

## Tecnologias emergentes e segurança microbiológica do leite humano

Emerging technologies and microbiological safety of human milk

Tecnologías emergentes y seguridad microbiológica de la leche materna

Recebido: 01/11/2021 | Revisado: 09/11/2021 | Aceito: 22/11/2021 | Publicado: 01/12/2021

**Tarumim de Jesus Rodrigues Falcão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4951-3750>

Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

E-mail: [tarumim.falcao@aluno.ufop.edu.br](mailto:tarumim.falcao@aluno.ufop.edu.br)

**Camila Carvalho Menezes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6709-8706>

Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

E-mail: [camilamenezes@ufop.edu.br](mailto:camilamenezes@ufop.edu.br)

**Luciana Rodrigues da Cunha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5725-048X>

Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

E-mail: [lrcunha@ufop.edu.br](mailto:lrcunha@ufop.edu.br)

### Resumo

O leite humano possui componentes nutricionais e imunológicos que podem ser degradados pela pasteurização lenta (62,5°C/30 minutos), que é o tratamento térmico tradicionalmente utilizado em Bancos de Leite Humano para garantir sua segurança microbiológica. Portanto, faz-se necessário a busca por tecnologias que promovam menor impacto nas propriedades funcionais deste importante alimento. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de aplicação de tecnologias emergentes, que já são utilizadas na indústria de alimentos, para processamento do leite humano, garantindo sua segurança microbiológica e minimizando as alterações de sua composição. Para tal, foi realizada uma pesquisa bibliográfica livre em bancos de dados científicos, como Scientific Eletronic Library Online - SCIELO, Google Acadêmico e National Library of Medicine - Pubmed. As tecnologias emergentes de processamento selecionadas para esta revisão foram o aquecimento ôhmico, a alta pressão hidrostática e o ultrassom, devido ao potencial dessas técnicas no que se refere a inativação de microrganismos patogênicos. Apesar de haver poucos estudos sobre a aplicação dessas tecnologias no processamento de leite humano, pode-se dizer que há elevado potencial de aplicação dessas tecnologias no processamento desse alimento.

**Palavras-chave:** Banco de leite humano; Aquecimento ôhmico; Alta pressão hidrostática; Ultrassom.

### Abstract

Human milk has nutritional and immunological components that can be degraded by slow pasteurization (62.5°C/30 minutes), which is the thermal treatment traditionally used in Human Milk Banks to ensure its microbiological safety. Therefore, it is necessary to search for technologies that promote less impact on the functional properties of this important food. Therefore, the objective of this work was to evaluate the possibility of applying emerging technologies, which are already used in the food industry, for the processing of human milk, ensuring its microbiological safety and minimizing changes in its composition. To this end, a free bibliographic search was carried out in scientific databases such as Scientific Eletronic Library Online - SCIELO, Google Academic and National Library of Medicine - Pubmed. The emerging processing technologies selected for this review were ohmic heating, high hydrostatic pressure and ultrasound, due to the potential of these techniques in terms of the inactivation of pathogenic microorganisms. Although there are few studies on the application of these technologies in the processing of human milk, it can be said that there is a high potential for the application of these technologies in the processing of this food.

**Keywords:** Human milk bank; Ohmic heating; High hydrostatic pressure; Ultrasound.

### Resumen

La leche materna tiene componentes nutricionales e inmunológicos que pueden degradarse mediante una pasteurización lenta (62,5 ° C / 30 minutos), que es el tratamiento térmico utilizado tradicionalmente en los Bancos de Leche Humana para garantizar su seguridad microbiológica. Por tanto, es necesario buscar tecnologías que promuevan un menor impacto en las propiedades funcionales de este importante alimento. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la posibilidad de aplicar tecnologías emergentes, que ya se utilizan en la industria alimentaria, para el procesamiento de la leche materna, asegurando su seguridad microbiológica y minimizando los cambios en su composición. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica gratuita en bases de datos científicas como Scientific Eletronic Library Online - SCIELO, Google Academic y National Library of Medicine - Pubmed. Las tecnologías de procesamiento emergentes seleccionadas para esta revisión fueron el calentamiento ôhmico, la alta presión hidrostática y el ultrasonido, debido al

potencial de estas técnicas en términos de inactivación de microorganismos patógenos. Si bien existen pocos estudios sobre la aplicación de estas tecnologías en el procesamiento de la leche materna, se puede decir que existe un alto potencial para la aplicación de estas tecnologías en el procesamiento de este alimento.

**Palabras clave:** Banco de leche materna; Calefacción ohmica; Alta presión hidrostática; Ultrasonido.

## 1. Introdução

O leite humano (LH) é o alimento ideal para a criança, sendo totalmente adaptado às suas necessidades nos primeiros anos de vida. Ele é produzido naturalmente pelo corpo da mulher, e é o único que contém anticorpos e outras substâncias que protegem a criança de infecções comuns durante a fase de amamentação, além de fornecer nutrientes essenciais na dose certa para o crescimento e desenvolvimento adequado (Ministério da Saúde, 2019). Em situações em que as mães encontram-se impossibilitadas de amamentar, o LH deve ser coletado por meio de doações e processado em Bancos de Leite Humano (BLH), e será ofertado principalmente para bebês prematuros internados de baixo peso (menos de 2,5 kg) e com patologias, principalmente do trato gastrointestinal, conforme determinado pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz, 2021).

Por ser facilmente contaminado e servir de veículo para diversos patógenos, faz-se necessário um rigoroso controle da qualidade microbiológica do LH doado a fim de garantir sua segurança, evitando que microrganismos patogênicos sejam ingeridos pelos recém-nascidos, acarretando agravos à sua saúde. O LH ordenhado cru, que é aceito pelos BLHs a partir da observância do grau de acidez como pré-requisito de controle de qualidade, será pasteurizado a 62,5 °C durante 30 minutos em banho-maria, processo este que garante a inativação de microrganismos patogênicos que podem estar presentes. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2008), a pasteurização vem sendo um método eficaz para garantir a qualidade higiênico-sanitária do LH e de outros alimentos.

Apesar de garantir a segurança microbiológica do LH, existem desvantagens na utilização da pasteurização lenta devido ao longo tempo de exposição do alimento ao calor, o que permite a degradação de componentes nutricionais e imunológicos. A pasteurização influencia negativamente as características físico-químicas do LH (Favaretto et al., 2016). Em estudos realizados por Favaretto et al. (2016) foi observada diminuição nos teores de lipídios, reduzindo portanto, seu valor nutricional. Ewaschuk et al. (2011) e Silvestre et al. (2008) demonstraram queda nas propriedades antioxidantes ao analisarem os efeitos da pasteurização sobre o LH. Por esses motivos, novos tratamentos a partir de tecnologias emergentes vêm sendo propostos para o processamento de LH, visando reduzir os efeitos negativos promovidos pelo tratamento térmico convencional.

Dentre as diferentes tecnologias emergentes que vêm sendo adotadas pela indústria de alimentos, aquecimento ôhmico (AO), alta pressão hidrostática (APH) e ultrassom (US) foram selecionadas para uma discussão mais aprofundada. A motivação para esta seleção foi o potencial dessas tecnologias na inativação de microrganismos patogênicos, principalmente àqueles que podem estar presentes no LH. Portanto, essa revisão trata das possíveis aplicações dessas tecnologias como processos que garantam a qualidade microbiológica do LH em alternativa a tecnologia convencional de pasteurização. O objetivo desta revisão foi reunir os estudos realizados nos últimos 15 anos com tecnologias emergentes alternativas à pasteurização do LH, e a partir disso, abrir possibilidades de novos estudos e aprimoramentos.

## 2. Metodologia

A metodologia aplicada foi o estudo qualitativo por meio de pesquisas bibliográficas em bases de dados eletrônicas como Scientific Electronic Library Online - SCIELO (<https://scielo.org/>), Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/>) e National Library of Medicine – Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). Os artigos científicos selecionados se encontram principalmente no período compreendido entre os anos de 2007 e 2021, contribuindo de maneira expressiva a este trabalho. Foram utilizados também artigos, livros e capítulos de livros com informações consideradas relevantes anteriores a este período.

### **3. Revisão de Literatura**

#### **3.1 Leite Humano**

O LH não é visto apenas como um alimento, mas também como um sistema biológico funcional e dinâmico, fornecendo nutrientes, compostos bioativos e fatores imunológicos que protegem a criança de infecções, promovendo crescimento adequado e saudável, sendo universalmente reconhecido como o alimento ideal para recém-nascidos (Tu et al., 2017; Sousa; Delgadillo & Saraiva, 2014; Ministério da Saúde, 2009).

O LH é composto aproximadamente por 89,85% de umidade, 7,50% de carboidratos, 1,12% de proteínas, 1,38% de lipídios e 0,24% de cinzas (Silva et al., 2007). Dos carboidratos presentes no LH, 70% é lactose e o restante, que aparece em concentrações muito inferiores, são a glicose, galactose, oligossacarídeos complexos e glicoproteínas. As proteínas do soro constituem entre 60 a 90% do conteúdo proteico total, entre elas estão a alfa-lactalbumina (40%), a lactoferrina, a lisozima, a soroalbumina, as imunoglobulinas e a beta-lactoglobulina. A caseína constitui entre 10 a 40% das proteínas do LH, sendo predominantes as frações beta-caseína e a kappa-caseína. Em relação aos lipídios, os triglicerídeos aparecem como componente majoritário (98%) e o restante, pequenas quantidades de fosfolipídios, colesterol e produtos da lipólise, tais como ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis (Calil & Falcão, 2003). As principais vitaminas presentes no LH são as do complexo B, além das vitaminas A, C, D e K. O teor de cinzas, que corresponde ao conteúdo mineral do LH, apresenta grande diversidade, dentre eles estão sódio, potássio, cloreto, cálcio, magnésio, fósforo e sulfato (Andreas et al., 2015; Calil & Falcão, 2003).

A composição do LH é dinâmica e varia com a dieta da mãe, período do dia, fases da lactação e entre mães e populações. Essas diferenças incluem fatores maternos, ambientais e nos procedimentos adotados para o fornecimento do LH doado, como armazenamento e pasteurização (Ballard & Morrow, 2013).

Comumente, o LH é classificado em colostro, leite de transição e maduro, no entanto, essas classificações referem-se apenas à alteração gradual da composição durante a lactação (Kampmann & Mehring, 2015). O colostro é o leite secretado nos primeiros dias e contém mais proteínas e menos gorduras do que o leite maduro. O leite de transição é produzido no período intermediário entre o colostro e o leite maduro (aproximadamente até o décimo dia) e o leite maduro é produzido logo após esse período, se mantendo até o fim da lactação (Andreas et al., 2015; Ministério da Saúde, 2009).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021a) o LH é considerado o alimento padrão ouro, sendo a amamentação uma das formas mais eficazes de garantir a saúde e sobrevivência da criança. A OMS recomenda a amamentação exclusiva até os seis meses de idade e de forma complementar, até os dois anos de idade. Em circunstâncias difíceis, como no caso de bebês prematuros ou de baixo peso, a amamentação continua a ser o modo preferido de alimentação (OMS, 2021b). São poucas as alternativas para suprir as necessidades do bebê quando não se pode contar com a amamentação, sendo as principais o LH doado ou fórmulas. De acordo com a OMS (2019), o LH doado, em comparação à fórmula, está associado à menor incidência de distúrbio intestinal grave, enterocolite necrosante e outras infecções durante a internação hospitalar inicial após o nascimento.

#### **3.1.1 Pasteurização em bancos de leite humano**

O BLH é uma instituição especializada, cuja missão é promover, apoiar e proteger o aleitamento materno, realizando a coleta, processamento, garantia da qualidade e distribuição do LH coletado aos recém-nascidos, contribuindo para a diminuição da mortalidade infantil. Atualmente, a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano (rBLH-BR) possui 224 unidades distribuídas pelo país, além de 214 postos de coleta de LH (PCLH). O BLH do Instituto Fernandes Figueira é o mais antigo, tendo sido implantado em 1943 (Fiocruz, 2021). Para ser doadora, a lactante deve seguir alguns requisitos, como estar saudável e apresentar exames pré e pós-natal compatíveis com a doação de LH, podendo o leite estar em qualquer uma de suas fases (ANVISA, 2006).

O LH possui composição rica em diversos nutrientes, e suas características intrínsecas como elevada atividade de água e pH próximo a neutralidade, faz com que este produto seja um excelente meio de cultura para inúmeras espécies de microrganismos (Novak, Junqueira, Dias & Almeida, 2008; Franco & Landgraf, 2005). Normalmente, o LH não possui microrganismos patogênicos, porém pode ser contaminado devido a práticas deficientes de higiene, tanto das mães doadoras quanto dos ambientes de coleta e armazenamento (Mitsue, 2010). A ordenha deve ser realizada com rigor higiênico-sanitário de maneira a manter as características imunobiológicas e nutricionais do LH, utilizando de material previamente esterilizado (ANVISA, 2008; ANVISA, 2006)

Alguns microrganismos que podem contaminar o leite, devido a procedimentos inadequados de manuseio e higiene no momento da ordenha ou em consequência de mastite clínica, são *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e bactérias do gênero *Streptococcus* e *Salmonella ssp* (Mediano et al., 2017; Viazis, Farkas & Jaykus, 2008). Existe uma preocupação quanto a exposição dos recém-nascidos a essas bactérias pelo fato de parte delas serem causadoras de doenças como sepsse neonatal, meningite e doenças diarreicas, principalmente em bebês prematuros e imunocomprometidos (Keim et al., 2013).

Para que se possa garantir a qualidade microbiológica do LH oferecido aos recém-nascidos se faz necessária a aplicação de uma tecnologia para inativação dos microrganismos patogênicos que possam estar ali presentes. A pasteurização lenta é o procedimento padrão utilizado nos BLHs ao redor do mundo, com exceção apenas da Noruega e de alguns BLHs da Alemanha que utilizam leite cru, e de parte dos BLHs da África do Sul onde é utilizada pasteurização rápida (*European Milk Bank Association*, 2021; *Program for Appropriate Technology in Health*, 2021). Dessa maneira, o LH doado é pasteurizado antes da distribuição, utilizando baixa temperatura e longo tempo (62,5 °C por 30 minutos). Esse tratamento térmico adota como referência a inativação térmica do mesmo microrganismo alvo usado para o leite de vaca, *Coxiella burnetti*, pois este é o microrganismo patogênico não esporulado mais resistente termicamente, garantindo que os demais patógenos também sejam inativados (ANVISA, 2008). Segundo a RDC N° 171 do Ministério da Saúde (ANVISA, 2006), que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de BLH, o LH após pasteurização deve apresentar ausência de microrganismos do grupo coliformes. Esse grupo, quando em ausência, indica eficiência da pasteurização, pois são sensíveis à temperatura utilizada nesse processo (Masiello et al., 2016).

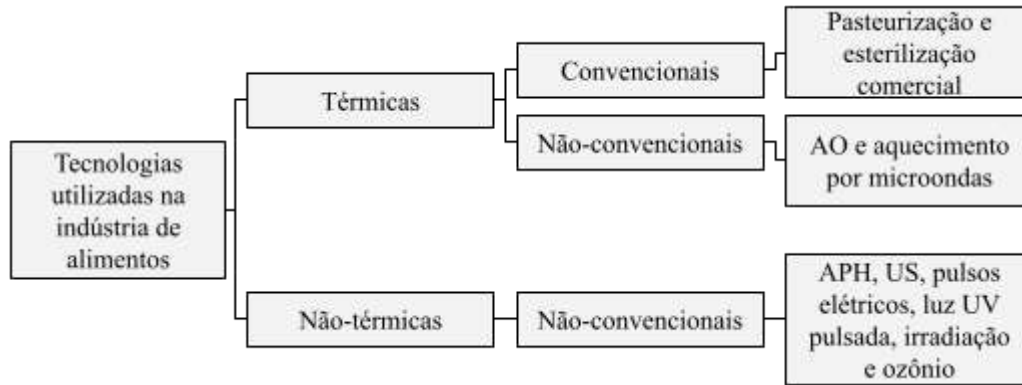
Os principais métodos utilizados para extensão da vida útil de um alimento têm como base os tratamentos térmicos convencionais, que fornecem a segurança e conservação necessárias, embora estes possam levar à perda de propriedades sensoriais e nutricionais (Cullen, 2012). Novas alternativas têm surgido para substituir essas tecnologias, utilizando tecnologias emergentes como AO, APH e US. Estas tecnologias já vêm sendo implementadas na indústria de alimentos (Lee, Choi & Jun, 2016).

### 3.2 Tecnologias Emergentes

Tecnologias emergentes, conhecidas também como tecnologias não-convencionais, são tecnologias em estágio de desenvolvimento da produção ou nos estágios iniciais de comercialização (Einsiedel, 2008). Atualmente, os consumidores desejam alimentos que sejam não só seguros, mas que também possuam boas propriedades nutricionais, bioativas e sensoriais. Assim, as tecnologias emergentes surgem visando atender a essas necessidades, substituindo ou aprimorando as tecnologias convencionalmente utilizadas (Moreno-vilet, Hernández-hernández, & Villanueva-rodríguez, 2018).

As tecnologias utilizadas na indústria de alimentos, como demonstrado na Figura 1, podem ser divididas entre térmicas e não-térmicas. Pasteurização e esterilização comercial são as térmicas convencionais. No entanto, tecnologias térmicas não-convencionais, como o AO e aquecimento por micro-ondas também vêm sendo empregadas. Há ainda as não térmicas não-convencionais como APH, US, pulsos elétricos, irradiação, luz UV pulsada e processamento por ozônio (Embrapa, 2012).

**Figura 1:** Tecnologias de processamento utilizadas na indústria de alimentos.

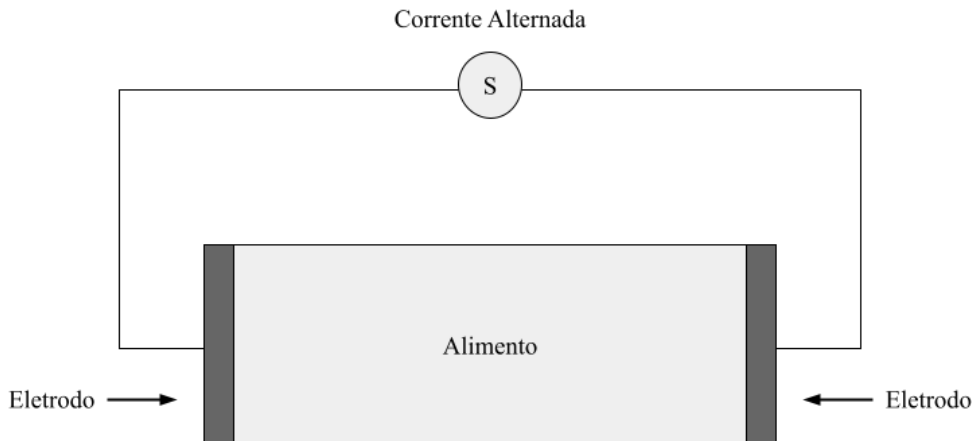


Fonte: Autores.

### 3.2.1 Aquecimento Ôhmico

O AO, também chamado de aquecimento de Joule, aquecimento por resistência ou aquecimento por eletrocondução, se baseia no princípio de que todos os alimentos possuem uma resistência elétrica inerente ao fluxo de eletricidade. Este processo consiste na passagem de corrente elétrica através do alimento colocado entre dois eletrodos e a resistência elétrica desse alimento faz com que ele seja aquecido por meio da conversão de energia elétrica em térmica (Figura 2) (Fellows, 2019; Priyanka; PS Minz & Subramani, 2018; Leadley, 2008). O desenho de um aquecedor ôhmico deve levar em conta as propriedades específicas do alimento, como sua composição, resistência elétrica, forma, tamanho, condutividade térmica e densidade (Fellows, 2019).

**Figura 2:** Esquema de aquecedor ôhmico.



Fonte: Adaptado de Leite et al, 2017

Existem diversas vantagens na utilização do AO em alternativa às tecnologias térmicas convencionais, sendo a principal delas a rápida geração do calor e de maneira uniforme, pois este não necessita ser transferido por meio de uma interface. A exposição do alimento a temperaturas mais altas em um curto espaço de tempo (princípio HTST - *high-temperature short-time*) causa mudanças mínimas nas suas características nutricionais, sensoriais e estruturais (Priyanka et al., 2018; Tucker, 2008). O tratamento HTST convencional não é comumente aplicado por necessitar de uma grande escala para que seja economicamente viável, pois possui custos extremamente elevados (Terpstra et al, 2007). Outras vantagens estão na diminuição de incrustações nos equipamentos, além da baixa manutenção e investimentos em relação a outras tecnologias (Fellows, 2019).

Um dos fatores mais importantes a se considerar quando se fala de tecnologias de conservação é a sua capacidade de garantir a segurança microbiológica dos alimentos. No processo de AO, além dos efeitos térmicos que causam a inativação dos

microrganismos, existem pesquisas que apontam um efeito não-térmico adicional, a eletroporação (Sun et al., 2008). Quando operado a baixas frequências (50 a 60 Hz), promove acúmulo de cargas na parede celular dos microrganismos, o que permite a formação de poros que irão causar sua inativação (Da Costa, 2017; Leite, Tribst & Cristianini, 2017; Pereira et al., 2015). Outros efeitos possíveis são o rompimento da membrana celular, eletrólise de compostos da superfície da membrana e ruptura dielétrica, que seria causada pela atração das superfícies internas e externas da membrana, levando a formação de poros irreversíveis (Leite et al., 2017).

Várias são as aplicações do AO dentro da indústria de alimentos, desde o processamento térmico (pasteurização, esterilização ou branqueamento) até como auxiliar de processos de fermentação, desidratação ou extração (Leite et al., 2017). Apesar de ser uma técnica ainda pouco utilizada, possui elevado potencial de aplicação, principalmente quando se trata de misturas líquidas (Nascimento, Reis & Rebello, 2014).

Embora promissora, três fatores limitam o crescimento na implementação do AO na indústria. O primeiro dificultador é a diferença nas condutividades elétricas entre os componentes sólidos e líquidos em alimentos que possuam essa variabilidade, além das mudanças na condutividade com a elevação da temperatura. Há dificuldade ainda em se encontrar dados sobre os fatores críticos que afetam a taxa de aquecimento, e também falta de técnicas precisas de monitoramento da temperatura para descrever a distribuição de calor e localizar pontos frios durante o processo (Fellows, 2019)

Apesar de ser tratada como tecnologia emergente, a tecnologia de AO não é recente, e uma de suas primeiras aplicações industriais ocorreu na década de 1930, na pasteurização do leite de vaca, porém este processo foi descontinuado. A tecnologia voltou a ser utilizada em algumas aplicações na década de 1980, incluindo a pasteurização de ovos líquidos e o processamento de frutas (Sastry, 2004). Possui alto uso comercial na União Europeia, Estados Unidos e Japão há mais de 15 anos, sendo utilizada principalmente no processamento de carnes, frutas, vegetais, leite de vaca e sucos (Pereira et al., 2015).

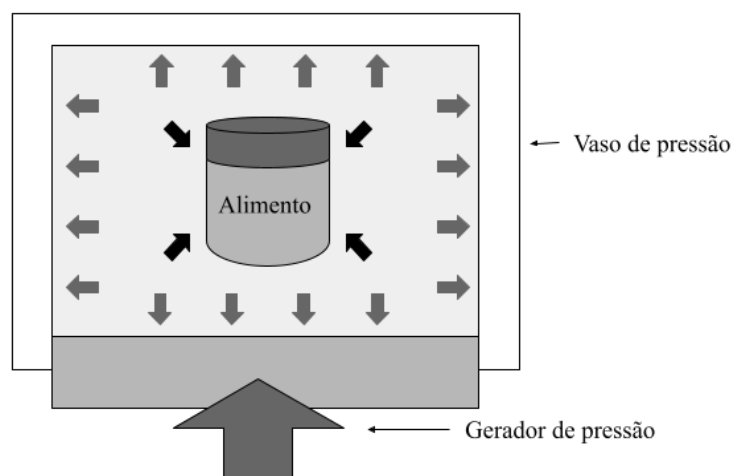
Os primeiros ensaios experimentais da tecnologia de AO realizados em LH foram executados em uma planta piloto localizada no Alfa Laval em Parma - Itália. Estes ensaios mostraram que não houve modificações no padrão protéico do LH a uma temperatura de 72 °C, pequenas mudanças a uma temperatura de 78 °C e mudanças significativas em uma temperatura de 85 °C (Moro & Arslanoglu, 2012). O efeito do AO e da pasteurização sobre microrganismos aeróbios viáveis e *Streptococcus thermophilus* no leite de vaca foi estudado por Sun et al. (2008). Foi encontrado que a contagem microbiana e o valor D para os tratamentos com AO foram significativamente mais baixos que os resultados obtidos para o tratamento térmico convencional. Além disso, Sun et al. (2008) estudaram a desnaturação de proteínas deste alimento nos dois tratamentos, obtendo resultados semelhantes para ambos, o que demonstra que o AO pode ser eficaz na pasteurização do leite de vaca, sem alteração adicional de proteínas. Park e Kang (2013) e Sun et al. (2008) justificam a diminuição do tempo de tratamento para eficiência na redução microbiana durante a utilização do AO com o efeito não térmico adicional dessa tecnologia.

O AO do leite de vaca também foi material de estudo utilizado por Priyanka et al. (2008), onde foi analisado o padrão de aquecimento utilizando como parâmetros a taxa de aquecimento, eficiência térmica e distribuição, e perfil de temperatura. Foram observadas maior eficiência térmica, inexistência de incrustações, conservação da aparência do leite de vaca e aquecimento uniforme utilizando esta técnica, indicando viabilidade em sua aplicação para tratamentos de pasteurização. Park e Kang (2013) estudaram o efeito do AO em comparação à pasteurização em diferentes tempos e temperaturas na inativação de *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium e *Listeria monocytogenes* em suco de maçã. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o AO reduziu de maneira mais eficaz a população bacteriana em temperaturas mais baixas e em menores tempos.

### 3.2.2 Alta Pressão Hidrostática

O processamento por APH, conhecido como pressão hidrostática elevada ou pressão ultraelevada, ou por nomenclaturas internacionais comumente utilizadas como *High Pressure Processing*, *Ultra High Pressure* e *High Hydrostatic Pressure* é uma tecnologia não térmica que consiste na exposição do alimento a altas pressões (entre 100 e 800 MPa) por um período de tempo que vai desde um pulso de um milissegundo até vários minutos, podendo o alimento ser líquido ou sólido e estar ou não embalado (Fellows, 2019; Nascimento, Silva & Barbosa, 2013). O sistema mais comum de um equipamento de APH é constituído de um vaso de pressão e um gerador de pressão, como mostra a Figura 3. O alimento é carregado no recipiente e a parte superior é fechada. A água (fluido de transmissão de pressão) é bombeada para o vaso pelo fundo até que se alcance a pressão desejada, então as válvulas são fechadas e a pressão é mantida (Patterson, 2014).

**Figura 3:** Esquema de processamento por APH.



Fonte: Adaptado de Verruck e Prudencio (2018).

Algumas das vantagens na utilização do processamento por APH são os curtos tempos de processamento, inativação de células bacterianas vegetativas, preservação da cor, sabor e nutrientes, alterações desejáveis de textura, processamento de produtos embalados, uniformidade de tratamento e baixo consumo de energia. Entre as desvantagens estão a obrigatoriedade dos alimentos possuírem mais de 40% de água livre para efeitos antimicrobianos, equipamentos de custos elevados, alguma sobrevivência microbiana, e a incapacidade de processar alimentos secos ou que contenham ar ocluído (Fellows, 2019; Almeida et al., 2018).

O uso de APH no processamento de alimentos que possuem água na sua composição (leite, suco de frutas, carnes, etc) promove a inativação total ou parcial dos microrganismos patogênicos presentes (Coelho, 2002). Esse efeito antimicrobiano é decorrente de alterações das ligações não covalentes das proteínas, causando desestabilização da membrana e da parte intracelular (Fellows, 2019; Almeida et al., 2018). Além disso, mudanças morfológicas como compressão dos vacúolos gasosos, alongamento das células, contração da parede celular com formação de poros, modificação do núcleo, modificações nas organelas intracelulares e no citoesqueleto, separação da membrana da parede celular, coagulação das proteínas citoplasmáticas e liberação dos constituintes intracelulares para fora da célula também são observados (Ferreira; Masson & Rosenthal, 2008).

Diversos fatores podem influenciar no grau de inativação dos microrganismos no processo de APH, tanto em relação ao próprio microrganismo, quanto ao processo em si. A espécie, formato, se a coloração é Gram positiva ou negativa, fase de crescimento e outros aspectos da morfologia da célula influenciam na sensibilidade do microrganismo à pressão (Nascimento et al., 2013). Temperatura, pressão e tempo de tratamento, pH e composição do meio, presença de antimicrobianos e tipo de pressão utilizada são as variáveis do processo (Fellows, 2019). Os fatores considerados críticos para a inativação são pH e atividade de

água ( $A_w$ ) da matriz alimentícia em que se encontram os microrganismos. Em pH mais ácido as células bacterianas tornam-se mais susceptíveis à inativação causada pela pressão e quanto menor a  $A_w$ , maior é o efeito baroprotetor dos constituintes dos alimentos sobre os microrganismos (Ferreira et al., 2008).

Experimentos utilizando APH como método de conservação de alimentos tiveram os primeiros registros no ano de 1899 nos Estados Unidos, na conservação de leite de vaca, frutas e suco de frutas, mas somente entre as décadas de 1980 e 1990 atingiu o estágio de exploração comercial, na produção de geleias de frutas (Fellows, 2019; Sousa et al., 2014). Nos dias atuais, as principais aplicações do processamento por APH são na pasteurização e esterilização de produtos de frutas, molhos, picles, guacamole e molhos para saladas, pasteurização de carnes, frutos do mar e produtos de origem vegetal, descontaminação de ingredientes de alto risco ou valor agregado sensíveis ao tratamento térmico (Fellows, 2019; Almeida et al., 2018). Para causar efeitos de esterilização, ou seja, inativar os esporos bacterianos, a APH deve ser combinada à temperatura em um processo que utiliza pressões mais altas (500 - 900 MPa) e temperaturas também elevadas (90- 121 °C) (Fellows, 2019), porém por um tempo de tratamento mais curto, reduzindo a probabilidade de danos térmicos aos nutrientes presentes nos alimentos (Farid, 2009).

Embora o conhecimento dos consumidores sobre o que é APH seja escasso, esse processamento tem recebido resposta positiva em relação a aceitação. Os consumidores perceberam a naturalidade, melhora do sabor e o alto valor nutricional dos produtos que passam por esse processamento, ao contrário de alimentos que passam por processamentos térmicos que resultam em mudanças sensoriais e nutricionais significativas. A alta aceitação fez com que a tecnologia de APH fosse a única entre as emergentes que atingiu mercados de vários países com grande variedade de produtos. Porém, existem poucos relatos em relação ao conteúdo nutricional e à segurança microbiológica do LH submetido a APH (Sousa et al., 2014).

Viazis, Farkas e Allen (2007) estudaram os efeitos da APH na IgA total e atividade da lisozima no LH em comparação ao tratamento de pasteurização lenta. Os autores observaram que a APH promoveu maior preservação de IgA e de atividade de lisozima em comparação ao tratamento convencional. Permanyer et al. (2010) também estudaram os efeitos da APH na IgA e obtiveram resultados semelhantes, com menor degradação de IgA pelo tratamento de APH comparando com o tratamento de pasteurização lenta.

Viazis, Farkas e Jaykus (2008) estudaram o efeito da APH e pasteurização lenta do LH na inativação de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e ATCC 6538 e *Streptococcus agalactiae* ATCC 12927. O LH foi inoculado com um dos cinco patógenos com contagens entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC/ml. A pasteurização promoveu inativação, com redução de 7  $\log_{10}$  de todos os patógenos em 10 minutos de tratamento. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram maior resistência à APH, com redução satisfatória (6  $\log_{10}$ ) após 30 minutos de tratamento por APH, sendo as demais bactérias inativadas entre 2 e 4 minutos (redução de 8  $\log_{10}$ ). O efeito antimicrobiano de ambos os tratamentos sobre *Enterobacteriaceae* foi estudado por Permanyer et al. (2010), onde os autores constataram contagem total de bactérias em níveis indetectáveis para todos os tratamentos.

Ainda foram estudados os efeitos da APH nos teores de vitamina C, ácidos graxos e tocoferóis no LH por Molto-Puigmarti et al. (2011). Os teores de ácidos graxos e tocoferóis não apresentaram alterações, tanto para o tratamento de APH, quanto para pasteurização lenta, porém o teor vitamina C sofreu redução de 20% na pasteurização, enquanto para a APH esse teor foi mantido.

Segundo Sousa et al. (2014), a APH possui potencial para ser desenvolvida como método de pasteurização do LH, pois permite a inativação eficiente dos microrganismos patogênicos estudados, mantendo os componentes nutricionais e imunológicos que a pasteurização lenta reduz, porém são necessárias pesquisas extensas para que esta seja uma alternativa confiável.



### 3.2.3 Ultrassom

O US, também chamado de sonicação, é uma das tecnologias não térmicas dentre as emergentes no processamento de alimentos (Awad et al., 2012), e é definido como ondas sonoras com frequências que excedem a audição humana, geralmente acima de 20 kHz (Fellows, 2019). As ondas sonoras geradas pelo US podem apresentar intensidades e amplitudes diferentes, que vão depender da frequência operacional. Existem duas categorias principais de classificação para o US: alta potência, que utiliza frequências entre 20 kHz e 100 kHz a qual geralmente é utilizada na indústria de alimentos, e baixa potência, de frequências acima de 100 kHz (Sango et al., 2014).

Pesquisas sobre o potencial da utilização de ondas ultrassônicas no processamento de alimentos se iniciaram na década de 1920 e desde 1950 essa tecnologia já vem sendo utilizada industrialmente para limpeza de equipamentos e homogeneização. Em seguida, foi empregado o corte ultrassônico na indústria de alimentos e, em 1990 surgiu a selagem de materiais de embalagem e soldagem de plástico com uso dessa tecnologia. (Knorr et al., 2011). Nos últimos anos, o processamento de US tem demonstrado ser de grande interesse na área da ciência e tecnologia de alimentos. Auxílio em tratamentos térmicos, melhoria dos processos de transferência de massa e preservação de alimentos, manipulação e análise de textura, avaliação do tempo de colheita adequado para frutas e vegetais, controle de qualidade das propriedades sensoriais em biscoitos e produtos de cereais, melhoria no controle de qualidade em tempo real de óleos e produtos à base de gordura são alguns dos efeitos positivos relatados em suas várias aplicações (Awad et al., 2012; Knorr et al., 2011).

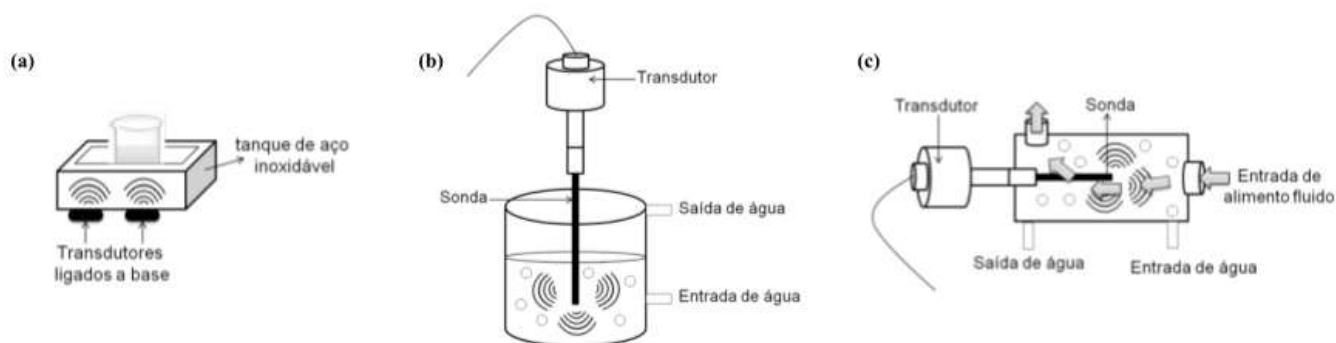
O US de alta potência também vem sendo utilizado na indústria de alimentos em diversas operações físicas, como corte, emulsificação/ homogeneização, secagem, filtração/separação, extração, desgaseificação/desaeração, tratamento da formação de espuma, despolimerização, cozimento, desmoldagem e extrusão, congelamento e cristalização, descongelamento, amaciamento da carne, salga, conserva e marinagem, esterilização/pasteurização e fermentação (Verruck & Prudencio, 2018). Atualmente, os processos assistidos por US só são possíveis graças à maior compreensão das interações entre US e alimentos, e do desenvolvimento de tecnologias escalonáveis de geração de US (Misra et al., 2017).

Quando aplicado a alimentos líquidos, o US pode provocar alterações por meio de efeitos da cavitação acústica (Tiwari e Mason, 2012). A cavitação e fenômenos associados são responsáveis pela maioria dos efeitos do US de alta potência no processamento de alimentos (Knorr et al., 2011), incluindo a capacidade de inativação microbiana (Sango et al., 2014). O fenômeno de cavitação acústica é provocado pelas alterações de pressão (compressão e expansão) que ocorrem devido a criação das ondas ultrassônicas, causando a formação de bolhas (Kentish, 2017). As bolhas de cavitação são divididas em dois tipos, transitórias e estáveis (Tiwari & Mason, 2012). A cavitação transitória ocorre quando as bolhas sofrem oscilações irregulares e implodem, produzindo altas temperaturas e pressões locais que desintegram as células biológicas. Quando essas bolhas implodem provocam também altas forças de cisalhamento e jatos de líquido com energia suficiente para danificar fisicamente a parede celular ou a membrana celular. A cavitação estável ocorre quando as bolhas sofrem oscilações regulares, induzindo ao microfluxo acústico (Chemat, Zill-e-Huma & Khan, 2011), que consiste no movimento circulatório do fluido que compõe uma suspensão biológica, aumentando a difusão de substâncias através da membrana celular (Guirro & Guirro, 2002, apud Siqueira, 2019).

Os mecanismos induzidos pelo US para inativação microbiana podem ser divididos em três classes: danos a parede celular durante o colapso das bolhas de cavitação dentro ou perto dos microrganismos; forças de cisalhamento induzidas pelo micro-fluxo que ocorre na própria célula microbiana; ataques químicos em razão da formação de radicais livres durante a cavitação, que atacam a estrutura da parede celular levando à desintegração, e da formação de uma pequena quantidade de peróxido de hidrogênio via sonicação, que possui ação bactericida (Tiwari & Mason, 2012). Os esporos parecem ser mais resistentes do que as formas vegetativas e os pontos críticos de processamento são a natureza das ondas ultrassônicas, o tempo de exposição aos microrganismos, o tipo de microrganismos, o volume dos alimentos processados, a composição dos alimentos e a temperatura (Chemat et al., 2011).

Embora seja efetivo, estudos têm demonstrado que o US combinado a outras técnicas possui melhor efeito antimicrobiano (Freitas, 2017; Sánchez-Rubio et al., 2016; Czank, Simmer e Hartmann, 2010; Gogate & Kabadi, 2009) pois, para que haja efetiva inativação dos microrganismos patogênicos, a duração e intensidade do tratamento devem ser elevadas, de forma a alterar negativamente propriedades físicas dos alimentos, como a textura. Portanto, faz-se necessária a combinação do US com outros tratamentos, como aquecimento, denominado de termossonicação (TS), pressão, denominado manossonicação (MS), ou ambos (Fellows, 2019). O efeito antimicrobiano do US também pode ser potencializado em combinação a agentes químicos como sanitizantes (Gogate & Kabadi, 2009), nisina (Freitas, 2017) e óleo essencial de folha de canela (Sánchez-Rubio et al., 2016), os quais já foram estudados e relatados pela literatura. Existem diversos tipos de equipamentos ultrassônicos, como demonstrado na Figura 4, entre eles, destacam-se o banho ultrassônico, a sonda ultrassônica e sistema de vibração paralela (Rastogi, 2011), os quais podem estar acoplados a equipamentos térmicos para TS ou recipientes pressurizados para MS (Fellows, 2019). Independente de qual tipo de indústria ou aplicação, é necessário que componentes básicos estejam presentes no equipamento, como o transdutor, que é o gerador de energia elétrica que envia fisicamente as ondas ultrassônicas para o meio (Feng, Barbosa-Cánovas & Weiss, 2011).

**Figura 4:** Sistemas de US mais comuns: (a) banho ultrassônico, (b) sonda ultrassônica, (c) sistema de vibração paralela.



Fonte: Adaptado de Verruck e Prudencio (2018).

Czank et al. (2010) avaliaram o efeito dos tratamentos do LH com US e TS sobre os microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus epidermidis*. Ambos tratamentos utilizaram frequência de 20 kHz e potência de 150 W, sendo que o tratamento de TS utilizou temperaturas de 45 e 50 °C. O tratamento utilizando US reduziu os níveis de *Escherichia coli* em 96% e de *Staphylococcus epidermidis* em 72%, enquanto o tratamento com TS, em ambas temperaturas, obteve inativação de 99,99% dos dois patógenos. Foi observado neste estudo que o *Staphylococcus epidermidis* apresentou maior resistência quando o US foi aplicado sozinho, porém obteve redução satisfatória junto a *Escherichia coli* quando associado à temperatura (TS). Foi concluído que a TS é um método eficaz para pasteurizar o LH doado em comparação com a pasteurização.

Parreiras (2019) avaliou o efeito da TS na inativação dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella ssp*, além de seu efeito sobre a atividade antioxidante *in vitro* e o teor de retinol do LH. Foram observadas reduções mais expressivas destes microrganismos nas temperaturas de 53,7 °C para *Staphylococcus aureus*, 52 °C para *Escherichia coli* e 60 °C para *Salmonella ssp*. Em comparação ao tratamento térmico convencional (pasteurização lenta), observou-se em ambos os métodos a estabilidade dos teores de retinol. Para a atividade antioxidante, verificou-se menor disponibilidade pelo processo de pasteurização. Os autores concluíram que a TS pode ser um tratamento promissor na redução dos patógenos estudados.

### 3.2.4 Descrição compilada das tecnologias de processamento: suas vantagens e desvantagens

O resumo sobre as vantagens e desvantagens citadas neste trabalho sobre o uso das tecnologias emergentes de AO, APH e US está descrito na Tabela 1.

**Tabela 1:** Algumas das vantagens e desvantagens das tecnologias de AO, APH e US.

	AO	APH	US
<b>Vantagens</b>	Geração de calor rápida e uniforme. (Priyanka et al., 2018)	Curtos tempos de processamento. (Almeida et al., 2018)	Eficaz contra células vegetativas, esporos e enzimas. (Fellows, 2019)
	Diminuição de incrustações. (Fellows, 2019)	Inativação de células bacterianas vegetativas. (Almeida et al., 2018)	Redução de tempo e temperatura nos tratamentos térmicos. (Fellows, 2019)
	Baixa manutenção e investimentos. (Fellows, 2019)	Preservação da cor, sabor e nutrientes. (Almeida et al., 2018)	Pequena adaptação necessária em plantas de processamento já existentes. (Fellows, 2019)
		Alterações desejáveis de textura. (Almeida et al., 2018)	
		Processamento de produtos embalados. (Almeida et al., 2018)	Possível modificação da estrutura e textura do alimento. (Fellows, 2019; Knorr et al., 2011)
		Uniformidade de tratamento. (Almeida et al., 2018)	
	Baixo consumo de energia. (Fellows, 2019)		
<b>Desvantagens</b>	Diferentes condutividades elétricas entre sólidos e líquidos. (Fellows, 2019)	Limitado a alimentos acima de 40% de Aw. (Fellows, 2019)	Definição de parâmetros otimizados para cada processo e produto. (Knorr et al., 2011)
	Fatores que afetam a taxa de aquecimento desconhecidos. (Fellows, 2019)	Custos elevados dos equipamentos. (Almeida et al., 2018)	Necessidade de combinação com outras técnicas para melhor inativação microbiana. (Fellows, 2019)
	Falta de técnicas precisas de monitoramento da temperatura. (Fellows, 2019)		

Fonte: Autores.

## 4. Considerações Finais

São poucos os estudos demonstrando a aplicação de tecnologias emergentes em LH. Se tratando das tecnologias analisadas nesta revisão, a APH tem sido a mais estudada até então. Sua aplicação demonstrou potencial viabilidade, principalmente por oferecer a segurança microbiológica necessária no tratamento do LH, além da preservação dos componentes nutricionais e imunológicos. Entretanto, não é um processo fácil de se implementar em larga escala para BLHs, devido aos custos elevados com equipamentos. O uso de US no tratamento de LH demonstrou maior efetividade na inativação microbiana, além de elevar a atividade antioxidante e manter estabilidade lipídica. Normalmente, o US não é utilizado sozinho devido à resistência microbiana, sendo portanto, combinado ao uso de calor (TS) e com outras técnicas, porém ele reduz os tempos e temperaturas dos tratamentos com calor convencionais, o que leva a uma maior retenção de nutrientes e componentes imunológicos do LH. Apesar de não se ter pesquisas suficientes em relação à aplicação do AO no LH para verificar a possibilidade de implementação desta tecnologia em BLHs, os estudos em outros alimentos, como o leite de vaca, demonstraram que sua ação sobre os microrganismos patogênicos geralmente presentes no LH é efetiva. A geração de calor rápida e uniforme no processo de AO é o principal fator que o torna promissor no tratamento do LH, pois parte do princípio de que processos que utilizam altas

temperaturas em um curto espaço de tempo causam mudanças mínimas nas suas características nutricionais, sensoriais e estruturais dos alimentos.

Reconhece-se a necessidade de mais estudos que levem a uma melhor compreensão sobre a utilização das tecnologias de AO, APH e US na garantia da segurança microbiológica do LH. Ainda assim, é possível supor que há potencial de aplicação dessas no processamento do LH, garantindo sua segurança microbiológica e minimizando as alterações nutricionais e sensoriais ocasionadas pelo processamento térmico convencional, pasteurização lenta.

## Referências

- Almeida, C. A. A., Lima, L. A. L. C., Pinheiro, R. C., Santos, L. R. O., Carvalho, L. C. F., Teles, A. R. S. (2018). *Efeito do processamento em altas pressões hidrostáticas nas propriedades dos alimentos: uma breve revisão* [Apresentação em conferência]. 6º Simpósio de Segurança Alimentar - RAURGS. Gramado - RS. [http://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/65\\_arqnovos.pdf](http://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/65_arqnovos.pdf)
- Andreas, N. J., Kampmann, B. & Mehring Le-doare, K (2015). Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*, 19 (11), 629-635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., Youssef, M. M. (2012) Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48 (2), 410-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2006). *Regulamento técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano* (RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006). Ministério da Saúde, Brasil. [https://www.saude.mg.gov.br/index.php?option=com\\_gmg&controller=document&id=3527](https://www.saude.mg.gov.br/index.php?option=com_gmg&controller=document&id=3527)
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2008). *Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos*. Ministério da Saúde, Brasil. [https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/manual\\_banco\\_leite.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/manual_banco_leite.pdf)
- Ballard, O. & Morrow, A. L (2013). Human milk composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatric Clinics of North America*, 60(1), 49-74. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2012.10.002>
- Calil, V. M. L. & Falcão, M. C. (2003). Composição do leite humano: o alimento ideal. *Revista de Medicina*, 82(1-4), 1-10. <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v82i1-4p1-10>
- Chemat, F., Zill-e-Huma & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Coelho, G. L. V. (2002). Efeitos da alta pressão hidrostática em alimentos: aspectos físico-químicos. *Revista Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra*, 21(1), 105-110. [http://www.ufrgs.br/alimentos/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alta-pressao/coelho\\_pap\\_fisicoquimica.pdf](http://www.ufrgs.br/alimentos/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alta-pressao/coelho_pap_fisicoquimica.pdf)
- Cullen, P. J., Tiwari, B. K. & Valdramidis, V.P. (2012). Status and Trends of Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. Em P. J. Cullen, B.K. Tiwari, & V.P. Valdramidis, *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods* (pp. 1-6). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00001-3>
- Czank, C., Simmer, K. & Hartmann, P. E. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *Journal of Dairy Research*, 77(2), 183-189. <https://doi.org/10.1017/S0022029909990483>
- DaCosta, Naiara Rocha (2017). *Efeito do Aquecimento Ôhmico nas Características Físico-Químicas, Microbiológicas e Sensoriais do Soro de Leite*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro]. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações. <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/4560>
- Einsiedel, E. F. (2009). *Emerging technologies: From hindsight to foresight*. UBC press. <https://repository.library.georgetown.edu/handle/10822/548504>
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa (2012). *Fundamentos de estabilidade de alimentos*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Brasil. <https://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00052480.pdf>
- European Milk Banking Association (2021). *Is donor milk always pasteurised or heat-treated?* <https://europeanmilkbanking.com/q-and-a/>
- Ewaschuk, J. B., Unger, S., Harvey, S., O'connor, D. L. & Field, C. J. (2011). Effect of pasteurization on immune components of milk: implications for feeding preterm infants. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 36, 175-182. <https://doi.org/10.1139/h11-008>
- Farid, M. M. (2009). *U.S. Patent Application No. 12/296,789*. <https://patentimages.storage.googleapis.com/32/96/ef/b37e3bf275ba68/US20090181139A1.pdf>
- Favaretto, M.; Vieczorek, A. L.; Silva, C. M.; Peder, L. D. & Teixeira, J. J. V. (2016). Composição lipídica e proteica do leite humano pré e pós-pasteurização. *Visão Acadêmica*, Curitiba, 17(4). <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v17i4.50597>
- Fellows, P. J. (2019). *Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática* (4a ed.). Artmed.
- Feng, H., Barbosa-Canovas, G & Weiss, J., (2011). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. Springer.
- Ferreira, E. H. R., Masson, L. M. P. & Rosenthal, A. (2008). Efeito da alta pressão hidrostática nos microrganismos. *B.CEPPA*, Curitiba, 26(1), 135-150. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/82951/1/2008-229.pdf>

- Franco, B. D. G. M. & Landgraf, M. (2005). *Microbiologia dos alimentos*. Atheneu, 23.
- Freitas, L. L. (2017). *Inativação de Shigella flexneri pela associação de nisina e ultrassom*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa]. Locus Repositório Institucional da UFV. <https://locus.ufv.br/handle/123456789/21428>
- Fundação Oswaldo Cruz (2021). *Doação de Leite Humano*. Ministério da Saúde, Rede Global de Bancos de Leite Humano. <https://rbhl.fiocruz.br/doacao-de-leite-humano-0>
- Gogate, P. R., & Kabadi, A. M. (2009). A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochem. Eng. J.* 44(1): 60-72. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.006>.
- Guirro, E., & Guirro, R. R. J. (2002). *Fisioterapia Dermato-Funcional: Fundamentos, Recursos e Patologias* (3a ed). Manole.
- Hunt, K. M., Foster, J. A., Forney, L. J., Schütte, U. M. E., Beck, D. L., Abdo, Z., Fox, L. K., Williams, J. E., Mcguire, M. K. & Mcguire, M. A. (2011). Characterization of the Diversity and Temporal Stability of Bacterial Communities in Human Milk. *Plos ONE*, 6(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021313>
- Keim, S. A., Hogan, J. S., Mcnamara, K. A., Gudimetla, V., Dillon, C. E., Kwiek, J. J. & Geraghty, S. R. (2013). Microbial Contamination of Human Milk Purchased Via the Internet. *PEDIATRICS*, 132(5). <https://doi.org/10.1542/peds.2013-1687>
- Kentish, S. E. (2017). Engineering Principles of Ultrasound Technology. Em D. Bermudez-Aguirre, *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation (pp. 1-13)*. Academic Press. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00001-4>
- Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O. & Schoessler, K. (2011). Emerging Technologies in Food Processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 203-235. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.102308.124129>
- Leadley, C. (2008). Novel Commercial Preservation Methods. Em G. S. Tucker, *Food Biodeterioration and Preservation* (pp. 211-244). <https://doi.org/10.1002/9780470697849.ch9>
- Lee, S. H., Choi, W. & Jun, S. (2016). Conventional and Emerging Combination Technologies for Food Processing. *Food Engineering Reviews*, 8, 414-434. <https://doi.org/10.1007/s12393-016-9145-3>
- Leite, T. S., Tribst, A. & Cristianini, M. (2017). Possibilidades e desafios no uso de aquecimento ôhmico para o processamento de alimentos. *B. CEPPA*, Curitiba, 35(2). <http://dx.doi.org/10.5380/bceppa.v35i2.60372>
- Masiello, S. N., Martin, N. H., Trmčić, A., Wiedmann, M. & Boor, K. J. (2016). Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *Journal Dairy Science*, 99, 1-11. 99:1-11. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9728>
- Mediano, P., Fernández, L., Jiménez, E., Arroyo, R., Espinosa-Martos, Rodríguez, J. M. & Marín, M. (2017). Microbial diversity in milk of women with mastitis: potential role of coagulase-negative Staphylococci, viridans group Streptococci, and Corynebacteria. *Journal of Human Lactation*, 1-10. <https://doi.org/10.1177/0890334417692968>
- Ministério da Saúde (2009). *Saúde da Criança: Nutrição Infantil, Aleitamento Materno e Alimentação Complementar*. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção à Saúde, Brasil. [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude\\_crianca\\_nutricao\\_aleitamento\\_alimentacao.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_crianca_nutricao_aleitamento_alimentacao.pdf)
- Ministério da Saúde (2019). *Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos* (1ª ed.). Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção à Saúde, Brasil. [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_crianças\\_menores\\_2anos.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_crianças_menores_2anos.pdf)
- Misra, N. N., Koubaa, M., Roohinejad, S., Juliano, P., Alpas, H., Inácio, R. S., Saraiva, J. A., Barba, F. J. (2017). Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. *Food Research International*, 97, 318-339. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.001>
- Mitsue, S. C. (2010). *Perfil Socio-Econômico e ambiental de doadoras de um Banco de Leite Humano no Vale da Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado*. [Dissertação de Mestrado, Universidade de Taubaté]. Repositório Unitau. <http://repositorio.unitau.br/jspui/handle/20.500.11874/1011>
- Molto-Puigmartí, C., Permanyer, M., Castellote, A. I., & Lopez-Sabater, M. C. (2011). Effects of pasteurisation and high-pressure processing on vitamin C, tocopherols and fatty acids in mature human milk. *Food Chemistry*, 124(3), 697-702. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.079>
- Moreno-vilet, L., Hernández-hernández, H.M. & Villanueva-rodríguez, S.J. (2018). Current Status of Emerging Food Processing Technologies in Latin America: Novel Thermal Processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 50, 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.013>
- Moro, G. E. & Arslanoglu, S. (2012). Heat Treatment of Human Milk. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54(2), 165-166. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318235d629>
- Nascimento, K. O., Reis, I. P. & Rebelo, F. F. P. (2014). Utilização do aquecimento ôhmico no processamento de alimentos. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento sustentável*, 9(5), 62-67. <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/3047>
- Nascimento, K. O., Silva, C. P. & Barbosa, M. I. M. J. (2013). Alta pressão hidrostática: tecnologia empregada no processamento de alimentos. *Acta Tecnológica*, 8(1), 63-70. <https://portaldeperiodicos.ifma.edu.br/index.php/actatecnologica/article/view/104/126>
- Nogueira, J. A. V. (2020). *Estabilidade lipídica e da atividade antioxidante do leite humano após processamento por termossonicação e armazenamento congelado*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto]. Repositório Institucional Universidade Federal de Ouro Preto. [https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/12766/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_EstabilidadeLip%C3%ADicaAtividade.pdf](https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/12766/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_EstabilidadeLip%C3%ADicaAtividade.pdf)
- Novak, F. R., Junqueira, A. R., Dias, M. S. P. C. & Almeida, J. A. G. (2008) Sensorial analysis of expressed human milk and its microbial load. *Jornal de Pediatria*, 84(2), 181-184. <http://dx.doi.org/10.2223/JPED.1739>

- Organização Mundial de Saúde (2019). *Donor human milk for low-birth-weight infants*. [https://www.who.int/elena/titles/donormilk\\_infants/en/](https://www.who.int/elena/titles/donormilk_infants/en/)
- Organização Mundial de Saúde (2021a). *Exclusive Breastfeeding*. [https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1)
- Organização Mundial de Saúde (2021b). *Infant and Young Child Feeding*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding>
- Park, I.-K & Kang, d.-H. (2013). Effect of Electroporation by Ohmic Heating for Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in Buffered Peptone Water and Apple Juice. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7122-7129. <https://doi.org/10.1128/AEM.01818-13>
- Parreiras, P. M. (2019) *Efeito da termossensibilização sobre micro-organismos, atividade antioxidante e teor de retinol no leite humano*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto]. Repositório Institucional Universidade Federal de Ouro Preto. <http://www.repositorio.ufop.br/jspui/handle/123456789/11860>
- Patterson, M. (2014). High-Pressure Treatment of Foods. Em C. Batt & P. Patel, *Encyclopedia of Food Microbiology* (2a ed.), Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00164-6>
- Pereira, R. N., Rodrigues, R. M., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A. (2015). Aquecimento Ôhmico: uma ferramenta ao serviço da biotecnologia. *Boletim de Biotecnologia*. <http://hdl.handle.net/1822/35324>
- Permanyer, M., Castellote, C., Ramirez-Santana, C., Audi, C., Perez-Cano, F. J., Castell, M., Lopez-Sabater, M. C., & Franch, A. (2010). Maintenance of breast milk immunoglobulin A after high-pressure processing. *Journal Dairy Science*, 93(3), 877-883. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2643>
- Priyanka, Ps Minz & Subramani P. (2018). Study of heating pattern during heat treatment of milk by ohmic heating. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 3033-3036. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue2/PartAQ/7-2-436-263.pdf>
- Program for Appropriate Technology in Health (2021). *Strengthening Human Milk Banking*. <http://www.hmbasa.org.za/wp-content/uploads/2015/02/PATH-Milk-banking-safety-quality.pdf>
- Rastogi, N. K. (2011). Opportunities and Challenges in Application of Ultrasound in Food Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 705-722. <https://doi.org/10.1080/10408391003770583>
- Sánchez-Rubio, M., Taboada-Rodríguez, A., Cava-Roda, R., López-Gómez, A., Marín-Iniesta, F. (2016). Combined use of thermo-ultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in natural orange and pomegranate juices. *Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.005>
- Sango, D. M., Abela, D., McElhatton, A. & Valdramidis, V. P. (2014). Assisted ultrasound applications for the production of safe foods. *Journal of Applied Microbiology*, 116, 1067-1083. <https://doi.org/10.1111/jam.12468>
- Sastry, S. K. (2004). Advances in Ohmic Heating and Moderate Electric Field (MEF) Processing. Em G.V. Barbosa-Canovas, M. S. Tapia & M. P. Cano, *Novel Food Processing Technologies* (pp. 491-499). <https://doi.org/10.1201/9780203997277.ch23>
- Silva, R. C., Escobedo, J. P., Gioielli, L. A., Quintal, V. S., Ibbidi, S. M. & Albuquerque, E. M. (2007). Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. *Química Nova*, 30(7), 1535-1538. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000700007>
- Silvestre, D., Miranda, M., Muriach, M., Almansa, I., Jareño, E. & Romero, F.J. (2008). Antioxidant capacity of human milk: effect of thermal conditions for the pasteurization. *Acta Paediatrica*, 97, 1070-1074. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.00870.x>
- Siqueira, K. D. S. (2019). *Ultrassom terapêutico de alta potência no tratamento da lipodistrofia localizada abdominal: ensaio clínico randomizado duplo cego*. [Tese de Doutorado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná]. Repositório Institucional da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. [http://riut.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4735/2/CT\\_CPGEI\\_D\\_Siqueira%2C%20Karina%20da%20Silva\\_2019.pdf](http://riut.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4735/2/CT_CPGEI_D_Siqueira%2C%20Karina%20da%20Silva_2019.pdf)
- Sousa, S. G., Delgado, I. & Saraiva, J. A. (2014). Human Milk Composition and Preservation: Evaluation of High-pressure Processing as a Nonthermal Pasteurization Technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(6), 1043-1060. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.753402>
- Sun, H., Kawamura, S., Himoto, J., Itoh, K., Wada, T. & Kimura, T. (2008). Effects of Ohmic Heating on Microbial Counts and Denaturation of Proteins in Milk. *Food Sci. Technol. Res.*, 14(2), 117-123. <https://doi.org/10.3136/fstr.14.117>
- Terpstra, F. G., Rechtmann, D. J., Lee, M. L., Hoeij, K. V., Berg, H., Engelenberg, F. A. C. V., Wout, A. B. V. (2007). Antimicrobial and Antiviral Effect of High-Temperature Short-Time (htst) Pasteurization Applied to Human Milk. *Breastfeeding Medicine*, 2(1), 27-33. <https://doi.org/10.1089/bfm.2006.0015>
- Tiwari, B. K. & Mason, T. J. (2012). Ultrasound Processing of Fluid Foods. Em P. J. Cullen, B. K. Tiwari, & V. P. Valdramidis, *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods* (pp. 135-165). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00006-2>
- Tu, A., Ma, Q., Bai, H. & Du, Z. (2017). A comparative study of triacylglycerol composition in Chinese human milk within different lactation stages and imported infant formula by SFC coupled with Q-TOF-MS. *Food Chemistry*. 221, 555-557. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.139>
- Verruck, S., Prudencio, E. S. (2018). *Ultrassom na Indústria de Alimentos: Aplicações no Processamento e Conservação*. Ponta Grossa - PR: Atena Editora
- Viazis, S., Farkas, B. E., & Allen, J. C. (2007). Effects of high-pressure processing on immunoglobulin A and lysozyme activity in human milk. *J Hum Lact.* 23(3), 253-261.
- Viazis, S., Farkas, B. E. & Jaykus, L. A. (2008). Inactivation of Bacterial Pathogens in Human Milk by High-Pressure Processing. *Journal of Food Protection*, 71(1), 109-118. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.1.109>