degradar peptídeo-glicanos da parede de bactérias gram-positivas como o *Staphylococcus aureus*, mas também pode ser bactericida para outras bactérias gram-negativas como *Escherichia coli* (CALIL et al., 1991; CARBONARE & CARNEIRO-SAMPAIO, 2006).

As imunoglobulinas participam do sistema de defesa do organismo. A IgA secretória representa cerca de 90% das imunoglobulinas presentes no colostro e leite maduro, sendo suas concentrações médias, nestas duas fases, de 1740 mg/dL e 100 mg/dL, respectivamente. As imunoglobulinas, IgM e IgG, estão presentes no leite humano em quantidades menores (CALIL et al., 1991). A IgM é encontrada em concentrações de até 2,5 mg/mL. Anticorpos IgM de alta avidéz, reativos com vírus e bactérias, podem ter um importante papel na defesa das superfícies mucosas do lactente. IgG encontra-se em baixas concentrações no leite humano, cerca de 0,1 mg/mL. Os IgG podem ativar o complemento e a citotoxicidade dependente de anticorpo (CARBONARE & CARNEIRO-SAMPAIO, 2006).

Alguns hormônios são detectados no leite humano como, hormônio adrenocorticotrópico, ocitocina, isômeros de prolactina, fator de crescimento epidérmico, e

fatores de crescimento semelhantes à insulina, tiroxina, e cortisol (GOLDMAN, 2000; CARMO et al., 2004).

Neuropeptídeos, incluindo a neurotensina, a substância P, a somatostatina e o peptídeo vasoativo (VIP), estão presentes do leite humano e participam da co-estimulação de células T e da ativação de macrófagos (GOLDMAN, 2000).

Várias citocinas e quimiocinas envolvidas na mediação de reações alérgicas: fator transformador de crescimento beta, interleucina 1 (IL-1) e interleucina 4 (IL-4) são encontradas no leite materno. O tempo de aleitamento materno exclusivo por pelo menos quatro meses preveniu o surgimento de dermatite atópica, enquanto o desmame precoce aumentou a chance de desenvolvimento de dermatite atópica em lactentes de até um ano de idade (LEITE, 2006).

Carboidratos

A lactose constitui o principal carboidrato do leite humano, estando presente em concentrações mais baixas no colostro que no leite maduro. A lactose fornece 42% da energia do leite humano (TRAHMS, 2002). Os outros carboidratos são representados pela glicose (14 mg/dL), galactose (12 mg/dL), oligossacarídeos e glicoproteínas (CALIL et al., 1991). Os oligossacarídeos são estruturalmente semelhantes aos receptores presentes na mucosa do epitélio do trato gastrointestinal, o que lhes confere a propriedade de se ligarem às bactérias patogênicas (GOLDMAN, 2000). Além desta atividade anti-infecciosa, a lactose age em conjunto com os oligossacarídeos para promover o crescimento do *Lactobacillus bifidus*, levando à queda do pH local e tornando o ambiente impróprio para o crescimento de bactérias patogênicas (CALIL et al., 1991).

Lipídeos

Os lipídeos constituem a maior fonte de energia do leite humano. Seu conteúdo varia entre 3 e 4 g/dL, correspondendo a, aproximadamente, 40 a 50% do total calórico; já o colostro possui concentração lipídica menor, em torno de 1,8 a 2,9 g/dL (CALIL et al., 1991).

Os triglicérides constituem cerca de 98% do teor de gordura do leite humano, sendo a digestão e absorção dos mesmos crucial para o crescimento e desenvolvimento do lactente. Aproximadamente, 60% da estrutura dos triglicérides são compostos por ácido palmítico esterificado na posição n-2, o que melhora a absorção das gorduras

(ANDERSSON et al., 2007). Os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos do leite podem ser provenientes da dieta, sintetizados pelo fígado, ou advindos de ácidos graxos livres (lipólise do tecido adiposo), ou ainda, originados da síntese de novo da glândula mamária. Também são encontrados no leite humano, alguns ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como os ácidos araquidônico e docosahexaenóico, que são necessários para o desenvolvimento cerebral do recém-nascido, pois participam do processo de mielinização e da proliferação celular. Também são importantes na função retiniana (CARMO et al., 2004).

Vitaminas e minerais

Todas as vitaminas hidrossolúveis do leite humano refletem a ingestão materna (TRAHMS, 2002; CARMO et al., 2004). As vitaminas lipossolúveis no leite humano incluem as vitaminas A, D, E, e K. Alguns carotenóides precursores da vitamina A também são encontrados, como o beta-caroteno, além de outros. O conteúdo alto de vitamina A no leite humano é de grande importância para o recém-nascido, pois este nasce com pequena reserva hepática (CARMO et al., 2004).

No leite humano são encontrados vários minerais atuando como componentes estruturais em tecidos, como cofatores essenciais de muitas enzimas e outras moléculas fisiológicas. O leite humano contém quantidade apreciável de cálcio, fosfato, potássio, sódio, magnésio e cloreto e possui pequenas quantidades de ferro, cobre e manganês. No leite humano os minerais estão presentes em uma forma altamente biodisponível (CARMO et al., 2004). Apesar da quantidade de ferro ser pequena, cerca de 49% é absorvida (TRAHMS, 2002).

Outros componentes do leite humano

O leite humano apresenta as poliaminas e as aminas biogênicas. Esses compostos pertencem a um grupo denominado de aminas bioativas. As poliaminas são substâncias que apresentam uma função significativa na regulação do crescimento e proliferação celular. As aminas biogênicas são vasoativas ou neuroativas. O leite humano contém quantidades importantes de poliaminas, principalmente de espermina e espermidina (LARQUÉ et al., 2007).

2. AMINAS BIOATIVAS NO LEITE HUMANO

As aminas bioativas ou biologicamente ativas são bases orgânicas alifáticas, alicíclicas ou heterocíclicas de baixo peso molecular. Estas substâncias são formadas por processos bioquímicos e participam de funções metabólicas e fisiológicas importantes nos organismos vivos, desempenhando diversas atividades biológicas (LIMA & GLÓRIA, 1999) (Figura 1). Existem três fontes de aminas bioativas: aquelas sintetizadas *in situ*, as provenientes da dieta e aquelas sintetizadas e liberadas pela microbiota do trato gastrointestinal. Destas, a dieta desempenha um papel importante, suprindo boa parte do necessário para o metabolismo (BARDÓCZ et al., 1995; FOGEL et al., 2007).

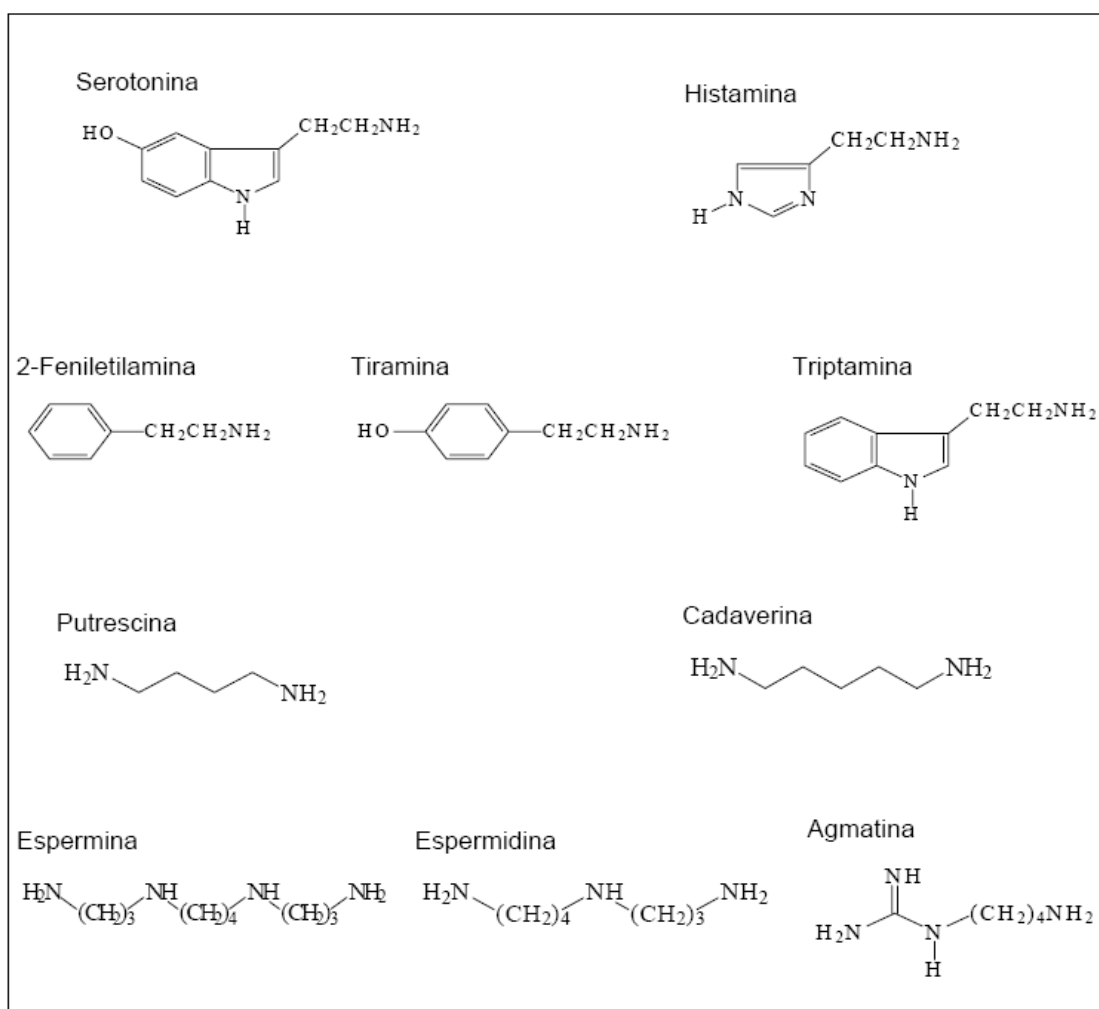


Figura 1 - Estrutura química das aminas bioativas.

As aminas são encontradas em concentrações elevadas nas células e seu

conteúdo é maior em tecidos com alta taxa de crescimento, sendo um bom marcador de desenvolvimento e proliferação celular. Dessa forma, estas amins são consideradas componentes indispensáveis a todas as células vivas e essenciais à renovação, crescimento e metabolismo de todos os órgãos do corpo humano (BARÓ et al., 2001).

Em função do número de grupamentos amina na molécula, as amins podem ser classificadas em monoaminas (tiramina e feniletilamina), diaminas (histamina, triptamina, serotonina e cadaverina), poliaminas (espermina, espermidina e agmatina). Quanto à estrutura química podem ser classificadas de acordo com o grupo químico que apresentam em catecolaminas (dopamina, adrenalina e noradrenalina), indolaminas (serotonina), imidazolaminas (histamina). Quanto à via biossintética podem ser biogênicas ou naturais (ROSSATO, 2005).

2.1 Aminas biogênicas

As amins biogênicas compreendem a histamina, triptamina, tiramina, serotonina, cadaverina, putrescina e feniletilamina. Estas são formadas como resultado da descarboxilação de aminoácidos através da remoção do grupo α -carboxila, formando a amina correspondente. Também podem ser formadas pela aminação e transaminação de aldeídos e cetonas, hidrólise de substâncias nitrogenadas, decomposição de fosfolipídeos e decomposição térmica ou descarboxilação de aminoácidos por enzimas microbianas (SHALABY, 1996, FOGEL et al., 2007). A histamina é formada pela descarboxilação da histidina catalisada pela histidina descarboxilase (TAYLOR et al., 1991). A triptamina é formada pela descarboxilação do triptofano; a putrescina e a cadaverina a partir da ornitina e lisina, respectivamente. A tiramina a partir da tirosina e a feniletilamina a partir da fenilalanina (KALAC & KRAUSOVÁ, 2005). A síntese de amins encontra-se representada esquematicamente na Figura 2.

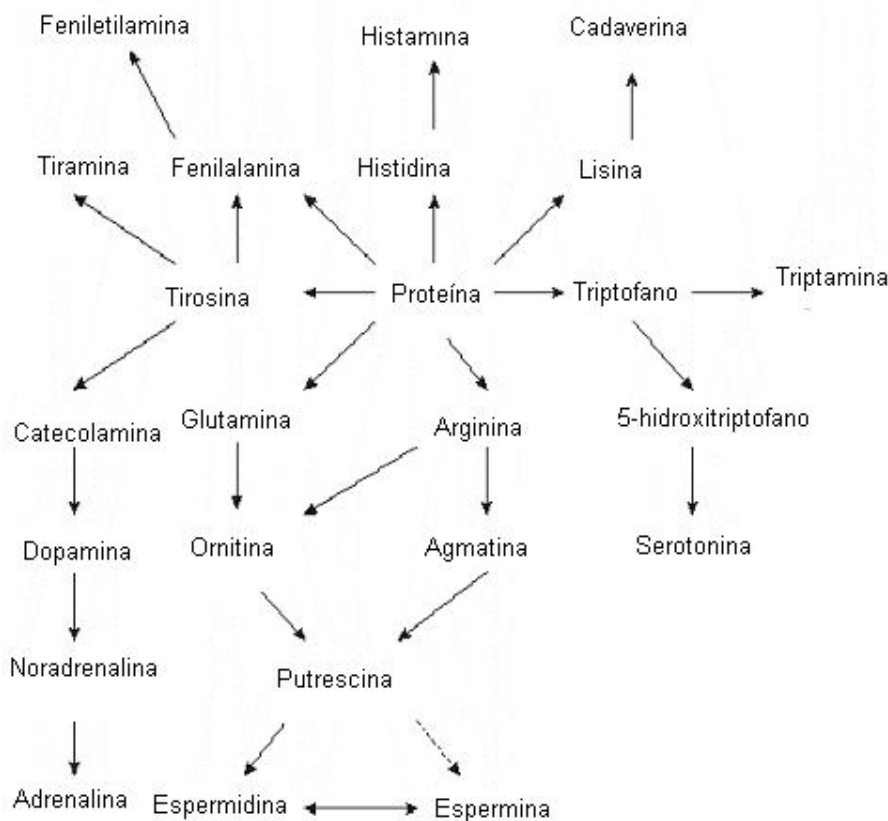


Figura 2 - Síntese de aminas a partir dos aminoácidos precursores.

Fonte: Adaptado de PEÑA (2006).

As aminas biogênicas são encontradas em vários alimentos que incluem pescados, carnes, laticínios, vinhos, cervejas, frutas, nozes, chocolates e outros (PEÑA, 2006).

As aminas biogênicas podem desempenhar função psicoativa (atuação no sistema nervoso central) ou vasoativa (atuação direta ou indireta no sistema vascular, podendo ser vasoconstritora ou vasodilatadora). Tiramina, triptamina e feniletilamina são vasoativas e têm ação vasoconstritora, causando um aumento da pressão sanguínea por restringir o sistema vascular. A histamina apresenta ação vasoativa, porém é vasodilatadora periférica. Já a cadaverina e a putrescina diminuem a pressão arterial (LIMA & GLÓRIA, 1999). A serotonina desempenha importante papel no controle e ingestão alimentar, no sono, na fadiga e no humor (MEDEIROS et al., 2005; TURNER et al., 2006).

As aminas biogênicas podem apresentar efeitos fisiológicos relevantes, entretanto, quando estão em concentrações elevadas na dieta, podem causar efeitos nocivos à saúde humana. A intoxicação mais freqüente causada por aminas envolve a histamina, como resultado da ingestão de alimentos contendo níveis elevados deste composto (LIMA

& GLÓRIA, 1999). Dores de cabeça, vômito, edema, diarreia e hipertensão são os sintomas observados, podendo também ocorrer edema de glote (ROSSATO, 2005).

2.1.2 Aminas biogênicas no leite humano

Com relação aos teores médios de aminas biogênicas no leite humano, ARAÚJO (2003) observou uma maior concentração de serotonina, seguida da tiramina, histamina, feniletilamina e cadaverina. A triptamina não foi encontrada em níveis detectáveis em nenhuma amostra. De um modo geral, verificou-se que a idade materna, estado nutricional materno, tipo de gestação e paridade não influenciaram os teores totais de aminas biogênicas.

Em um estudo realizado por DINIZ (2005), foi confirmado que a amina biogênica que ocorreu em maior concentração no leite humano foi a serotonina. Tiramina, histamina e triptamina ocorreram em pequenas concentrações. Não foram detectadas feniletilamina e cadaverina.

2.2 Poliaminas

As poliaminas são moléculas alifáticas com grupos amino distribuídos ao longo de suas estruturas. São classificadas em espermidina, espermina e agmatina, e estão presentes em todas as células vivas.

As poliaminas são solúveis em água, estão completamente protonadas em pH fisiológico e são ligadas fortemente com macromoléculas como DNA e RNA. As poliaminas também estão ligadas às estruturas de membranas como os fosfolipídios, principalmente nos eritrócitos (LARQUÉ et al., 2007). As enzimas envolvidas na biossíntese de poliaminas estão exclusivamente localizadas no meio intracelular, onde participam dos processos de transcrição do DNA e transdução do RNA. Portanto, as poliaminas exercem papel importante na proliferação celular, crescimento celular, síntese de proteína e ácidos nucleicos (JEEVANANDAM & PETERSEN, 2001).

As funções das poliaminas dependem de cargas elétricas, que são essenciais para as interações eletrostáticas com constituintes carregados negativamente (DNA, RNA, proteínas, etc). A energia de ligação diminui de acordo com o número de cargas (espermina > espermidina). Isto demonstra que a espermina é mais ativa no controle de vários processos biológicos (LARQUÉ et al., 2007). A agmatina não tem funções muito

esclarecidas. Recentemente foi verificado que a agmatina é um importante neurotransmissor em mamífero, relacionada com mecanismos antinocepsivos, e de neuroproteção pós-injúria, ansiedade, epilepsia e depressão (OLIVEIRA, 2005).

As poliaminas podem ser sintetizadas a partir da ornitina por uma reação catalisada pela enzima ornitina descarboxilase (ODC), que produz a putrescina (Figura 3). A enzima ODC tem uma meia-vida muito curta (aproximadamente 10 min.) e sua concentração aumenta depois de um estímulo do crescimento. A síntese da espermidina requer duas enzimas: adenosil-metionina descarboxilase (meia-vida de 1-2 h) que descarboxila a S-adenosilmetionina (SAM); e espermidina sintetase, uma aminopropil transferase que transfere o grupo propilamino para a SAM descarboxilada à putrescina para formar espermidina (JEEVANANDAM & PETERSEN, 2001). A espermidina é similarmente convertida em espermina pela espermina sintetase, que adiciona um segundo grupo propilamina do SAM. O conteúdo de poliamina intracelular é fortemente regulado pela atividade de duas enzimas chave, ODC e SAM descarboxilase.

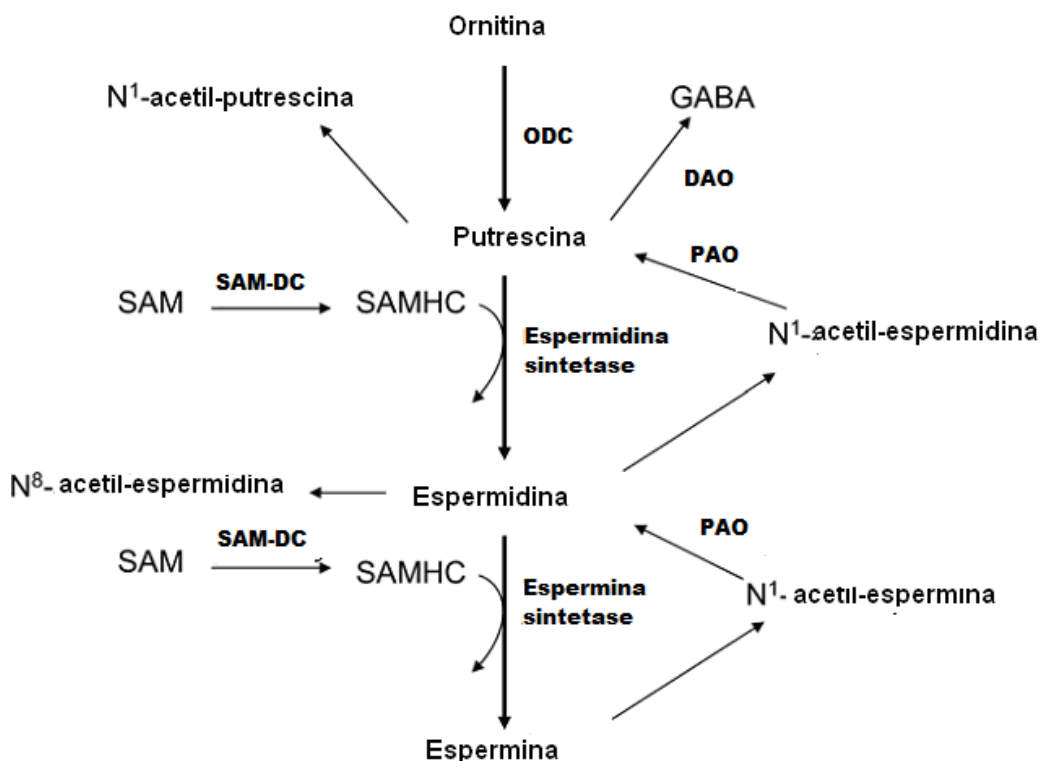


Figura 3 - Síntese e interconversão de poliaminas.

DAO, diamina oxidase; GABA, ácido gama aminobutírico; ODC, ornitina descarboxilase; PAO, poliamina oxidase; SAM, S-adenosilmetionina; SAM-DC, S-adenosilmetionina descarboxilase; SAM-HC, S-adenosilmetionina homocisteamina. Fonte: Adaptado de LARQUÉ et al. (2007).

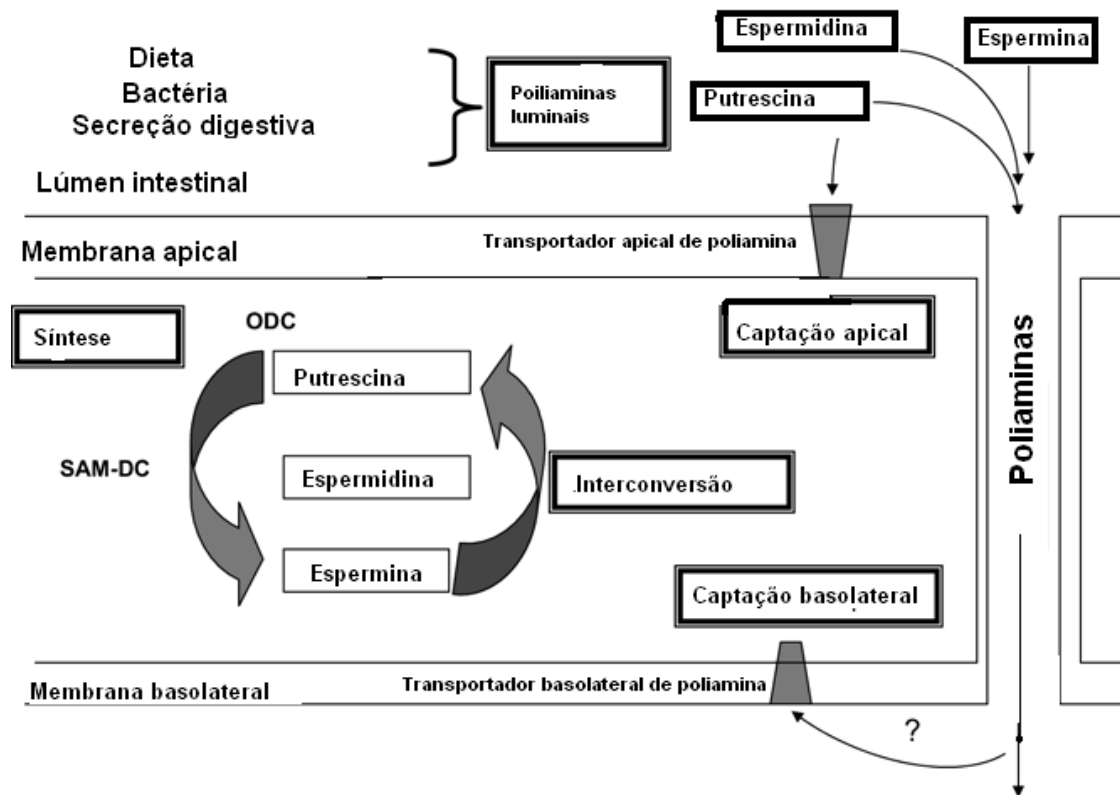


Figura 4 - Mecanismo de absorção das poliaminas.

Fonte: Adaptado de LARQUÉ et al. (2007).

O principal passo no catabolismo das poliaminas é limitado a uma interconversão, já que a administração de putrescina, espermidina ou espermina marcadas para um animal resulta em uma rápida marcação radioativa das outras duas aminas. A interconversão metabólica de poliaminas não é restrita ao fígado ou a certas espécies, mas mostra-se como sendo um fenômeno geral em organismos superiores. A interconversão é essencialmente uma seqüência de reações que produzem espermidina e espermina da putrescina e degrada a poliamina novamente na direção reversa pela acetilação e oxidação (JEEVANANDAM & PETERSEN, 2001). A interconversão de poliamina é desempenhada por duas reações acopladas: acetilação, mediada pela ação de uma coenzima A: poliamina N-acetil-transferase, e clivagem pela ação da enzima poliamina oxidase (PAO). Reações de acetilação são os principais mecanismos usados pelas células para controlar o pool intracelular de poliaminas livres (LARQUÉ et al., 2007).

A perda irreversível de poliaminas ocorre pela acetilação e, portanto, eliminação pela excreção. O aumento da excreção de acetil-poliamina é um mecanismo para reduzir a concentração de poliamina intracelular. Os fatores que influenciam o padrão urinário de excreção de poliaminas incluem a proporção de formação de poliamina em vários órgãos,

atividade metabólica dentro dos tecidos, a proporção das células e a atividade catabólica na circulação, e a proporção de células mortas em vários órgãos (JEEVANANDAM & PETERSEN, 2001).

2.2.1. Poliaminas em leite humano

Funções das poliaminas no leite humano

Alguns estudos têm demonstrado que as poliaminas presentes no leite humano podem estimular a proliferação e a maturação do epitélio do trato gastrointestinal em recém-nascidos. Depois do nascimento, a maturação do sistema digestivo caracteriza-se por uma mudança na expressão do gene no intestino, uma diminuição da permeabilidade a macromoléculas, desenvolvimento do fígado e do sistema imune. Esse desenvolvimento poderia ser controlado pela ingestão de poliaminas. O consumo insuficiente de poliaminas pode estar associado a uma indução de sensibilização por substâncias alergênicas encontradas na dieta. De acordo com DANDRIFOSSE et al. (2000), teores de espermina no leite humano acima de 5,02 nmol/mL demonstraram reduzido risco de desenvolvimento de alergia, podendo ser uma ferramenta no diagnóstico para determinar se a criança poderá desenvolver alergias.

O desenvolvimento de doenças alérgicas tem sido relacionado com eventos imunológicos precoces. Fatores que influenciam a integridade intestinal e funções imunológicas poderiam explicar o papel do aleitamento materno no desenvolvimento de manifestações alérgicas prematuras na vida. Dessa forma, DUCHÉN & THORELL (1999) avaliaram a composição de poliaminas no colostro e no leite maduro de mães atópicas e não-atópicas e a relação de sensibilização aos alérgenos do ovo, do leite e de gato em crianças durante o primeiro ano de vida. Os teores de poliaminas foram similares em ambos os grupos. Entretanto, os de putrescina e espermina foram menores em leite maduro de mães atópicas em relação aos de mães não-atópicas. Nenhuma relação foi encontrada entre os níveis de putrescina e espermina e o desenvolvimento de atopia em crianças. Os autores concluíram que baixos teores de putrescina e espermina podem estar relacionados com o desenvolvimento de atopia materna.

Com o objetivo de observar a influência das poliaminas sobre o desenvolvimento de células do epitélio intestinal *in vitro*, CAPANO et al. (1998) estudaram os leites humano, bovino, de rato e fórmula infantil e células IEC-6 das criptas intestinais. Algumas destas foram tratadas com difluorometilornitina (DMFO), um inibidor da síntese de

poliaminas. Os autores concluíram que o leite humano e de rato estimularam a proliferação de células IEC-6 e a adição de DMFO não reverteu o efeito estimulatório. O leite bovino e a fórmula infantil não estimularam a proliferação e não preveniram a inibição do DMFO sobre o crescimento.

Ocorrência de poliaminas em leite humano

Os teores de poliaminas podem variar no leite humano de diferentes mães. Essas variações individuais podem ocorrer em função da dieta, estilo de vida, fase da lactação, genética, idade, dentre outros. Na tabela 3 estão indicados os teores de poliaminas no leite humano associados a alguns fatores maternos. ARAÚJO (2003) demonstrou que a poliamina predominante nas diferentes fases de lactação foi a espermina. O teor desta poliamina e os teores totais de aminas decresceram durante o tempo de lactação. Os teores de espermidina foram maiores no leite de transição.

Ainda, de acordo com ARAÚJO (2003), a idade, o tipo de gestação, o estado nutricional e a paridade das mães afetaram significativamente alguns tipos de poliaminas. Os teores totais de poliaminas foram maiores no leite de transição das mães com idade menor que 34 anos. A espermina, por outro lado, estava presente em maior concentração no leite de transição de mães com menos de 34 anos.

Quanto ao tipo de gestação, o colostro de mães a termo apresentou um teor maior de poliaminas do que o de mães pré-termo. Quanto ao estado nutricional da mãe, teores maiores de espermidina foram encontrados em leite de transição e leite maduro de mães com IMC < 18 kg/m². Os teores de espermina foram maiores em colostro de mães com IMC de 18 a 24,9 e em leite de transição de mães com IMC < 18 kg/m². Estes resultados indicam que o sobrepeso (IMC ≥ 30 kg/m²) afeta negativamente os teores de poliaminas no leite.

DINIZ (2005) verificou que mães com IMC ≥ 20,3 kg/m² 30 dias pós-parto apresentaram teores de espermina e espermidina superiores aos das mães com IMC < 20,3 kg/m² 30 dias pós-parto. O leite de mães com idade inferior a 20 anos apresentou teores de espermina e espermidina maiores que àqueles encontrados no leite de mães com idade igual ou superior a 20 anos. Os teores de poliaminas foram maiores em primíparas que nas multíparas.

Tabela 3 - Teores das poliaminas espermina e espermidina no leite humano

Referência / amostra	Espermina	Espermidina
ARAÚJO (2003)	Teor (mg/L)	
Fase de lactação:		
Colostro	1,43	0,74
Leite de transição	1,07	1,05
Leite maduro	0,85	0,60
Tipo de gestação:		
A termo (colostro)	1,43	0,81
Pré-termo (colostro)	1,03	0,61
A termo (leite de transição)	1,07	1,14
Pré-termo (leite de transição)	0,96	0,89
A termo (leite maduro)	0,85	0,62
Pré-termo (leite maduro)	0,86	0,57
Idade:		
≤ 20 anos (colostro)	1,40	0,61
21-34 anos (colostro)	1,52	0,78
≥ 35 anos (colostro)	1,12	0,96
≤ 20 anos (leite de transição)	1,26	1,12
21-34 anos (leite de transição)	1,01	0,98
≥ 35 anos (leite de transição)	0,52	0,79
≤ 20 anos (leite maduro)	0,99	0,99
21-34 anos (leite maduro)	0,82	0,81
≥ 35 anos (leite maduro)	0,62	0,68
Estado nutricional (IMC – kg/m²):		
< 18 (colostro)	1,24	1,09
18-24,99 (colostro)	1,27	0,85
25-29,99 (colostro)	0,53	0,80
≥ 35 (colostro)	1,24	0,59
< 18 (leite de transição)	2,90	1,29
18-24,99 (leite de transição)	1,21	0,85
25-29,99 (leite de transição)	0,82	0,70
≥ 35 (leite de transição)	0,88	0,80
< 18 (leite maduro)	0,69	0,54
18-24,99 (leite maduro)	0,63	0,48
25-29,99 (leite maduro)	0,58	0,45
≥ 35 (leite maduro)	0,43	0,38
Número de gestações		
Primíparas (colostro)	0,03	0,03
Múltiparas (colostro)	0,04	0,04
Primíparas (leite de transição)	0,03	0,03
Múltiparas (leite de transição)	0,06	0,06
Primíparas (leite maduro)	0,04	0,04
Múltiparas (leite maduro)	0,12	0,03
DUCHÉN & THORELL (1999)	Teor (µmol/L)	
Colostro	1,2	2,9
Leite maduro	1,0	2,7
Leite maduro de mães atópicas	0,6	3,8
Leite maduro de mães saudáveis	1,0	2,6
DINIZ (2005)	Teor (mg/L)	
Idade < 20 anos	1,03	0,54
Idade ≥ 20 anos	0,51	0,44
Primíparas	0,73	0,41
Múltiparas	0,54	0,32
Gordura corporal < 34%	0,73	0,30
Gordura corporal ≥ 34%	0,52	0,43
IMC pré-gestacional < 19,8 kg/m ²	1,23	0,45
IMC pré-gestacional ≥ 19,8 kg/m ²	0,55	0,50
IMC 30 dias pós-parto < 20,3 kg/m ²	0,38	0,24
IMC 30 dias pós-parto ≥ 20,3 kg/m ²	0,64	0,63

DORHOUT et al. (1996) coletaram o leite de 24 h de mães alemãs no período pós-natal (16, 44 e 91 dias). Comparando-se o 16º e 44º dias, as concentrações de espermina, espermidina e poliaminas totais diminuíram, mas não mudou no 44º e 91º dias. Estes pesquisadores estimaram também a proporção de poliaminas no leite e no plasma maternos, utilizando a concentração média de poliaminas encontradas neste estudo e a concentração média de poliaminas no plasma adulto (espermidina = 0,19 µM, e espermina = 0,05 µM). Esta proporção foi avaliada no período 16º a 91º pós-parto, sendo 14/24 (espermidina) e 44/75 (espermina). As poliaminas do leite podem ser derivadas da captação ativa do plasma e da síntese de novo na glândula mamária, e posteriormente no secretadas no leite.

BUTS et al. (1995) avaliaram amostras de leite humano coletadas todos os dias durante a primeira semana pós-parto. Os níveis de espermidina e espermina aumentaram durante os três primeiros dias pós-parto, atingindo um platô que foi 12 e 8 vezes maior, respectivamente, quando comparado ao primeiro dia pós-parto.

Em estudo realizado por ROMAIN et al. (1992), as concentrações de poliaminas foram determinadas nos seis primeiros meses de lactação em 60 mães. No primeiro mês de lactação as amostras foram coletadas diariamente. Nos outros meses, as amostras foram coletadas uma vez por semana. De maneira geral, as concentrações de espermina e espermidina apresentaram valores maiores no final da primeira semana de amamentação. Regressões individuais obtidas entre a 5ª e a 20ª semana de lactação mostraram que a concentração de putrescina aumentou, enquanto as concentrações de espermina e espermidina permaneceram constantes, apesar de ter uma tendência à redução, mas não significativa.

2.3 Métodos para determinação de aminos bioativas

DORHOUT et al. (1996) determinaram as concentrações de poliaminas livres em leite humano utilizando cromatografia a gás com detecção nitrogênio-fósforo. O método consistiu em uma etapa prévia de purificação, necessária para remover a maioria da gordura do leite. Em 0,5 mL de leite adicionou-se 12,5 nmol de uma mistura padrão: 1,6-diaminohexano, 1,7-diaminoheptano, amina bis (3-aminopropil), N-(3-aminopropil)-1,5-diaminopentano e N,N'-bis(3-aminopropil)1,5-diaminopentano. Esta mistura foi adicionada em 400 µL de HCl 0,1 mol/L; 0,5 mL de água; e ~350 mg de NaCl e 1 gota de HCl a 37%. Os lipídios foram extraídos com 3 x 3 mL de éter etílico. A camada aquosa

foi desproteïnizada pela adição de 1,5 mL de ácido sulfossalicílico a 12% e congelamento a -20  C. Depois do descongelamento e centrifugação, os sobrenadantes foram transferidos para tubos plásticos e o pH foi ajustado para 9, sendo submetido a cromatografia gasosa.

As amins bioativas são quantificadas principalmente por métodos cromatográficos (cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE) usando um detector por fluorescência por ser esta altamente sensível, o que   necessário para a detecção dos níveis fisiológicos dessas substâncias (LARQUÉ et al., 2007). De fato, resultados foram obtidos por ARAÚJO (2003) e DINIZ (2005) utilizando estas condições. Amostras de leite humano (10 mL) foram adicionadas de 1,2 g de ácido sulfossalicílico sólido, agitadas por 5 min e posteriormente centrifugadas a 10000 x g a 4  C por 20 min. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro quantitativo Whatman no. 1 e depois filtrado em membrana de 0,45  m, separado e quantificado por CLAE par i nico, derivação p s-coluna com o-ftalaldialde do e detecção fluorimétrica a 340 nm de excitação e 445 nm de emissão. Foi utilizada coluna  Bondapack C18 (Waters, Milford, MA, EUA), e fase móvel composta de A: tampão acetato, pH 4,9 contendo 10 mmol/L de octanossulfonato de sódio e B: acetonitrila em gradiente de eluição (tempo em min/% B): 0,01/11, 13/11, 19/29, 24/11, e 55/11. As amins foram identificadas por comparação do tempo de retenção com o de padrões e confirmadas pela adição da amina suspeita à amostra. As amins foram quantificadas por interpolação em curva analítica dos padrões (VALE & GLÓRIA, 1997).

3. BANCO DE LEITE HUMANO

Segundo a ANVISA (2006), o Banco de Leite Humano (BLH) deve ser um serviço especializado, responsável por a es de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno e execução de atividades de coleta da produção l tica da nutriz, do seu processamento, controle de qualidade e distribu o.

O Posto de Coleta de Leite Humano (PCLH)   uma unidade fixa ou móvel, intra- ou extra-hospitalar, vinculada tecnicamente a um BLH e, administrativamente, a um serviço de saúde ou ao próprio BLH. O PCLH   responsável por a es de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno e execução de atividades de coleta da produção l tica da nutriz e sua estocagem, não podendo executar as atividades de processamento do leite humano, que é exclusiva do BLH (ANVISA, 2007).

A implantação de um BLH pode constituir um valioso recurso para recuperação de crianças prematuras, pois se define como uma área física capacitada a coletar, armazenar e distribuir adequadamente o leite humano (ASSIS et al., 1983).

Nos casos de interrupção temporária da amamentação são recomendadas atitudes e condutas para que a lactação seja mantida, como a realização de ordenhas regulares da mama. Por outro lado, quando for indicada a interrupção temporária do aleitamento materno devido ao tratamento medicamentoso, o leite ordenhado da própria mãe deve ser desprezado e não deve ser utilizado (ANVISA, 2007).

3.1 Captação de doadoras

O BLH e PCLH devem estabelecer programas capazes de garantir a captação de um número adequado de doadoras de forma a atender a demanda dos receptores das unidades assistidas. São consideradas doadoras, as nutrizes saudáveis que apresentam secreção láctea superior às exigências de seu filho e que se dispõem a doar o excedente por livre e espontânea vontade. São também doadoras, as nutrizes que estão temporariamente impedidas de amamentar seus filhos diretamente no peito, por razões ligadas a saúde dos mesmos, ou cujos filhos estão internados em unidades neonatais ou outras unidades hospitalares, e que ordenham leite para estimular a produção ou para consumo exclusivo de seus filhos (ANVISA, 2007).

A seleção das doadoras será realizada pelo médico responsável pelo BLH. Deve ser realizada uma triagem das doadoras por profissional capacitado, mediante o preenchimento de um formulário de cadastro contendo dados pessoais, verificação de doenças e intercorrências, exames bioquímicos e dados antropométricos (ANVISA, 2007).

A ordenha deve ser conduzida com rigor higiênico-sanitário capaz de garantir a manutenção das características imunobiológicas e nutricionais do leite. Para tanto, a doadora deve estar em um ambiente que não traga risco à qualidade microbiológica do leite; prender obrigatoriamente os cabelos com gorro; proteger a boca e narinas com máscara; usar exclusivamente utensílios previamente esterilizados para a coleta do leite; lavar as mãos e antebraços com água corrente e sabão até os cotovelos; as unhas devem estar limpas e de preferência curtas; as mamas devem ser lavadas apenas com água; desprezar os primeiros jatos de leite (0,5 a 1,0 mL). No caso de novas coletas para complementação do volume já coletado anteriormente, a doadora deve usar um copo de vidro fervido por 15 minutos (contados a partir do início da fervura) e resfriado e, ao final

da coleta, acrescentar o leite ordenhado ao frasco com leite congelado e levá-lo imediatamente ao congelador, evitando o degelo. A nutriz deve estar atenta para não preencher toda a capacidade do frasco, deixando sempre o volume 2 a 3 cm abaixo da borda (ANVISA, 2007) para permitir a expansão do volume durante a etapa de congelamento.

ARAUJO (2003) observou que os teores de poliaminas no leite humano maduro cru coletado diretamente da mãe apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparado às amostras disponibilizadas nos BLH. O primeiro apresentou um maior teor de espermina e as amostras do BLH apresentaram um conteúdo maior de espermidina. Este autor observou também que a pasteurização efetuada nos BLH (62,5 °C/30 min.) influenciou os teores de aminos no leite, ocorrendo diminuição nos teores das poliaminas (espermina e espermidina).

Desta forma, estudos são necessários para determinar se realmente as condições atuais de manuseio e processamento nos BLH podem causar alterações na composição do leite com relação aos teores de aminos. Estes estudos são relevantes para propor um processamento adequado do leite pasteurizado para maximizar a sua semelhança com o leite humano cru próprio para o consumo.

3.2 Pasteurização do leite

O leite humano ordenhado coletado nos BLH deve ser pasteurizado antes de sua distribuição aos interessados. A pasteurização consiste no tratamento térmico e resfriamento rápido do leite humano, com o objetivo de inativar 100% dos microrganismos patogênicos e 99,9% da microbiota saprófita (BRAGA & PALHARES, 2007).

Apesar desses eventos apresentarem baixa frequência, o domínio das condutas relacionadas à garantia de inexistência de tais fatores no leite doado, representa atitude de proteção à vida da criança. Nutrizes acometidas pelos vírus da hepatite, herpes, sarampo, caxumba e rubéola, dentre outros, podem excretar os vírus no seu leite. Portanto, a doação de leite por estas mães deve ser contra indicada.

O desenvolvimento adequado de estratégias para prevenir a transmissão de doenças de mãe para filho através do leite humano, principalmente, o vírus HIV tipo 1 (HIV-1) torna-se muito importante, principalmente, em populações carentes. O tratamento térmico é uma das opções sugeridas pela OMS e demonstra ser uma estratégia simples e barata, aplicável em áreas empobrecidas (HARTMANN et al., 2006).

O leite humano deve ser pasteurizado a 62,5 °C por 30 min. (tempo de letalidade térmica), contados após o tempo de pré-aquecimento, que é o tempo necessário para que o leite atinja a temperatura de 62,5 °C. Para isto, é necessária a elaboração da curva de penetração de calor, definindo o número de frascos, o volume do leite em cada frasco e as especificações do equipamento (marca, modelo, capacidade e potência). A temperatura da água para a elevação e manutenção da temperatura do leite a 62,5 °C deve ser sempre superior a este valor em 2 a 3 °C. Na construção da curva, a temperatura da água deve ser definida e monitorada. 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 humano e no centro do frasco (ANVISA, 2007).

A temperatura de pasteurização do leite humano deve ser monitorada a cada 5 minutos, com registro em planilha específica. Outra exigência se refere ao ambiente no qual a pasteurização é realizada. Este deve ser limpo e desinfetado imediatamente antes do início de cada ciclo, ao término das atividades e sempre que necessário. Portanto, a pasteurização do leite a 62,5 °C por 30 min. garante a distribuição de um produto seguro e isento de microrganismos patogênicos. Possibilita também a inativação das partículas do HIV, tanto na forma livre quanto, no interior de células infectadas (ANVISA, 2007).

Entretanto, SERAFINI et al. (2003), ao analisarem amostras de leite humano cru e pasteurizado em um BLH, verificaram que no leite pasteurizado houve eliminação da grande maioria de microrganismos potencialmente patogênicos. Porém, a porcentagem de bolores e leveduras excedeu a do leite cru, mostrando a necessidade de obtenção de um leite com carga microbiana inicial baixa para que a pasteurização seja eficiente no controle microbiológico.

Na doença de Chagas, o agente etiológico *Trypanossoma cruzi* pode ser excretado no leite, sobretudo na fase aguda da doença. Entretanto, a infecção aguda no lactente parece ter evolução benigna e seqüelas tardias raras. Experimentos em laboratório demonstraram que a pasteurização do leite humano é eficaz e previne a transmissão da doença. Um estudo avaliou três amostras de leite humano: contaminadas por *T. cruzi* e pasteurizadas; contaminadas por *T. cruzi* e não pasteurizadas; não contaminadas e pasteurizadas. As amostras foram pasteurizadas por imersão em banho-maria a 62,5 °C/30 min e, posteriormente, resfriadas em água gelada por 10 min. Essas amostras foram inoculadas em ratos por via oral e intraperitoneal. Os animais inoculados com leite contaminado e não pasteurizado infectaram-se, já os controles e os inoculados com leite contaminado e pasteurizado não se infectaram. Desta forma, a pasteurização inativou as

formas tripomastigotas de *T. cruzi* em suspensão no leite (FERREIRA et al., 2001).

BRAGA & PALHARES (2007) investigaram os efeitos da pasteurização do leite humano nas características bioquímica e imunológica e na osmolaridade. A pasteurização do leite humano realizada a 62,5 °C por 30 min não mostrou alterações na concentração dos elementos sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, proteína, gordura, lactose, e na osmolaridade. No entanto, mostrou redução significativa na concentração média de imunoglobulina A.

No trabalho de COSTA et al. (2003), o objetivo foi avaliar o efeito da pasteurização sobre as concentrações de ferro, cobre e zinco em colostro de mães de bebês pré-termo e a termo. As amostras de colostro foram coletadas manualmente entre o primeiro e sétimo dia de lactação e submetidas à pasteurização a 62,5 °C por 30 min. Os autores concluíram que houve uma diferença na média das concentrações dos elementos analisados, indicando que a pasteurização reduziu os níveis dos mesmos.

ARAÚJO (2003) analisou amostras de leite cru e o leite pasteurizado a 62,5 °C por 30 min. As aminas detectadas foram putrescina, espermina, espermidina e cadaverina. Verificou-se que o tratamento térmico acarretou uma redução nos teores dessas aminas, exceto para putrescina. A perda nos teores de aminas totais foi de 47,3%, sendo maior para a cadaverina (87,5%), seguida da espermina (81,3%) e espermidina (64,5%). O aumento da putrescina foi de 176,3%.

Baseado nestes estudos observa-se que a pasteurização utilizada hoje nos BLH tem um efeito negativo sobre alguns componentes do leite humano, havendo, portanto, a necessidade de estudos de otimização desta etapa do processamento para minimizar as perdas de nutrientes.

Tipos alternativos de pasteurização

Há tipos alternativos para a pasteurização do leite humano, como a pasteurização rápida e a pasteurização Pretoria. Algumas variações no binômio temperatura/tempo durante a pasteurização do leite humano foram investigadas com o objetivo de se prevenir a perda de nutrientes. TERPSTRA et al. (2007) utilizaram a pasteurização rápida, 72 °C/15 s no leite humano. Observaram o efeito antibacteriano (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*) e antiviral com relação a vírus envelopados HIV, HTLV (vírus linfoma T humano) e não-envelopados de hepatite A desta pasteurização. Entretanto relataram que o método era de alto custo.

GOLDBLUM et al. (1984) realizaram um tipo de pasteurização rápida em

pasteurizador por placas. A temperatura das placas do aquecedor e do resfriador foram controladas pelo fluxo do vapor e da água, respectivamente. A proporção do fluxo do leite foi controlada por uma válvula de pressão do tanque com o leite humano. Havia também um aparato que controlava o tempo. Foram avaliados os tempos de 1, 3 e 15 s em temperaturas de 72 e 87 °C em leite adicionado de 10^6 a 10^7 UFC de citomegalovírus. Não foi detectada infectividade por citomegalovírus após 5 s de aquecimento a 72 ou 87 °C.

ISRAEL-BALLARD et al. (2006) verificaram a capacidade da pasteurização rápida em eliminar e prevenir o crescimento das bactérias quando comparado com o leite humano não tratado pelo calor. As amostras foram provenientes de mães africanas HIV positivas. Essas amostras foram armazenadas em ambiente com temperatura controlada por 0, 2, 6 e 8 h, plaqueadas e incubadas a 37 °C por 24 h. Foi feita a contagem total de colônias e identificadas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e estreptococos dos Grupos A e B. Os resultados demonstraram que as amostras que não foram submetidas ao tratamento térmico apresentaram um elevado crescimento de *E. coli* e *S. aureus*. Nenhum crescimento de microrganismo patogênico foi observado nas amostras tratadas pela pasteurização rápida (56 a 72,9 °C/6 min.).

A pasteurização Pretoria, desenvolvida pelo Hospital de Kalafong e a Universidade de Pretoria, África do Sul, consiste em colocar o leite humano dentro de um recipiente de vidro, o qual é aquecido em banho-maria (450 mL de água em uma panela de alumínio) a 56 a 62,5 °C por mais de 15 minutos (HARTMANN et al., 2006). ISRAEL-BALLARD et al. (2005) compararam o impacto da pasteurização rápida e da pasteurização Pretória sobre o HIV, alguns nutrientes e propriedades antimicrobianas do leite humano. Estes pesquisadores verificaram que ambos os métodos inativaram HIV-1. Nenhum método causou redução significativa das vitaminas, embora reduções de vitaminas C e E foram observadas. O tratamento térmico reduziu a imunoreatividade da lactoferrina, mas não as proporções de lactoferrina e lisozima sobreviventes à digestão. A pasteurização rápida demonstrou conservar mais a atividade antibacteriana.

A efetividade da pasteurização Pretoria foi também confirmada por JEFFERY et al. (2001), na inativação do vírus HIV no leite humano de mães soropositivas e não houve evidência de replicação viral. Estes autores observaram ainda que este tipo de pasteurização foi eficaz em eliminar bactérias patogênicas do leite humano e que, após esse processo, o leite humano pasteurizado pode ficar sem refrigeração por 12 h.

FERREIRA et al. (2003) avaliaram a eficácia do tratamento térmico do leite por microondas na inativação das formas de *Trypanosoma cruzi* contidas em leite humano.

Acrescentaram, às amostras de leite humano, tripomastigostas de *T. cruzi* (cepa Y) proveniente de camundongos infectados em laboratório. Essas amostras foram aquecidas a 63 °C/7 min., 45% de potência, em forno de microondas doméstico (2450 MHz, 700 W). Exames microscópicos e sorológicos dos animais inoculados, por via oral ou intraperitoneal, com leite infectado e tratado, foram negativos. Os inoculados com leite infectado e não tratado foram positivos. Baseado neste estudo, concluíram que este processo simples foi eficaz para inativar tripomastigostas contidos no leite, podendo ser facilmente executado em ambiente doméstico. Na tabela 4 estão apresentadas algumas vantagens e desvantagens dos diferentes métodos de pasteurização do leite humano.

Tabela 4 - Comparação de diferentes métodos de pasteurização do leite humano

Método	Pasteurização		
	Usual	Rápida	Pretoria
Binômio Temperatura/ Tempo	62 °C/30 min	72 °C/1, 3 ou 15 s	56 a 62,5 °C/15 min
Vantagens	Usada em Bancos de Leite Humano	Não afeta vitaminas B1, B2, B6, C e ácido fólico	Inativação de HIV no leite infectado natural ou artificialmente
	Eliminação e prevenção de crescimento bacteriano. Células livres ou associadas ao HIV não detectadas	Lactoferrina e IgA secretória não se alteraram	Custo baixo
	Preserva a atividade da lisozima	Eliminação e prevenção de crescimento bacteriano	
	Inativação das formas tripomastigotas do <i>T.cruzi</i> .		
	Não houve alteração em Na, K, Ca, P, Mg, proteína e lactose		
Desvantagens	Redução da IgA e perda total de IgM	Alto custo	Difícil controle da temperatura, se realizada em ambiente doméstico
	Perda de lactoferrina		
	Redução de Cu, Fe, Zn e vitamina A		
Referências	FERREIRA et al. (2001) COSTA et al. (2003) RIBEIRO et al. (2005) ISRAEL-BALLARD et al. (2006) BRAGA & PALHARES (2007)	GOLDBLUM et al. (1984) TERPSTRA et al. (2007)	JEFFERY et al. (2001, 2003)

3.3 Armazenamento do leite

Após a pasteurização, o leite humano deve ser estocado sob congelamento a uma temperatura máxima de -3 °C, por um período de até 6 meses. Uma vez descongelado, o leite deve ser mantido sob refrigeração a temperatura máxima de 5 °C com validade de 24 h. O leite humano pasteurizado liofilizado e embalado a vácuo pode ser estocado em temperatura ambiente pelo período de 1 ano (ANVISA, 2006).

ARAÚJO (2003) analisou a influência do armazenamento por 6 meses a -18 °C em amostras de leite humano pasteurizado (62,5 °C/30 min.) e observou um aumento nos teores de putrescina e espermina.

3.4 Métodos utilizados para a avaliação da qualidade do leite humano

Todo leite humano recebido pelo BLH deve ser submetido aos procedimentos de seleção e classificação. A seleção compreende: condições da embalagem; presença de sujidades; cor; *off-flavor*; e acidez em graus Dornic.

Utiliza-se como embalagem para acondicionamento do leite, recipiente de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL. O técnico responsável deve estar atento, no momento do reenvase do leite, de forma que a embalagem em que este será pasteurizado não apresente qualquer corpo estranho. São considerados exemplos de sujidades comumente encontradas no leite humano: pêlos, cabelo, fragmentos de pele, fragmento de unha, insetos, pedaços de papel, vidro etc (ANVISA, 2007).

A cor do leite humano pode variar conforme os seus constituintes, e reflete a preponderância de uma determinada fração. O colostro geralmente varia da cor semelhante à água de coco ao amarelo-alaranjado. A coloração do leite de transição muda gradualmente em até duas semanas, para um branco azulado/opaco, até tornar-se leite maduro (ANVISA, 2007).

Off-flavor é a característica sensorial não-conforme com o aroma original do leite humano ordenhado. Se o leite apresentar cheiro de sabão de coco pode significar rancificação ou se o leite apresentar cheiro de peixe ou de ovo em decomposição pode significar a presença de microorganismos proteolíticos. Cheiro de cloro, plástico, borracha ou remédio pode indicar a capacidade de sorção da lactose o que impede o leite para consumo humano (ANVISA, 2007)

Em decorrência de sua própria composição, o leite humano apresenta uma acidez

original. As micelas de caseína, os sais minerais (dentre os quais destacam-se os fosfatos e citratos), bem como as proteínas do soro do leite, são os principais responsáveis por essa propriedade química. Em termos didáticos, a acidez do leite humano pode ser classificada como original e desenvolvida. A original resulta da presença de seus constituintes, e a desenvolvida decorre do ácido láctico, produzido a partir do crescimento bacteriano. As bactérias, integrantes tanto da microbiota primária quanto da secundária, fermentam a lactose do leite humano, produzindo ácido láctico. Cada molécula de lactose metabolizada produz quatro moléculas de ácido láctico. De maneira prática, a distinção entre acidez original e desenvolvida não se faz importante no momento da mensuração, interessando apenas o conhecimento da acidez total, que reúne as duas (ALMEIDA et al., 2005).

A acidez em graus Dornic do leite humano é a acidez titulável do leite humano ordenhado expressa em °D (ANVISA, 2006).

O leite humano recém-ordenhado, caso titulado imediatamente após a ordenha, apresenta-se praticamente livre de ácido láctico, e sua acidez total pode ser considerada original, com valores oscilando entre 1,0 e 4,0 °D. À medida que sua microbiota encontra condições favoráveis para o crescimento, ocorre a produção de ácido láctico e a conseqüente elevação da acidez (ALMEIDA et al., 2005).

Segundo CAVALCANTE et al. (2005) o aproveitamento do leite humano ordenhado cru com acidez titulável maior que 7 °D para neonatos é inviável por dois motivos: pela redução no teor de creme, gordura total e valor energético; e pelo risco de causar acidose ou alcalose metabólica e enterocolite necrosante. Neste caso, é recomendado desprezar totalmente o leite humano com acidez elevada.

Para a determinação da acidez titulável do leite humano a solução titulante é o hidróxido de sódio N/9, também conhecido como Solução Dornic. Após homogeneização manual do leite, deve-se pipetar 4 mL deste leite a ser analisado, transferir esse volume para um tubo de ensaio previamente resfriado e mantido em banho de gelo. Posteriormente, deve-se pipetar 3 alíquotas de 1 mL da amostra coletada para o interior de 3 tubos de ensaio com capacidade para 5 mL. Antes de pipetar cada alíquota, homogeneizar cuidadosamente o tubo que contém a amostra a ser analisada e adicionar à alíquota de 1 mL de leite humano a ser titulada, uma gota da solução indicadora de fenolftaleína. Proceder à titulação da alíquota de leite humano ordenhado com NaOH N/9, gota-a-gota, agitando o tubo de ensaio. O leite deve ser agitado, permanentemente, com auxílio de movimentos leves, para evitar a incorporação de ar ao produto. Interromper o procedimento quando houver a viragem do indicador, que passa a assumir

coloração róseo-clara (“rosa-bebê”). Depois proceder à leitura, cada 0,01 mL de NaOH N/9 gasto corresponde a 1,0 °D (grau Dornic). O valor final da acidez Dornic corresponde à média aritmética dos três valores obtidos na análise individual de cada amostra. Considera-se normal para a acidez do leite humano qualquer valor situado na faixa de 1,0 a 8,0 °D (ALMEIDA et al., 2005).

O leite humano ácido não atende os requerimentos nutricionais de crianças prematuras, baixo peso, e recém nascidos imunodeprimidos. A acidez desestabiliza caseínas, promove a coagulação, aumenta a osmolaridade, altera o flavor (sabor e odor) e reduz as propriedades imunobiológicas do leite. Algumas bactérias utilizam os carboidratos do leite como fonte de energia produzindo ácido lático, que ionizado em meio aquoso torna os minerais fósforo e cálcio indisponíveis (GALHARDO et al., 2002).

A classificação do leite compreende a verificação do período de lactação; da acidez em graus Dornic; e do crematócrito (ANVISA, 2007). Quanto ao período de lactação, o leite humano deverá ser classificado em colostro, leite humano de transição e leite humano maduro. Para determinar a classificação, deverá ser considerada a informação da idade gestacional no momento do parto e a idade da lactação em dias em que o leite foi coletado (ANVISA, 2007).

O crematócrito é a técnica analítica que permite o cálculo estimado do conteúdo energético do leite humano ordenhado (ANVISA, 2006). Primeiramente, o frasco contendo o leite humano deve ser homogeneizado. Pipetar 1 mL de leite, transferir esse volume para tubo de ensaio de 5 mL e aquecer em banho-maria a 40 °C/15 min. Depois coletar, de forma independente, 3 alíquotas de 75 µL, de cada uma das amostras de leite humano ordenhado com auxílio de tubos microcapilares. Centrifugar por 15 min., observando a velocidade que o fabricante da centrífuga indica para a realização do teste de micro-hematócrito. Duas colunas serão observadas: em uma extremidade fica a coluna de creme e na outra a coluna de soro (ALMEIDA et al., 2005).

A avaliação do teor de creme, do teor de gordura e o conteúdo calórico devem ser obtidos pelas fórmulas indicadas a seguir. O valor final do crematócrito corresponde à média aritmética encontrada das três alíquotas coletadas (ALMEIDA et al., 2005).

Avaliação do Teor de Creme

Coluna de creme (mm) x 100 ÷ Coluna total (mm) = % de creme

Avaliação do Teor de Gordura

(% de creme – 0,59) ÷ 1,46 = % de gordura

Cálculo do Conteúdo Energético Total

(% de creme x 66,8 + 290) = kcal/L

O controle de qualidade microbiológico do leite humano utiliza microrganismos indicadores de qualidade sanitária. A contagem de coliformes totais é feita como um controle de qualidade microbiológico, por ser de cultivo simples, economicamente viável e seguro (NOVAK et al., 2001).

A partir do procedimento clássico para detecção de coliformes totais, foi desenvolvida uma metodologia alternativa que consiste no inóculo de quatro alíquotas de 1 mL cada, pipetadas de forma independente e inoculados em tubos com 10 mL de Caldo Bile Verde Brilhante (BGBL) a 50 g/L (5% p/v), com tubos de Durham em seu interior. Após a inoculação e incubação a 36 ± 1 °C/24 a 48 h, a presença de gás no interior do tubo de Durham caracteriza resultado positivo. Os resultados positivos, devem ser confirmados para tubos contendo BGBL na concentração de 40 g/L (4% p/v). Após a incubação destes tubos por igual período, a presença de gás indica a existência de microrganismos do grupo coliforme, confirmando que o produto é impróprio para consumo (ALMEIDA et al., 2005).

ALMEIDA & DÓREA (2006) avaliaram amostras de leite humano de um BLH de Brasília e verificaram que 90,9% eram constituídas de leite maduro com uma média total de energia de 529 ± 85 kcal/L. O colostro e o leite de transição apresentaram, respectivamente, um conteúdo energético de $537 \pm 36,3$ kcal/L e $521 \pm 42,2$ kcal/L.

NOVAK & CORDEIRO (2007), ao analisarem amostras de leite humano em um BLH, observaram que houve uma correlação positiva entre a acidez e a contagem de microrganismos aeróbicos mesofílicos. Portanto, a acidez Dornic pode ser um método indireto para avaliar o crescimento bacteriano.

Estes poucos dados disponíveis sobre a qualidade de leite humano em BLH destacam a necessidade de estudos sobre o tema de forma a fornecer subsídios sobre as futuras políticas de captação de leite para os bancos de leite.

CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

1. CASUÍSTICA

Este estudo foi realizado no Banco de Leite Humano Dona Mariquinha da Coordenadoria de Vigilância à Saúde subordinada à Secretaria de Saúde da Prefeitura de Betim, MG. O contato inicial foi realizado com a Coordenadora de Vigilância à Saúde, mediante apresentação do estudo (Apêndice 1).

Foram coletados e analisados relatórios arquivados, de 2006 e 2007, sobre as atividades desenvolvidas pela equipe do BLH. Estes continham informações sobre as atividades desenvolvidas pelo BLH durante estes anos, compreendendo tipos e número de visitas domiciliares, volume do leite coletado, volume do leite distribuído conforme as instituições contempladas e capacitações realizadas quanto ao aleitamento materno.

Em 2008 foram coletadas amostras de leite humano no período de janeiro a março. As amostras foram analisadas quanto à acidez, crematócrito e coliformes totais. Foi verificado também a estrutura física e equipamentos do BLH.

Foram realizados estudos sobre a influência da pasteurização na qualidade e teores de amins bioativas do leite. Amostras de leite humano pertencentes a 21 doadoras foram coletadas no período de fevereiro a março. As amostras foram coletadas aleatoriamente, sendo consideradas aquelas amostras com acidez entre 1 a 7 °D. Foi avaliado o período de lactação em que a mãe se encontrava no momento da doação do leite.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, conforme parecer nº 08/02 (Anexo 1).

2. MATERIAL

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico, exceto os solventes utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência que eram de grau cromatográfico.

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura obtida em Sistema Milli-Q Plus (Millipore Corp., Milford, MA, EUA). As fases móveis foram filtradas em membrana de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de poro (Millipore Corp., Milford, MA, EUA) tipos HAWP e HVWP para reagentes aquosos e solventes orgânicos, respectivamente.

Os padrões de aminas bioativas (diidrocloreto de putrescina - PUT, diidrocloreto de cadaverina - CAD, diidrocloreto de histamina - HIM, hidrocloreto de tiramina - TIM, tetraidrocloreto de espermina - EPM, triidrocloreto de espermidina – EPD, complexo sulfato creatinina agmatina - AGM, hidrocloreto de 2-feniletilamina - FEA, hidrocloreto de 5-hidroxitriptamina ou serotonina – SRT), foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA).

3. MÉTODOS

3.1 Estudos das práticas de coleta do leite humano no BLH nos anos de 2006 a 2007

Foi realizada uma avaliação de relatórios dos anos de 2006 e 2007 quanto às atividades desenvolvidas pelos profissionais do BLH. As práticas de coleta utilizadas pelo BLH foram obtidas por meio de entrevista à supervisora do BLH.

3.2 Avaliação da qualidade físico-química do leite coletado e encaminhado ao BLH no período de janeiro a março de 2008

Foi realizado o acompanhamento das práticas de processamento do leite humano desempenhadas pelos funcionários do BLH. Amostras de leite humano que chegaram ao BLH no período de janeiro a março de 2008 foram avaliadas com relação à qualidade físico-química.

Imediatamente após chegarem ao BLH, as amostras foram mantidas sob temperatura de congelamento (-18 °C) até o momento do processamento, ou seja, da pasteurização para posterior disponibilização à comunidade. Os vidros contendo o leite humano cru foram descongelados em banho-maria em temperatura média de 37 °C/15 min. Após o descongelamento, as amostras eram coletadas para avaliação da

qualidade do leite.

As amostras de leite foram avaliadas quanto às características sensoriais, índice de acidez e crematócrito.

3.3 Avaliação da qualidade bacteriológica do leite pasteurizado em BLH no período de janeiro a março de 2008

As amostras aprovadas na avaliação da qualidade foram reenvasadas em recipientes esterilizados e submetidas à pasteurização.

Com o objetivo de realizar a pasteurização a 62,5 °C/30 min. era realizada uma curva de penetração de calor a cada 30 ciclos de pasteurização. Esta curva levava em consideração as especificações do banho-maria, o número de frascos e o volume de leite em cada frasco. Portanto, a curva de penetração de calor utilizada no BLH tinha um tempo de pré-processamento de 30 minutos e a temperatura do banho-maria de 65,5 °C. Os recipientes de vidro contendo o leite humano cru foram colocados em banho-maria. A cada 5 min. a temperatura foi monitorada e registrada em formulário próprio. A temperatura foi aferida por um indicador de temperatura do banho-maria. Ainda, a cada 5 min., os frascos foram agitados manualmente.

Após a pasteurização os frascos foram imersos em banho de água e gelo por cerca de 10 min. Neste momento, uma alíquota do leite humano pasteurizado foi utilizada para análise microbiológica, por meio da verificação da presença ou ausência de coliformes totais.

3.4 Estudo da influência da pasteurização sobre os teores de aminos bioativas em leite humano

Foram coletadas 40 amostras de leite humano de forma aleatória com acidez entre 1,0 e 7,0 °D. Esta coleta foi realizada antes e após o processo de pasteurização, para a análise dos teores de aminos bioativas.

Para a análise das aminos bioativas, uma alíquota de 5 mL de leite foi coletada em tubos de polietileno contendo 0,6 g de ácido 5-sulfossalicílico. As amostras foram agitadas manualmente, refrigeradas e levadas imediatamente ao LBqA da UFMG para análise.

Os resultados obtidos foram comparados de forma a se investigar se o processo de

pasteurização afeta de forma significativa os teores de aminos bioativas no leite humano.

4 MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1 Características sensoriais

Após o descongelamento do leite humano, um funcionário do BLH devidamente capacitado, avaliou a presença de *off-flavor*, de cor não característica e de sujidades. Após essa caracterização, aproximadamente 250 mL do leite humano aprovado quanto as características sensoriais foi reenvasado em frascos de vidro esterilizados. Neste momento coletou-se aproximadamente 15 mL de cada amostra de leite humano para realização dos testes de índice de acidez, crematócrito e teores de aminos bioativas.

4.2 Índice de acidez

Pipetou-se quantitativamente três alíquotas de leite humano de 1 mL da amostra coletada de 15 mL. Adicionou-se a estas alíquotas uma gota da solução indicadora de fenolftaleína, procedendo à titulação com NaOH N/9, gota-a-gota. Durante toda a titulação, o tubo de ensaio contendo o leite foi permanentemente agitado, com auxílio de movimentos leves, para evitar a incorporação de ar ao produto. O procedimento foi interrompido quando houve a viragem do indicador, que assumiu uma coloração róseo-clara. Foi feita a quantificação do volume gasto de NaOH para realizar a titulação, sendo que cada 0,01 mL de NaOH N/9 gasto correspondia a 1,0 °D.

O valor final da acidez Dornic correspondeu à média aritmética dos três valores obtidos na análise individual de cada alíquota. Considerou-se normal valores situados na faixa de 1,0 a 7,0 °D para a acidez do leite humano (CAVALCANTE et al, 2005).

4.3 Crematócrito

Pipetou-se uma amostra de 1 mL do leite humano cru, transferiu-se este conteúdo para um tubo de vidro e colocou-se em banho-maria (EME Equipament LTS-100) à 40 °C

por 15 min. Coletou-se, de forma independente, três alíquotas de 75 µL de cada uma das amostras de leite humano com auxílio de tubos microcapilares. Os capilares foram colocados em centrífuga Micro Hematócrito H-240, com as extremidades vedadas para fora. Centrifugou-se por 15 min. e procedeu-se à leitura após a centrifugação. Duas colunas foram observadas: em uma extremidade estava a coluna de creme e na outra a coluna de soro (ALMEIDA et al., 2005).

Para avaliação do conteúdo energético do leite humano foram utilizados os seguintes cálculos:

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

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

$$\text{Conteúdo Energético Total (kcal/L)} = (\% \text{ de creme} \times 66,8 + 290)$$

4.4 Teores de aminos bioativas

As amostras do leite humano (5 mL) adicionadas de 0,6 g de ácido sulfossalicílico sólido (POLLACK et al., 1992) foram transferidas para tubos de polipropileno e agitadas em mesa agitadora TE-140 (Tecnal, SP) por 5 min a uma velocidade de 250 rpm. A seguir, foram centrifugadas a 10.000 x g a 4 °C por 20 min em centrífuga refrigerada Jouan CR3i (Saint Herblain, França) e o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro quantitativo Whatman no. 1 (SANTOS et al., 2003). O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,45 µm de tamanho do poro, separado e quantificado em CLAE por pareamento de íons, derivação pós-coluna com o-ftalaldialdeído e detecção fluorimétrica a 340 nm de excitação e 445 nm de emissão. Foi utilizada coluna µBondapack C18 (Waters, Milford, MA, EUA), e fase móvel composta de A: tampão acetato, pH 4,9 contendo 10 mmol/L de octanossulfonato de sódio e B: acetonitrila em gradiente de eluição da fase móvel (tempo em min/% B): 0,01/11, 13/11, 19/29, 24/11, e 55/11. As poliaminas foram identificadas por comparação do tempo de retenção com o de padrões e confirmadas pela adição da amina suspeita à amostra. As poliaminas foram quantificadas por interpolação em curva analítica dos padrões (VALE & GLÓRIA, 1997).

4.5 Presença de coliformes totais

Após o resfriamento dos frascos contendo leite humano pasteurizado fez-se um

inóculo de quatro alíquotas de 1 mL cada, pipetadas de forma independente e inoculados em tubos com 10 mL de BGBL a 50 g/L (5% p/v), com tubos de Durham em seu interior. A incubação foi realizada em estufa a 36 ± 1 °C. Após incubação por 48 h, em estufa, foi verificada a existência de gás no interior do tubo de Durham.

No caso da presença de gás, caracterizado como resultado positivo foi feito um teste de confirmação. Com auxílio de alça bacteriológica calibrada para 0,05 mL, alíquotas foram transferidas para tubos contendo BGBL na concentração de 40 g/L (4% p/v). Após a incubação destes tubos à 36 ± 1 °C por 24 a 48 h, a presença de gás indicou a existência de microrganismos do grupo coliforme, confirmando que o produto estava impróprio para consumo (ALMEIDA et al., 2005).

4.6 Análise estatística

Para a análise descritiva dos dados utilizou-se média e mediana (medidas de tendência central) e desvio-padrão (medida de dispersão). Medidas de posicionamento relativo foram calculadas: quartil inferior (percentil de 25%) e quartil superior (percentil de 75%) para o tratamento de *outliers* para configuração dos gráficos Box-plot.

Os dados foram comparados pelo teste de *Mann-Whitney U*, uma vez que as variáveis são não paramétricas, utilizando o software STATISTICA 6.0. Na análise estatística foi adotado um nível de significância (α) igual a 5% e intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. PRÁTICAS DE COLETA DO LEITE NO BANCO DE LEITE HUMANO NO PERÍODO DE 2006 E 2007

De acordo com os relatórios e entrevistas, o BLH Dona Mariquinha, objeto deste estudo, foi inaugurado em abril de 2006 na cidade de Betim, MG, com o objetivo de atender às doadoras locais e de municípios vizinhos e possuir um serviço qualificado e independente.

Este BLH está ligado à rede de atenção à saúde da cidade, principalmente às maternidades públicas, nas quais realiza treinamentos e recebe a listagem semanal com os nomes e endereços das mães que receberam alta hospitalar, para a realização de visitas domiciliares, com o objetivo de esclarecer às mães quanto ao aleitamento materno e cadastrar aquelas interessadas em ser doadoras de leite. Na própria maternidade, no momento da alta, as mães eram informadas sobre o endereço e o telefone do BLH (SMS, 2007).

Os profissionais do BLH desenvolveram atividades, nas maternidades, quanto à promoção e incentivo ao aleitamento materno, orientando também a coleta do leite excedente e a esclarecendo quanto à distribuição do leite doado pelas mães. Também, alguns profissionais que atuam nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) foram capacitados quanto à orientação que deve ser dada às gestantes no preparo da mama e nos cuidados com a nutriz para garantir o aleitamento materno e prestar um serviço de qualidade à população.

Também foram realizados projetos educativos em escolas e campanhas resgatando os valores e a importância do aleitamento materno. Para motivar a mãe à prática do aleitamento e ajudá-la a vencer os obstáculos, os funcionários do BLH fizeram visitas freqüentes às residências das mães. Os problemas mais comuns observados foram a insegurança da mãe em relação à eficácia do seu leite; a posição adequada do bebê e a pega correta da mama; o choro; as carências; as fissuras nas mamas; o ingurgitamento do mamilo e a mastite.

As doadoras receberam orientações sobre o funcionamento do BLH e sobre a

forma ideal de coleta do leite, levando-se em consideração as condições higiênicas. As doadoras deveriam coletar o leite com os cabelos presos, realizar a higienização das mãos e antebraços com água e sabão e higienização do mamilo somente com água. O leite deveria ser coletado por pressão manual, e ser colocado em frascos de vidro esterilizados, fornecidos por funcionários do BLH. Imediatamente, estes frascos deveriam ser armazenados no congelador. No caso de novas coletas para complementação do volume já coletado anteriormente, a doadora foi orientada a usar um copo de vidro fervido por 15 (quinze) minutos (contados a partir do início da fervura) e resfriado. Depois ela acrescentava o leite ordenhado ao frasco esterilizado com leite congelado, evitando o degelo. Após completar o volume do frasco, o leite deveria permanecer no congelador doméstico, até o transporte ao BLH.

Os produtos eram transportados do local de coleta ao BLH por funcionários do BLH em recipientes isotérmicos exclusivos, constituídos por material liso, resistente, impermeável, de fácil limpeza e desinfecção, contendo gelo reciclável (glicerina, álcool e água) na proporção de 3 litros deste, para cada litro de leite humano. A temperatura no momento da recepção do leite humano no BLH não era verificada.

O registro da doadora era efetuado e os dados transcritos para o frasco pelos funcionários do BLH. As amostras eram mantidas congeladas no BLH até o momento do processamento.

Os funcionários do BLH receberam, selecionaram e pasteurizaram o leite humano proveniente de dois municípios do estado de Minas Gerais, Betim e Itabira. A coleta de leite humano em Itabira iniciou-se em outubro de 2007. Nesses casos a coleta de leite humano foi realizada nos domicílios das doadoras e o leite foi direcionado ao PCLH do município. Posteriormente, o leite foi transportado ao BLH de Betim para a realização da pasteurização. Cerca de 50% do volume do leite humano pasteurizado permaneceu no BLH como forma de pagamento pelos serviços prestados e os 50% restantes foram enviados para o município que realizou a coleta.

Em Betim, cerca de 99% da coleta do leite humano foi realizada nas residências e em um prazo de 24 horas a partir da solicitação do atendimento. Além da coleta das amostras de leite humano, no BLH foram realizadas as seguintes atividades:

a) atendimento à mãe puerperal por meio de visitas domiciliares espontâneas ou programadas. Na primeira, a mãe entrou em contato com o BLH e solicitou o atendimento e na segunda o BLH fez uma busca daquelas mães, que tiveram seus filhos nas maternidades públicas da cidade;

b) coleta de leite humano domiciliar, durante a qual a mãe recebeu orientação para

uma coleta de leite com qualidade, esclarecimento quanto ao aleitamento materno e apoio à promoção e defesa da amamentação. A doadora recebeu os frascos esterilizados para a coleta e armazenamento do leite. Também foram agendados os retornos de atendimento;

c) realização de cursos de treinamento sobre a capacitação de aleitamento materno destinado aos profissionais de saúde e educação. Os temas foram diversos tais como: apoio à nutriz após a alta hospitalar, cuidados com as mamas, cuidados na ordenha e pré-estocagem do leite humano, e orientação para doação do leite humano;

d) realização de treinamentos nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) para implantação da UBS Amiga da Amamentação;

e) elaboração do projeto “Educar para o Aleitamento Materno” no ensino fundamental disponibilizando às crianças, jovens e adultos informações sobre a importância para a formação familiar, aliada ao aleitamento materno de maneira divertida utilizando jogos, histórias e brincadeiras com bonecos. As instituições contempladas foram escolas públicas e privadas da cidade;

f) integração das UBS, Maternidade e BLH;

g) assistência e acompanhamento pediátricos aos bebês das doadoras; e

h) encaminhamento para serviço especializado (mastologia) na rede pública e convênios.

O leite pasteurizado foi distribuído ao PCLH de Itabira. Já em Betim, o leite foi distribuído a algumas crianças com demanda por leite materno encaminhadas pelo médico e também ao Hospital Regional e à Maternidade municipal.

Para a coleta de leite foram realizadas 522 visitas domiciliares, em 2006 e 1379 visitas em 2007. O volume de leite coletado em Betim foi de 673,19 L (2006) e 467,49 L (2007). Observa-se que o número de visitas em 2007 foi superior a 2006, porém o volume de leite coletado foi inferior. Uma possível explicação para tal fato é que nem toda mãe foi selecionada como doadora. Em Itabira o volume de leite coletado em 2007 foi de 137,245 L.

No ano de 2007, o volume de leite humano pasteurizado e distribuído foi de apenas 313,5 L, ou seja, 51,8% do volume de leite coletado. A diferença do leite coletado e distribuído pode ser explicada pelas perdas de leite humano devido, principalmente, à acidez, contaminações macro e microbiológica, frascos quebrados ou com rachaduras. Estes resultados sugerem a necessidade de maiores esforços para um melhor treinamento das nutrizes na coleta, manuseio e armazenamento do leite nas residências para reduzir estas perdas.

A estrutura física do BLH em questão é composta pelos setores: recepção, sala de armazenamento do leite cru, sala de pasteurização e de estocagem do leite pasteurizado e laboratório. Há também a presença do consultório médico, salas para elaboração de materiais pedagógicos sobre aleitamento materno, cozinha e banheiro. A sala de higienização é externa a este conjunto de setores. A estrutura física dos PCLH não foi visitada. Os equipamentos do BLH apresentavam-se em boas condições de conservação e operação.

2. QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE HUMANO COLETADO PELO BLH NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2008

A partir de março de 2008 o leite humano coletado em um PCLH de Contagem foi enviado para o processamento no BLH em Betim. Portanto, o leite recebido pelo BLH em 2008 foi proveniente das cidades de Betim, Itabira e Contagem.

No primeiro trimestre do ano de 2008 foram realizadas análises de avaliação sensorial, acidez, creatócrito e contagem de coliformes totais.

2.1 Avaliação sensorial

Um técnico responsável pelo processo de pasteurização realizou a análise sensorial observando os parâmetros de *off-flavor* e verificando a presença de sujidades. Todas as amostras neste período não apresentaram *off-flavor* característico de alguma alteração físico-química. Todas as amostras apresentaram ausência de sujidades.

2.2 Acidez

Em janeiro de 2008 observou-se que aproximadamente 42% do leite humano recebido pelo BLH apresentaram acidez de 4,0 e 5,0 °D e 22 % com acidez igual ou superior a 8,0 °D (Figura 5). Em fevereiro de 2008 cerca de 20% do leite humano foi desprezado para o consumo, pois apresentou acidez igual ou superior a 8,0 °D. A maior parte do leite (26%) apresentou de acidez de 4,0 °D. Nenhuma amostra apresentou

acidez < 2,0 °D.

Em março de 2008 verificou-se a predominância de acidez de 4,0 °D (21%) e de 5,0 °D (19%), porém, 14 e 12% do leite apresentaram acidez 6,0 e 7,0 °D, respectivamente. Aproximadamente 22 % do leite coletado apresentaram valores de acidez igual ou superior a 8,0 °D.

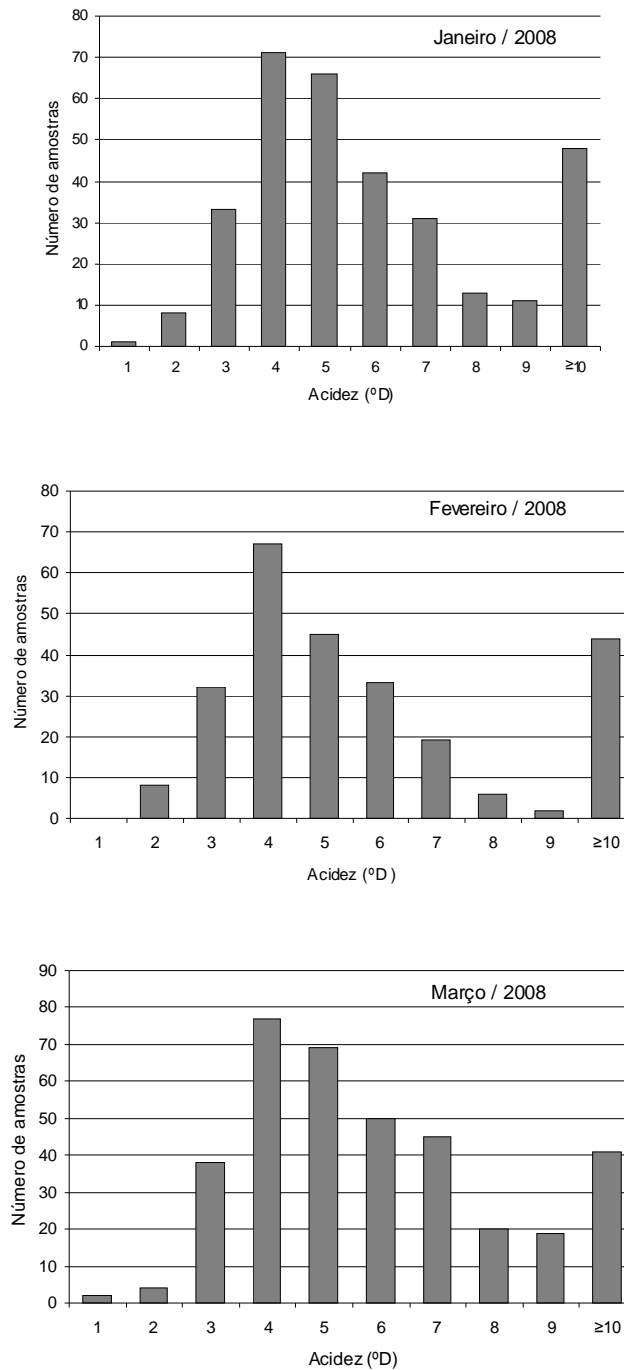


Figura 5 - Acidez (°D) do leite humano coletado em janeiro, fevereiro e março de 2008.

Provavelmente, a acidez do leite humano foi resultado do crescimento bacteriano, tanto da microbiota primária quanto secundária, acarretando a produção de ácido lático e conseqüente diminuição do pH do leite (ALMEIDA, et al., 2005).

A ocorrência da acidez elevada no leite humano pode ter sido causada pelo não monitoramento da temperatura dos congeladores das geladeiras domésticas nas próprias casas das doadoras, uma vez que estes eletrodomésticos possuem apenas termostato, seria impossível afirmar que os frascos com leite humano cru permaneceram com a temperatura recomendada (-18 °C/15 dias). Portanto, é possível que algumas doadoras não tenham mantido os frascos com leite humano dentro dos padrões térmicos estipulados pela ANVISA, mesmo sendo bem orientadas por funcionários do BLH.

RONA et al. (2008) coletaram amostras de leite cru em um BLH no Paraná, sendo que algumas foram congeladas (-20 °C) logo após a ordenha, outras permaneceram à temperatura ambiente (25-28 °C) por 4 horas e outras foram refrigeradas (6-8 °C) por 24 horas. Nestas duas últimas condições de estocagem, as amostras foram congeladas após o respectivo tempo de armazenamento. Os autores verificaram alta variação da acidez entre as amostras estocadas por 4 horas à temperatura ambiente e por 24 horas sob refrigeração. Tal fato pode ser explicado pelo crescimento de diferentes microrganismos psicrótróficos fermentadores da lactose nas amostras analisadas. Portanto, a alta variabilidade observada nas duas situações acima citadas deixa evidente a necessidade de se congelar o leite humano imediatamente após sua coleta.

CAVALCANTE et al. (2005) propuseram uma outra explicação para uma acidez elevada no leite humano. A temperatura interna elevada durante o transporte do leite humano ao BLH poderia favorecer a proliferação e ação de bactérias patogênicas e de suas respectivas enzimas. Devido a isso, a hidrólise dos triacilgliceróis pelas lipases produziria ácidos graxos não esterificados (ácidos graxos livres) os quais elevariam a concentração de íons H⁺ do leite humano, reduzindo o pH e aumentando a acidez titulável. Mesmo mantendo a temperatura do leite humano entre 4 e 8 °C por até 30 horas, na qual há um inibição da multiplicação de bactérias patogênicas mesofílicas, as atividades das lipases seriam apenas reduzidas.

2.3 Crematócrito

A análise do crematócrito foi realizada somente nos meses de janeiro e fevereiro. Essas análises foram compostas por leite humano coletado em Betim e Itabira. No mês

de janeiro, observou-se que na análise de crematócrito, 78% das amostras de leite apresentaram conteúdo energético entre 500 e 700 kcal/L (Figura 6). Valores percentuais muito semelhantes foram encontrados no mês de fevereiro de 2008, quando foi observado que 76% do leite apresentaram conteúdo energético de 500 a 700 kcal/L.

ALMEIDA & DÓREA (2006) observaram um conteúdo energético médio de 529 kcal/L em 848 amostras de leite humano provenientes de uma BLH de Brasília.

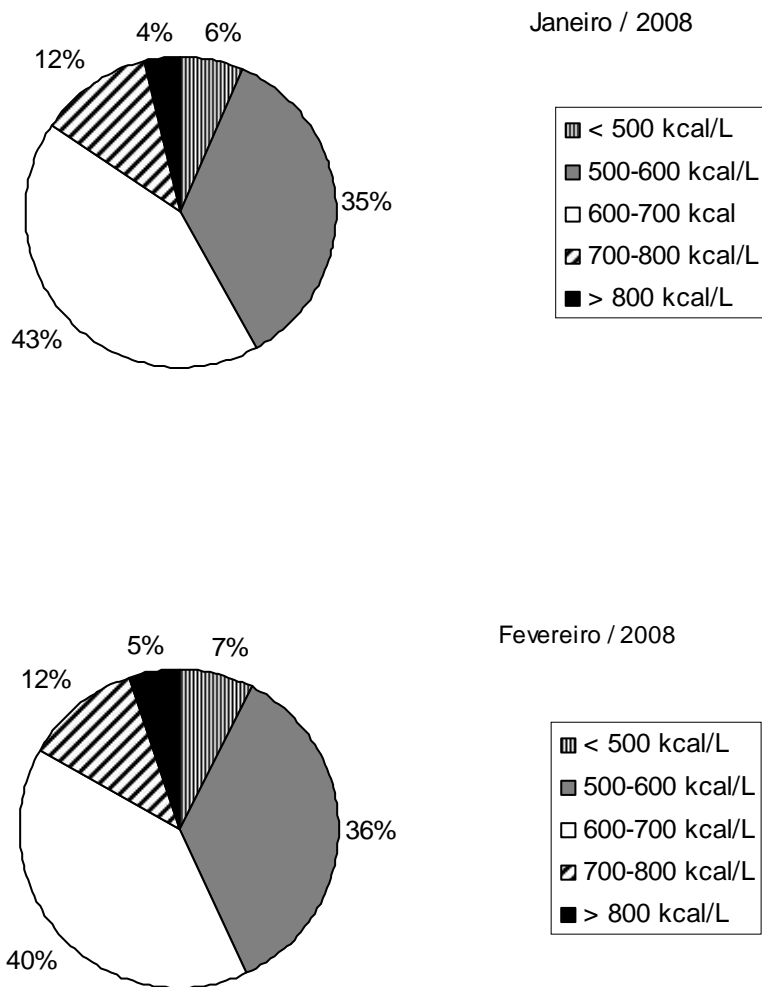


Figura 6 - Crematócrito do leite humano coletado pelo BLH em janeiro e fevereiro de 2008.

3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DO LEITE HUMANO PASTEURIZADO NO BLH NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2008

A análise de coliformes totais realizada no primeiro trimestre de 2008 detectou a presença desses microrganismos em um percentual de amostras inferior a 10% do leite coletado (Figura 7).

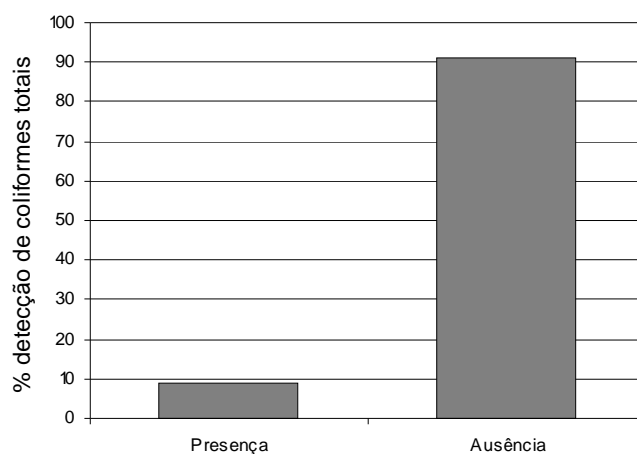


Figura 7 - Percentual de coliformes totais no leite humano pasteurizado coletado pelo BLH nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2008.

SÉLLOS (1991) verificou que em 27% das amostras de leite pasteurizado apresentaram um nível de contaminação alto de coliformes totais (0,3 a 240 NMP/mL), em um BLH de Belo Horizonte. COSTA et al. (2004) verificaram a presença de coliformes totais em 20% de 15 amostras de leite humano submetidas à pasteurização em um BLH da Paraíba. CASTRO (2006) verificou que, em 60 amostras analisadas de leite humano coletado em um BLH em São Paulo, 75% apresentaram presença de coliformes totais. Estes estudos observaram que o emprego inadequado de normas higiênico-sanitárias durante a obtenção e manipulação do leite humano cru são fatores que favorecem uma detecção microbiana significativa no leite, mesmo após a pasteurização. Portanto, torna-se necessário sempre orientar e acompanhar a doadora quanto a uma ordenha higiênica, com o objetivo de oferecer à criança um alimento com segurança microbiológica e que contribua de modo efetivo para o seu desenvolvimento.

4. A PASTEURIZAÇÃO E OS TEORES DE AMINAS BIOATIVAS NO LEITE HUMANO

Quarenta amostras de leite humano foram coletadas de forma aleatória com o objetivo de investigar a influência da pasteurização sobre os teores de aminos bioativas. Estas amostras apresentavam acidez menor ou igual a 7,0 °D. Determinou-se a distribuição percentual dessas amostras quanto a classificação, acidez, crematócrito e análise bacteriológica.

4.1 Classificação

As amostras analisadas compreenderam, na maior parte (80%) de leite maduro, 10 % foi classificado como colostro, apenas duas amostras seriam de leite de transição (5%). Em duas amostras (5%) não foi possível determinar a fase de lactação, pois não foi registrada a data da coleta do leite.

4.2 Acidez

Verificou-se a predominância de acidez igual a 5,0 (27%), seguida de valores de acidez de 4,0 (24%) e 6,0 (23%). Nenhuma amostra apresentou acidez igual a 1 (Figura 8).

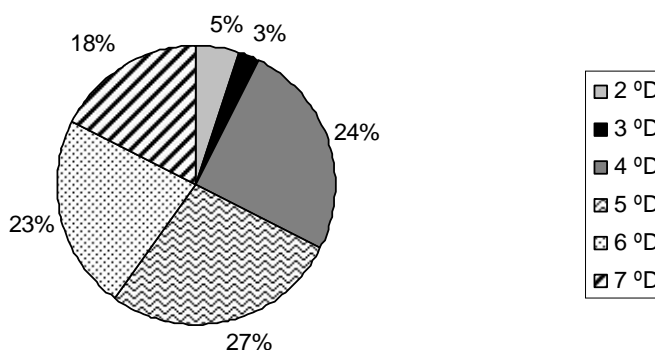


Figura 8 - Distribuição percentual da acidez nas amostras de leite humano cru

4.3 Crematócrito

Não foi possível realizar a leitura de crematócrito para todas as amostras do estudo devido à quantidade insuficiente de leite coletado para a realização deste teste. Portanto, foi obtido o crematócrito para 30 amostras. Observou-se que 73% dessas amostras apresentaram um conteúdo energético de 500 a 700 kcal/L (Figura 9). Considerando o período de lactação e o conteúdo calórico observou-se uma média de 610,8 kcal/L (colostro), 637,5 kcal/L (leite de transição) e 658,5 kcal/L (leite maduro).

As amostras deste estudo apresentaram um conteúdo energético maior quando comparado com o trabalho de ALMEIDA & DÓREA (2006), que encontraram uma média de 537, 521 e 529 kcal/L para o colostro, leite de transição e leite maduro, respectivamente. Entretanto, outros trabalhos observaram conteúdos energéticos maiores no leite humano quando comparados àqueles do presente estudo. VIEIRA et al. (2004) verificaram no leite maduro cru um crematócrito médio de 859 kcal/L. SAARELA et al. (2005) observaram uma média de 676,8 kcal/L no leite humano coletado na primeira semana pós-parto e 689,9 kcal/L no leite do segundo mês de lactação.

Neste estudo, foi determinado o percentual de gordura para três amostras, sendo 2,09 g/100 mL (leite maduro), 2,97 g/100 mL (colostro) e 3,08 g/100 mL (leite de transição). Observa-se que o colostro e o leite de transição apresentaram teores equivalentes àqueles encontrados na composição lipídica normalmente verificada no leite humano. Já o leite maduro apresentou um teor inferior àquele comumente encontrado nos teores de lipídeos do leite maduro. Entretanto, estes resultados são pouco significativos, uma vez que o número de amostras (n= 3) analisadas foi pequeno.

ALMEIDA & DÓREA (2006) encontraram uma média de teor de gordura, em g/100 mL, de 2,36 (colostro), 2,18 (leite de transição) e 2,27 (leite maduro). Estes valores foram menores que os encontrados neste estudo.

Somente os dados referentes ao percentual de gordura do leite coletado em Betim foram registrados. O BLH não registrou os valores de percentuais de gordura do leite coletado nos municípios de Itabira e Contagem. O conteúdo calórico do leite coletado foi obtido relacionando-se o tamanho da coluna de creme e da coluna total, utilizando-se uma tabela com valores pré-estabelecidos. Portanto, somente o conteúdo energético foi registrado.

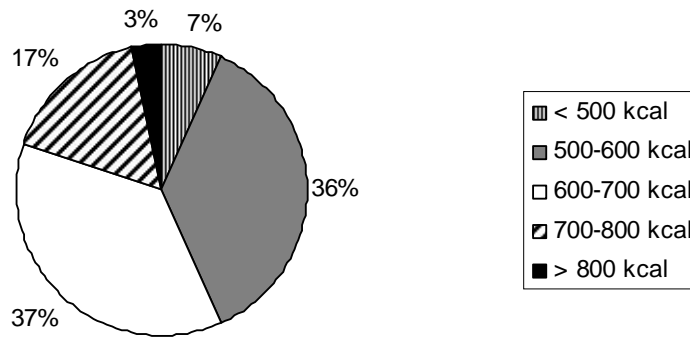


Figura 9 - Distribuição percentual do crematócrito nas amostras de leite humano coletadas pelo BLH de janeiro e fevereiro de 2008.

4.4 Presença de coliformes

A maioria das amostras analisadas apresentou ausência de coliformes totais (90%), assim como verificado nas demais amostras do leite coletado pelo BLH no primeiro trimestre de 2008 (Figura 10). SERAFINI et al. (2003), ao avaliarem a qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite, verificaram que após a pasteurização 50,7% das amostras apresentaram presença de coliformes. NOVAK et al. (2008) verificaram a ocorrência de coliformes totais em 53,3% em 30 amostras de leite humano. Ressalta-se a necessidade de obtenção de um leite com carga microbiana inicial baixa para que a pasteurização seja eficiente no controle microbiológico.

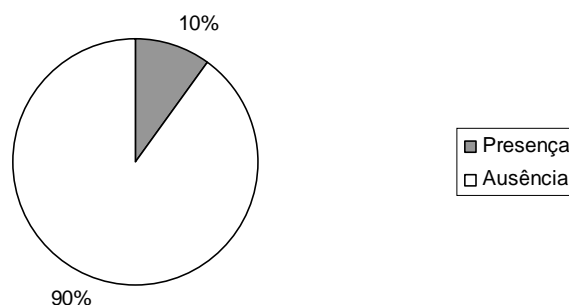


Figura 10 - Detecção de coliformes totais nas amostras de leite humano pasteurizadas pelo BLH de janeiro a março de 2008.

4.5 Teores de Aminas Bioativas no leite humano cru

Os parâmetros referentes à média, mediana, mínimo e máximo das aminas bioativas no leite humano cru estão apresentados na Tabela 5. Dentre as dez aminas pesquisadas, nove foram detectadas nas amostras de leite humano: espermina, espermidina, putrescina, tiramina, serotonina, histamina, triptamina, feniletilamina, e cadaverina. Não foi detectada a presença de agmatina. Esta amina também não foi detectada por DINIZ (2005) em amostras de leite humano coletadas em Belo Horizonte, MG.

Tabela 5– Parâmetros estatísticos de aminas bioativas no leite humano cru coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.

Parâmetros	AMINAS BIOATIVAS (mg/L)								
	SPM	SPD	PUT	CAD	HIM	TIM	SRN	FEM	TRM
Média	0,65	0,32	0,05	0,06	0,02	0,11	0,04	0,09	0,03
Mediana	0,49	0,25	0,02	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03
Desvio padrão	0,71	0,30	0,07	0,13	0,02	0,31	0,04	0,16	0,01
Mínimo	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	0,01
Máximo	3,29	1,31	0,31	0,74	0,09	1,60	0,14	0,74	0,04

SPM = espermina; SPD = espermidina; PUT = putrescina; CAD = cadaverina; HIM = histamina; TIM = tiramina; SRN = serotonina; FEM = feniletilamina; TRM = triptamina.

Observa-se que a maioria das aminas apresentaram valores mínimos não detectáveis (considerados igual a zero no cálculo da média), com exceção da feniletilamina e da triptamina que apresentaram valores mínimos próximos de zero, tanto no leite cru quanto no leite pasteurizado.

A espermina foi a amina presente em maior concentração (3,29 mg/L) em uma das amostras, seguida da tiramina (1,60 mg/L) e da espermidina (1,31 mg/L). Entretanto, em termos de valores médios, a espermina (0,65 mg/L) foi a predominante, seguido da espermidina (0,32 mg/L). Portanto, as poliaminas foram as aminas predominantes, assim como foi observado nos estudos descritos na literatura (ROMAIN et al., 1992; BUTS et al., 1995; ARAÚJO, 2003; DINIZ, 2005). Esses resultados eram esperados, uma vez que essas poliaminas atuam como fatores de crescimento e de maturação do trato gastrointestinal dos lactentes.

A dieta pode influenciar os teores de aminos bioativas no leite humano. DINIZ (2005) observou que houve uma correlação positiva entre o consumo de chocolate e milho na dieta materna com espermina no leite materno, e o consumo de arroz com histamina e triptamina. Entre o consumo de queijo e o teor de histamina não houve correlação.

4.6 Teores de Aminos Bioativas no leite humano pasteurizado

Os parâmetros referentes à média, mediana, mínimo e máximo das aminos bioativas no leite humano pasteurizado estão apresentados na Tabela 6. Dentre as dez aminos pesquisadas, nove foram detectadas nas amostras de leite humano pasteurizado, assim como no leite cru: espermina, espermidina, putrescina, tiramina, serotonina, histamina, triptamina, feniletilamina, e cadaverina. Como observado também no leite cru, não foi detectada a presença de agmatina.

Tabela 6 - Parâmetros estatísticos de aminos bioativas no leite humano pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.

Parâmetros	AMINAS BIOATIVAS (mg/L)								
	SPM	SPD	PUT	CAD	HIM	TIM	SRN	FEM	TRM
Média	0,65	0,31	0,06	0,03	0,03	0,07	0,05	0,06	0,03
Mediana	0,42	0,22	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03
Desvio padrão	0,77	0,32	0,10	0,04	0,02	0,18	0,06	0,11	0,02
Mínimo	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	0,01
Máximo	3,76	1,21	0,50	0,21	0,10	1,08	0,27	0,58	0,11

SPM = espermina; SPD = espermidina; PUT = putrescina; CAD = cadaverina; HIM = histamina; TIM = tiramina; SRN = serotonina; FEM = Feniletilamina; TRM = triptamina.

Nas amostras de leite pasteurizado a espermina foi também a amina predominante seguida da espermidina.

4.7 Influência da Pasteurização nos teores de Aminos Bioativas no leite humano

A influência da pasteurização no perfil e teores de aminos bioativas no leite

humano pode ser observada na Figura 11. Após o tratamento térmico parece ter ocorrido uma diminuição nos teores médios de cadaverina, tiramina, espermidina e feniletilamina, entretanto a redução não foi significativa. O teste estatístico de *Mann Whitney U* demonstrou que houve diferença significativa apenas quanto aos teores de histamina, que apresentaram um aumento. Desta forma, a pasteurização não influenciou os teores das demais aminas ($p>0,05$) de forma significativa.

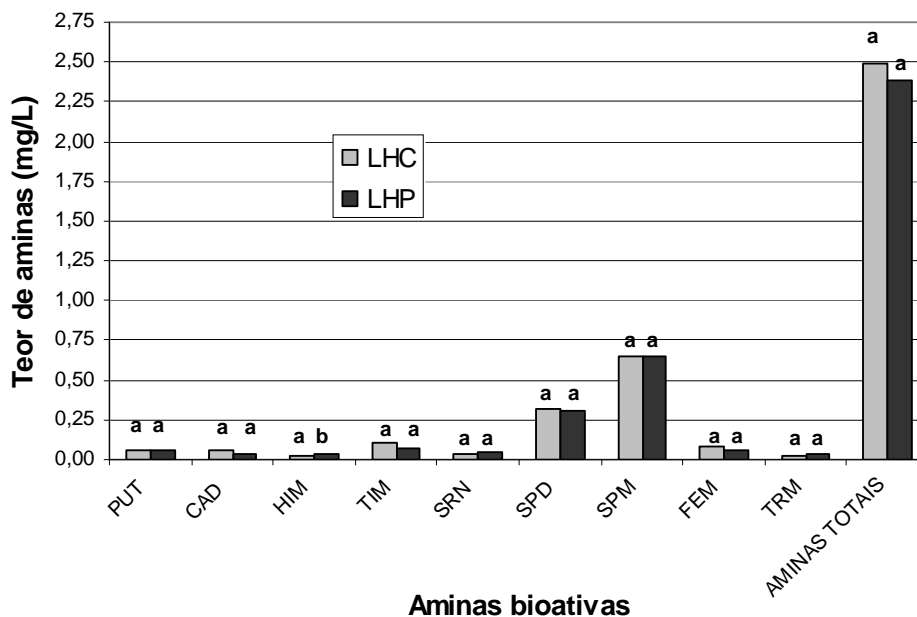


Figura 11 - Influência da pasteurização nos teores de poliaminas em leite humano.

LHC = leite humano cru; LHP = leite humano pasteurizado; PUT = putrescina; CAD = cadaverina; HIM = histamina; TIM = tiramina; SRN = serotonina; SPD = espermidina; SPM = espemina; FEM=feniletilamina; TRM = triptamina. Colunas com letras distintas diferem significativamente entre si ($p<0,05$).

Alguns estudos foram realizados com o objetivo de verificar a influência da pasteurização sobre alguns macronutrientes e micronutrientes presentes no leite humano. Contudo, são raros os dados a respeito da influência da pasteurização sobre os teores de aminas. ARAÚJO (2003) ao submeter o leite humano à pasteurização por 62,5 °C observou que houve uma redução significativa nos teores de cadaverina, espermina e espermidina. Porém, os teores de putrescina aumentaram após o tratamento térmico. PEÑA (2006) ao analisar salame cozido verificou que os teores de histamina e tiramina eram semelhantes tanto na no início da fabricação quanto após o processamento térmico. Este autor relata que a histamina é termoestável, resistindo aos processos de cocção esterilização. A tiramina também é termoestável.

Os teores de histamina encontrados neste estudo, apesar do aumento após a pasteurização não representam perigo de toxicidade, uma vez que uma dose tóxica máxima recomendada seria de 100 mg/100 g de alimento e 2 mg/L de bebida, como por exemplo, em bebidas alcoólicas (HALÁSZ et al., 1994).

Nas Figuras 12 a 14, estão demonstrados os gráficos Box Plot contendo os valores dos quartis 25, 50 e 75 dos teores de aminas no leite humano. Verificou-se uma pequena variação nos teores medianos de aminas bioativas tanto no leite cru quanto no leite pasteurizado, excetuando a histamina. Para esta amina observou-se que o leite pasteurizado apresentou teores medianos superiores a 0,03 mg/L e no leite cru esses teores encontraram-se abaixo de 0,03 mg/L. Para as demais aminas, os teores medianos foram similares, independente da pasteurização. Para a espermina, 50 % dos teores encontrados estavam abaixo de 0,6 mg/L enquanto para a espermidina foram inferiores a 0,3 mg/L. No leite humano cru, 75% das amostras apresentaram teores de putrescina abaixo de 0,06 mg/L e após o tratamento térmico esses teores estavam próximos de 0,04 mg/L. Os teores de tiramina concentraram-se nos valores máximos encontrados para essa amina, independente da pasteurização. Ao contrário, os teores de cadaverina e feniletilamina concentraram-se nos valores mínimos encontrados antes ou após o tratamento térmico.

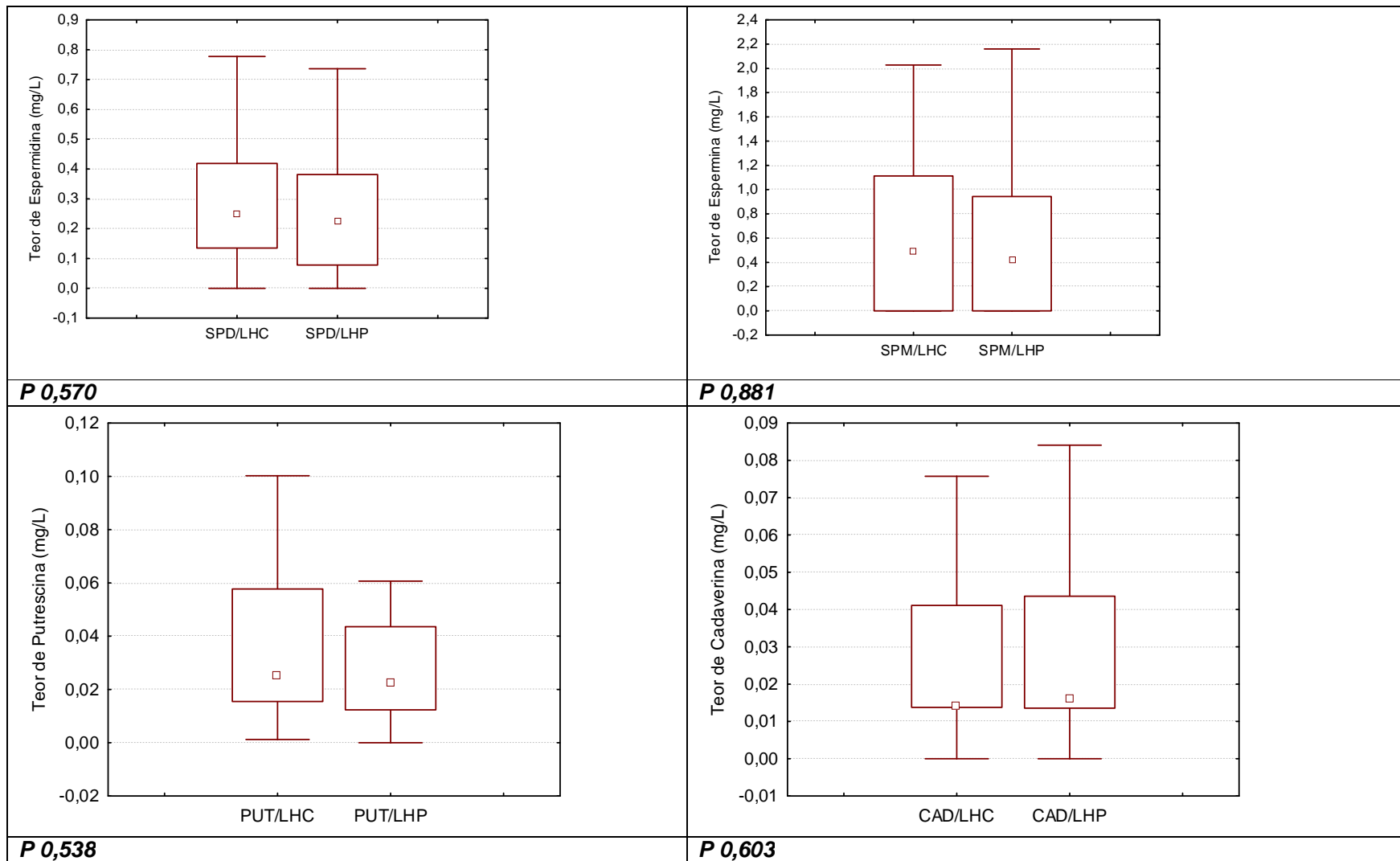


Figura 12 - Gráficos Box plot e os teores de espermina, espermidina, putrescina, cadaverina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.

SPD-espermidina; SPM-espermina; PUT-putrescina; CAD-cadaverina; LHC-Leite Humano Cru; LHP-Leite Humano Pasteurizado.

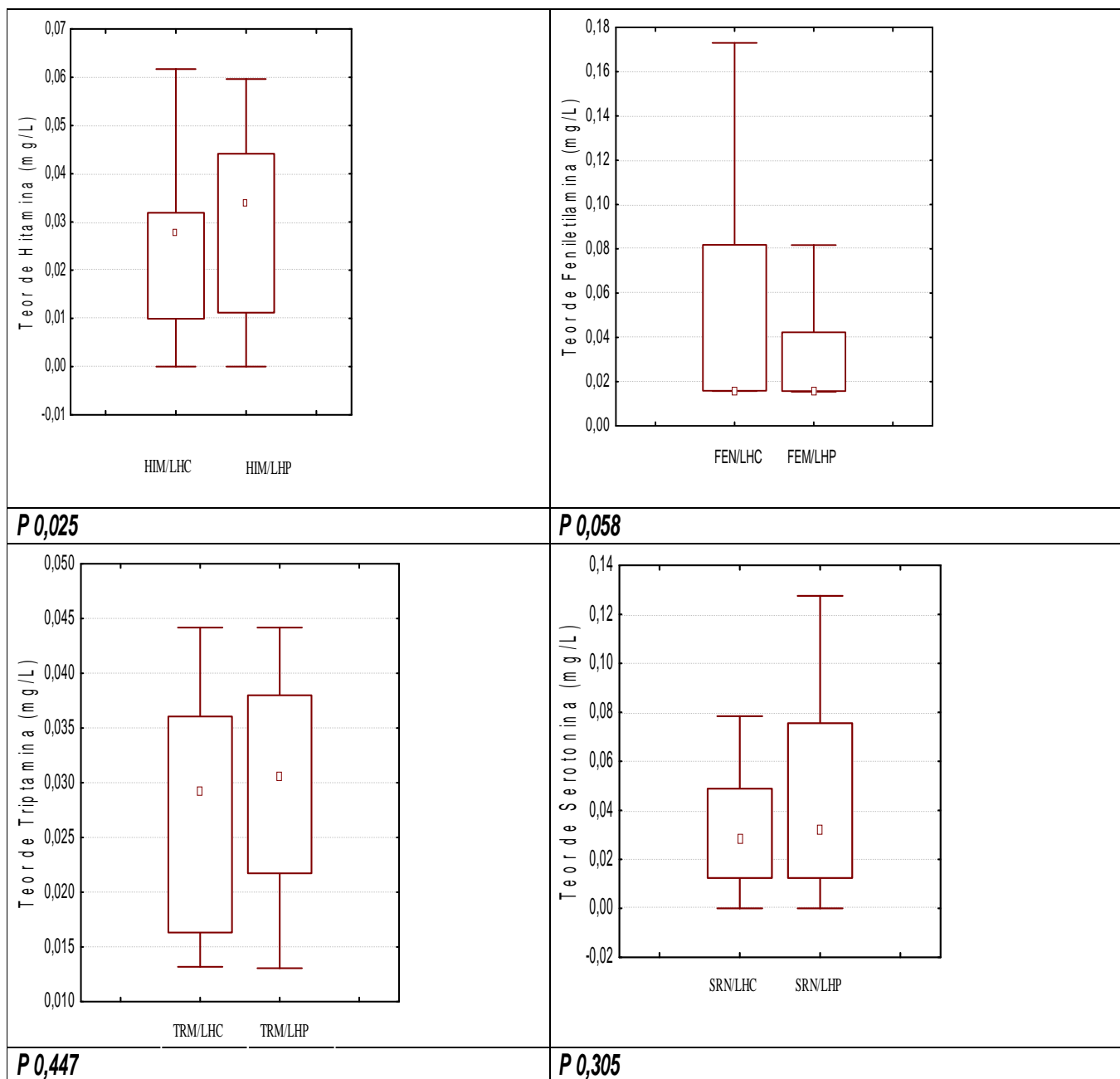


Figura 13 - Gráficos Box plot e os teores de histamina, feniletamina, triptamina, serotonina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.

HIM-Histamina; FEM-Feniletamina; TRM-Triptamina; SRN-Serotonina; LHC-Leite humano cru; LHP-Leite humano pasteurizado.

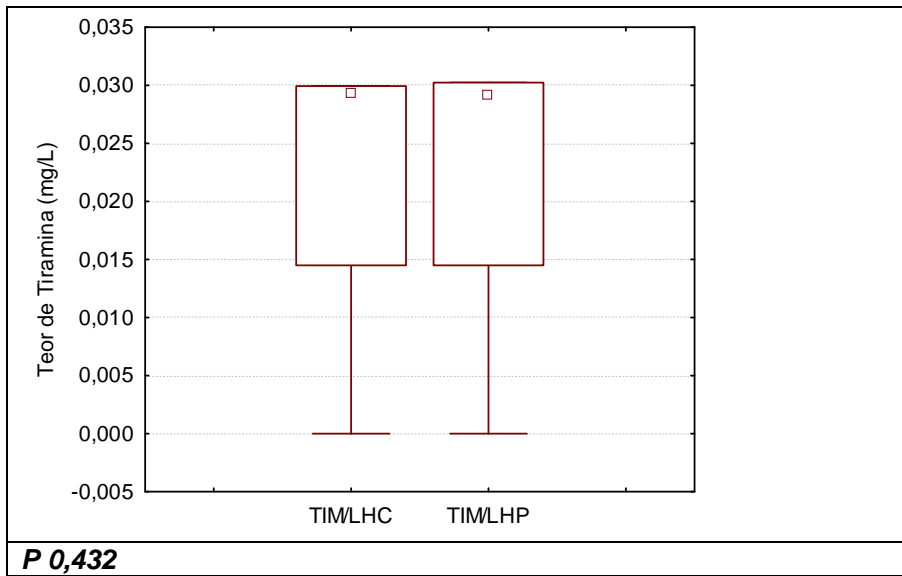


Figura 14 - Gráfico Box plot e o teor de triptamina no leite humano cru e pasteurizado coletado pelo BLH de janeiro a março de 2008.
TIM-Tiramina; LHC-Leite humano cru; LHP-Leite humano pasteurizado.

CONCLUSÕES

De acordo com as informações recebidas, as práticas de coleta adotadas pelo BLH em estudo estão de acordo com as normas previstas pela ANVISA. Entretanto, estas não estão sendo suficientes para garantir a qualidade do leite, uma vez que cerca de 20% das amostras apresentaram acidez superior a 7 °D e foram inutilizadas para o consumo das crianças.

Os valores de acidez predominantes foram de 4,0 (22%) e 5,0 °D (19%) no leite recebido pelo BLH no primeiro trimestre de 2008. As amostras para avaliação dos teores de amins apresentaram valores de acidez predominantes de 5,0 (27%), 4,0 (24%) e 6,0 (23%).

O leite humano apresentou conteúdo energético entre 500 e 700 Kcal/L. A avaliação sensorial não detectou irregularidade em nenhuma das amostras analisadas.

Dentre as dez amins pesquisadas, nove foram detectadas nas amostras de leite humano: espermina, espermidina, putrescina, tiramina, serotonina, histamina, triptamina, feniletilamina, cadaverina. A agmatina não foi detectada.

As condições de pasteurização empregadas no BLH acarretaram um aumento significativo nos teores de histamina. O tratamento térmico não influenciou os teores das demais amins ($p > 0,05$).

Em 10% das amostras ($n = 40$) de leite pasteurizado foi detectada a presença de coliformes, sugerindo que o leite cru ordenhado apresentava uma contagem inicial elevada desses microrganismos, o que impediu que a pasteurização fosse eficiente para reduzir esta carga microbiana.

CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO

O maior problema detectado no BLH foi a elevada acidez das amostras, o que tem causado um desperdício significativo do leite coletado. Com a finalidade de reduzir o número de amostras com acidez elevada, recomenda-se um monitoramento das condições de transporte e temperatura interna das caixas isotérmicas, conduzidas das casas das mães doadoras até o PCLH e até mesmo ao BLH. Outra recomendação seria orientar as doadoras quanto à observação da temperatura do congelador do domicílio e não promover o degelo do equipamento quando o leite ainda estiver armazenado.

Quanto à estrutura física do BLH propõe-se uma separação física da sala de estocagem e pasteurização, transformando-a em duas salas distintas. Recomenda-se também alteração na localização da sala pasteurização, sala de estocagem e no laboratório, com o objetivo de favorecer o fluxo unidirecional de pessoas e produtos no processamento térmico, evitando cruzamentos e facilitando a higienização destes setores de forma a não comprometer a qualidade do leite processado, seja do ponto de vista físico-químico ou microbiológico. Uma proposta de área física foi descrita por ASSIS et al. (1983) e está representada no Anexo 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.G., DÓREA, J.G. Quality control of banked milk in brasília. **Journal Human Lactation**, v.22, n.3, p. 335-339, 2006.
- ALMEIDA, J.A.G., GUIMARÃES, V.; NOVAK, F.R. Normas técnicas redeblh-br para bancos de leite humano: teste simplificado para detecção de coliformes totais. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.redeblh.fiocruz.br>. Fevereiro de 2005. Acesso em 03 de janeiro de 2008
- ALMEIDA, J.A.G., GUIMARÃES, V.; NOVAK, F.R. Normas técnicas redeblh-br para bancos de leite humano: seleção e classificação do leite ordenhado cru. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.redeblh.fiocruz.br>. Fevereiro de 2005. Acesso em 03 de janeiro de 2008.
- ALMEIDA, N.A.M.; FERNANDES, A.G.; ARAÚJO, C.G. Aleitamento materno: uma abordagem sobre o papel do enfermeiro no pós-parto. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 6, n. 3, p. 358-367, 2004. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br>. Acesso em 09 de julho de 2007.
- ANDERSSON, Y.; SAVMAN, K.; BLACKBERG, L.; HERNELL, O. Pasteurization of mother's own milk reduces fat absorption and growth in preterm infants. **Acta Paediatrica**, v. 96, p. 1445-1449, 2007.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos**. Brasília : ANVISA, 2007.156 p.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano. Diário Oficial da União, Brasília, 5 set. 2006. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 01 de julho de 2007.
- ARAÚJO, R.S.R.M. **Determinação dos tipos e teores de aminos bioativas no leite materno em diferentes fases de lactação e o efeito do processamento**. Belo Horizonte: Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG. 2003. 78 p. (Trabalho de Pós-Doutorado em Ciência de Alimentos).
- ASSIS, M.A.A.; SANTOS, E.K.A.; SILVA, D.M.G.V. Planejamento de banco de leite humano e central de informações sobre aleitamento materno. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 406-412, 1983.
- BARDÓCZ, S.; DUGUID, T.J.; BROWN, D.S.; GRANT, G.; PUSZTAI, A.; WHITE, A.; RALPH, A. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth.

- British Journal of Nutrition**, v. 73, p. 819-828, 1995.
- BARÓ, L.; JIMÉNEZ, J.; MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; BOZA, J.J. Componentes biologicamente activos de la leche materna. **Ars Pharm.**, v. 42, n.1, p. 21-38, 2001.
- BRAGA, L.P.M.; PALHARES, D.B. Efeito da evaporação e pasteurização na composição bioquímica e imunológica do leite humano. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 1, p. 59-63, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana de Saúde. **Dez passos para uma alimentação saudável, guia alimentar para crianças menores de 2 anos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 45 p.
- BUTS, J.P.; KEYSER, N.D.; LAURENCE, R.D.; COLLETE, E.; SOKAL, E.M. Polyamine profiles in human milk, infant artificial formulas, and semi-elemental diets. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 44-49, 1995.
- CALIL, V.M.L.T.; LEONE, C.R.; RAMOS, J.L.A. Composição nutricional do colostro de mães de recém nascidos de termo adequados e pequenos para a idade gestacional e composição nutricional do leite humano nos diversos estágios da lactação, vantagens em relação ao leite de vaca. Disponível em <http://www.pediatriasaopaulo.usp.br/upload/pdf/83.pdf> . Abril de 1991. Acesso em 27 jul: 2008.
- CAPANO, G.; BLOCH, K.; CARTER, A.E.; DASCOLI, J.A.; SCHOENFELD, D.; HARMATZ, P.R. Polyamines in human and rat milk influence intestinal cell growth in vitro. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 281-286, 1998.
- CARBONARE, S.B.; CARNEIRO-SAMPAIO; M.M.S. Composição do leite humano, aspectos imunológicos. In: REGO, J.D. (Ed) **Aleitamento Materno**. São Paulo: Atheneu, 2006. p.103-120.
- CASTRO, M.R.C.C.. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru ordenhado recebido em banco de leite humano**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da USP. 2006. 61 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos).
- CARMO, M.G.T.; COLARES, L.G.T.; SAUNDERS, C. Nutrição na lactação. In: ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C. LACERDA E.M.A. (Ed.) **Nutrição em obstetrícia e pediatria**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2004. p. 225-246.
- CAVALCANTE, J.L.P. TELLES, F.J.S.; PEIXOTOM.M.L.V.; RODRIGUES, R.C.B. Uso da acidez titulável no controle de qualidade do leite humano ordenhado. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p. 103-108, 2005.
- CORRÍA, V.D.A.R. Lactancia materna: evaluación nutricional en el recién nacido. **Revista**

- Cubana Pediátrica**, v. 77, n. 2, p. 1-10, 2005.
- COSTA, R.S.S.; CARMO, M.G.T.; SAUNDERS, C.; JESUS, E.F.O.; LOPES, R.T.; SIMABUCO, S.M. Characterization of iron, copper and zinc levels in the colostrum of mothers of term and pre-term infants before and after pasteurization. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 114-117, 2003.
- COSTA, A.C; SOUSA, C.P.; FILHO, L.S. Caracterização microbiológica do leite humano processado em banco de leite de João Pessoa, Paraíba. **RBAC**, v.36, n. 4, p. 225-229, 2004.
- DANDRIFOSSE, G.; PEULEN, O.; KHEFIF, N.E.; DELOYER, P.; DANDRIFOSSE, A.C.; GRANDFILS, C. Are milk polyamines preventive agents against food allergy? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, p. 81-86, 2000.
- DINIZ, R.M. **Influência da dieta materna nos tipos e teores de aminos bioativas no leite humano**. Belo Horizonte: Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG. 2005. 59 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos).
- DORHOUT, B.; VAN BEUSEKOM, C.M.; HUISMAN, M.; KINGMA, A.W.; DE HOOG, E.; RUDY, E.B.; MUSKIET, F.A.J. Estimation of 24 hour polyamine intake from mature human milk. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 23, n. 3, p. 298-302, 1996.
- DUCHÉN, K.; THORELL, L. Nucleotide and polyamine levels in colostrum and mature milk in relation to maternal atopy and atopic development in the children. **Acta Paediatric**, v. 88, p. 1338-1343, 1999.
- EUCLYDES, M.P. **Nutrição do lactente, base científica para uma alimentação saudável**, 3ª ed. Viçosa: Suprema, 2005. 548 p.
- FERREIRA, C.S.; MARTINHO, P.C.; AMATO NETO, V.; CRUZ, R.R.B. Pasteurization of human milk to prevent transmission of Chagas disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 3, p. 161-162, 2001.
- FERREIRA, C.S.; AMATO NETO, V.; GARIYA, E.; BEZERRA, R.C.; RODRÍGUEZ-ALARCÓN, R.S. Microwave treatment of human milk to prevent transmission of Chagas disease. **Revista Institucional de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 1, p. 41-42, 2003.
- FOGEL, W.A.; LEWINSKI, A.; JOCHEM, J. Histamine in food, is there anything to worry about? **Biochemical Society Transactions**, v.35, n.2, p. 349-352, 2007.
- GALHARDO, A.L.S.M.; ARAÚJO, WM.C.; BORGGO, L.A. Acidez dornic como parâmetro de qualidade em bancos de leite humano. **Higiene Alimentar**, v.16, p. 16-27, 2002.
- GOLDBLUM, R.M.; DILL, C.W.; ALBRECHT, T.B.; ALFORD, E.S.; GARZA, C.;

- GOLDMAN, A.S. Rapid high-temperature treatment of human milk. **Journal of Pediatrics**, v. 104, n. 3, p. 380-384, 1984.
- GOLDMMAN, A.S. Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk, interfaces and interactions, an evolutionary perspective. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 426-431, 2000.
- ISRAEL-BALLARD, K.; CHANTRY, C.; DEWEY, K.; LONNERDAL, B.; SHEPPARD, H.; DONOVAN, R.; CARLSON, J.; SAGE, A.; ABRAMS, B. Viral, nutritional, and bacterial safety of flash-heated and Pretoria-pasteurized breast milk to prevent mother-to-child transmission of HIV in resource-poor countries. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v. 40, n. 2, p. 175-181, 2005.
- ISRAEL-BALLARD, K.; COUTSODIS, A.; CHANTRY,C.J.; STURM, A.W.; KARIM, F.; SIBEKO, L.; ABRAMS, B. Bacterial safety of flash-heated and unheated expressed breastmilk during storage. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 52, n. 6, p. 399-405, 2006.
- HALÁSZ, A.; BARATH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science and Technology**, v.5, n.2, p. 42-49, 1994.
- HARTMANN, S.U.; BERLIN, C.M.; HOWETT, M.K. Alternative modified infant-feeding practices to prevent postnatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 through breast milk: past, present, and future. **Journal of Human Lactation**, v. 22, n. 1, p. 75-88, 2006.
- JALDIN, M.G.M.; SANTANA, R.B. Anatomia da mama e fisiologia da lactação. In: REGO, J.D. (Ed) **Aleitamento Materno**. São Paulo: Atheneu, 2006. p.41-54.
- JEEVANANDAM, M.; PETERSEM, S.R. Clinical role of polyamine analysis: problem and promise. **Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 4, p. 385-390, 2001.
- JEFFERY, B.S.; SOMA-PILLAY, P.; MAKIN, J.; MOOLMAN, G. The effect of Pretoria pasteurization on bacterial contamination of hand-expressed human breastmilk. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 49, n. 4, p. 240-244, 2003.
- JEFFERY, B.S.; WEBBER, L.; MOKHONDO, K.R.; ERASMUS, D. Determination of the effectiveness of inactivation of human immunodeficiency virus by Pretoria pasteurization. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 47, n. 1, p. 345-349, 2001.
- KALAC, P.; KRAUSOVÁ, P. A review of dietary polyamines: formation, implications for growth and health and occurrence in foods. **Food Chemistry**, v. 90, p. 219-230, 2005.
- LAMOUNIER, J.A.; VIEIRA, G.O.; GOUVÊA, L.C. Composição do leite humano, fatores nutricionais. In: REGO, J.D. (Ed) **Aleitamento Materno**. São Paulo: Atheneu, 2006.

p.55-71.

LARQUÉ, E.; MOLINA, M.S.; ZAMORA, S. Biological significance of dietary polyamines. **Nutrition**, v. 23, p. 87-95, 2007.

LEITE, R.M.S. **Viabilidade do aleitamento materno exclusivo prevenir o desenvolvimento da dermatite atópica em lactentes até um ano de idade.** Brasília: Ciências da Saúde da UNB. 2006. 132 p. (Dissertação, Mestrado em Ciências da Saúde).

LIMA, A.S.; GLÓRIA. M..A. Aminas bioativas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.33, n.1, p.70-79, 1999.

MAIA, P.R.S.; ALMEIDA, J.A.G.; NOVAK, F.R.; SILVA, D.A. Rede nacional de bancos de leite humano: gênese e evolução. **Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil**, v. 6, n. 3, p. 285-292, 2006.

MEDEIROS, M.A.; COSTA-E-SOUZA, R.H.; OLIVARES, E.L.; CORTES, W.S; REIS, L.C. A reassessment of the role of serotonergic system in the control of feeding behavior. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n.1, p. 103-111, 2005.

NEJAR, F.F.; SEGALL-CORRÊA, A.M.; REA, M.F.; VIANNA, R.P.T.; PANIGASSI, G. Padrões de aleitamento materno e adequação energética. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 64-71, 2004.

NOVAK, F.R.; JUNQUEIRA, A.R.; DIAS, M.S.P.C.; ALMEIDA. J.A.G. Análise do leite humano ordenhado e sua carga microbiana. **Jornal de Pediatria**, v.84, n.2, p. 181-184, 2008.

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

NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G.; MORAES, B.A.; ASENSI, M.D.; MORAES, B.A.; RODRIGUES, D.P. Resistência antimicrobiana de coliformes isolados de leite humano ordenhado. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n.3, p.713-717, 2001.

OLIVEIRA, G.L. **Mecanismos envolvidos na antinocepção causada pela agmatina em camundongos.** Itajaí: Centro de Educação de Ciência da Saúde da UNIVALI. 2005. 98 p. (Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

PEÑA, C.V.M. **Histamina e tiramina em embutidos cárneos.** Santa Maria: Centro de Ciências Rurais da UFSM. 2006. 85 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

POLLACK, P.F.; KOLDOVSKY, O.; NISHIOKA, K. Polyamines in human and rat milk and in infant formulas. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 371-375, 1992.

- RIBEIRO, K.D.S.; MELO, I.L.P.; PRISTO, A.Z.O.; DIMENSTEIN, R. The effect of processing on the vitamin A content of human milk. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. 1, p. 61-64, 2005.
- ROMAIN, N.; DANDRIFOSSE, G.; JEUSETTE, F.; FORGET, P. Polyamine concentration in rat milk and food, human milk, and infant formulas. **Pediatric Research**, v. 32, n. 1, p. 58-63, 1992.
- ROSSATO, S.B. **Níveis de histamina em diferentes microvinificações**. Santa Maria: Centro de Ciências Rurais da UFSM. 2005. 85 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- SAARELA, T.; KOKKONEN, J.; KOIVISTO, M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. **Acta Paediatrica**, v. 94, p.1176-1181, 2005.
- SANTOS, W.C.; SOUZA, M.R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines formation in milk Lactococcus in the presence or not of rennet and NaCl at 20 and 32 °C. **Food Chemistry**, v. 81, n.4, p. 595-606, 2003.
- SÉLLOS, I.T. **Qualidade bacteriológica do leite humano cru e pasteurizado do banco de leite da maternidade odete valadares**. Belo Horizonte: Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG. 1991. 76 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos).
- SERAFINI, A.B.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; RODRIGUES, M.A.V.; KIPNIS, A.; CARVALHO, C.O.; CAMPOS, M.R.H., MONTEIRO, E.C.; MARTINS, F.; JUBÉ, T.F.N. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 6, p. 775-779, 2003.
- SHALABY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675-690, 1996.
- SILVA, A.P.; SOUZA, N. Prevalência do aleitamento materno. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 301-310, 2005.
- SMS (Secretaria Municipal de Saúde). **Guia da saúde pública de Betim**. Betim: SMS, 2007. 106 p.
- TAYLOR, S.L. STRATTON, J.E.; HUTKINS, R.W. Biogenic amines in cheese and other fermented foods, a review. **Journal of food protection**, v. 54, n.6, p.460-470, 1991.
- TERPSTRA, F.G.; RECHTMAN, M.L.L.; HOEIJ, K.V.; BERG, H.; ENGELBERG, A.C.V.; WOUT, A.B.V. Antimicrobial and antiviral effect of high-temperature short-time pasteurization applied to human milk. **Breastfeeding Medicine**, v. 2, n. 1, p. 27-33, 2007.

- TRAHMS, C.M. Nutrição na lactância. In: MAHAN, L.K.; STUMP, S.E. (Ed) **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2002. p.187-204.
- TULLY, D.B.; JONES, F.; TULLYM.R. Donor milk: what's in it and what's not. **Journal of Human Lactation**, v. 17, n. 2, p. 152-155, 2001.
- TURNER, E.H. LOFTIS, J.M.; BLAKWELL, A.D.; Serotonin a la carte supplementation with the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan. **Pharmacology & Therapeutics**, v.109, p. 325-338, 2006.
- VALE, S.R.; GLÓRIA, M.B.A. Biogenic amines in Brazilian cheeses. **Food Chemistry**, v. 63, n. 3, p. 342-348, 1997.
- VIEIRA, A.A.; MOREIRA, M.E.L.; ROCHA, A.D.; PIMENTA, H.P.; LUCENA, S.L. Análise do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso ao nascimento. **Jornal de Pediatria**, v.80, n.6, p. 490-494, 2004.

APÊNDICE

APRESENTAÇÃO DO ESTUDO

O leite humano é um alimento completo, fundamental para a saúde das crianças nos seis primeiros meses de vida, pois apresenta uma composição adequada para fornecer energia e nutrientes necessários para o desenvolvimento e crescimento de crianças. O leite humano possui fatores antimicrobianos, imunológicos e de crescimento. Dentre estes, as poliaminas são importantes no crescimento e proliferação celular. Estas substâncias são bases orgânicas alifáticas essenciais para a renovação celular, e, portanto, são necessárias para manter um corpo saudável.

Este trabalho tem como objetivo verificar a influência da pasteurização sobre os teores de poliaminas em leite humano em banco de leite e propor alternativas para minimizar as perdas deste nutriente garantindo também a qualidade associada a vírus e bactérias patogênicas.

O resultado deste projeto será divulgado ao Banco de Leite Humano Dona Mariquinha do município de Betim, com a finalidade de contribuir para a pasteurização do leite humano.

Mestranda

Orientadora

Mestranda: Fabiane de Fátima Silva – (31) 3396 2846

Orientadora: Prof^a Maria Beatriz Abreu Glória – (31) 3409 6911

Laboratório de Bioquímica de Alimentos – (31) 3409 6926

Departamento de Alimentos

Faculdade de Farmácia

Universidade Federal de Minas Gerais

e-mail: fafasi@bol.com.br

ANEXO 1

UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de ética em pesquisa da UFMG - COEP

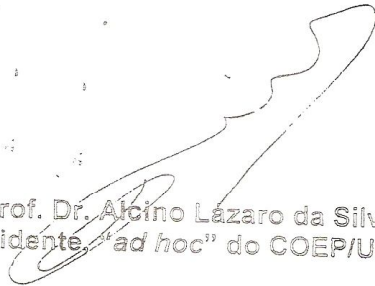


Parecer nº 08/02

Interessadas: Prof. Maria Beatriz Abreu Glória e
Regilda Saraiva dos Reis Moreira Araújo

Voto:

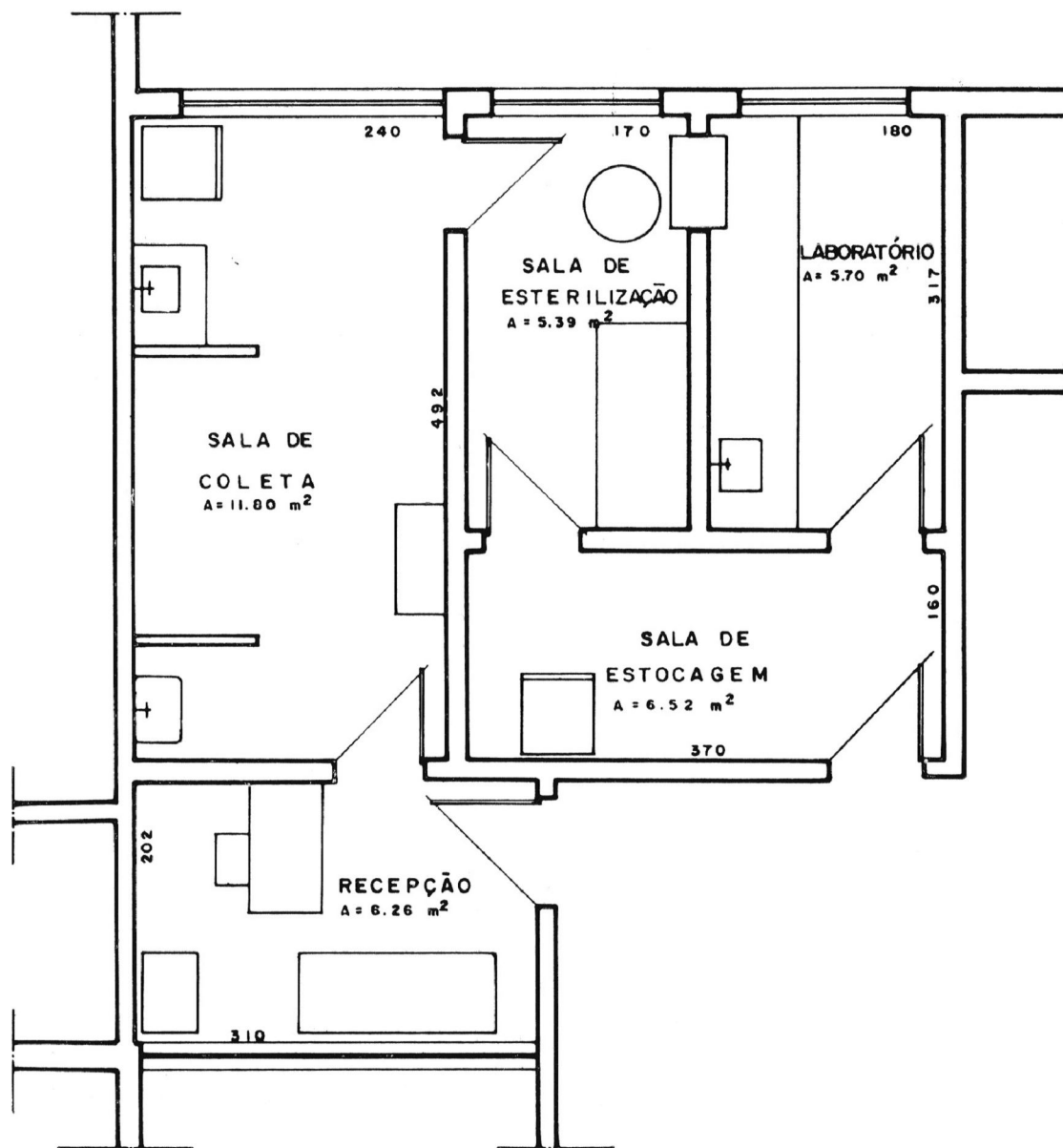
O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou no dia 20 de março de 2002 o projeto de pesquisa intitulado «Determinação dos tipos e teores de aminos bioativas, vitamina A e ferro no leite materno em diferentes fases de lactação e o efeito do processamento» e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto. O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva
Presidente, "ad hoc" do COEP/UFMG

voto 08

Av. Alfredo Balena, 110 – 1º andar Cep 30.130-100 – Belo Horizonte-MG
Telefone: (031) 248-9364 - FAX: (031) 248-9380 e-mail: coep@reitoria.ufmg.br

ANEXO 2



Fonte: Assis et al, 1983.