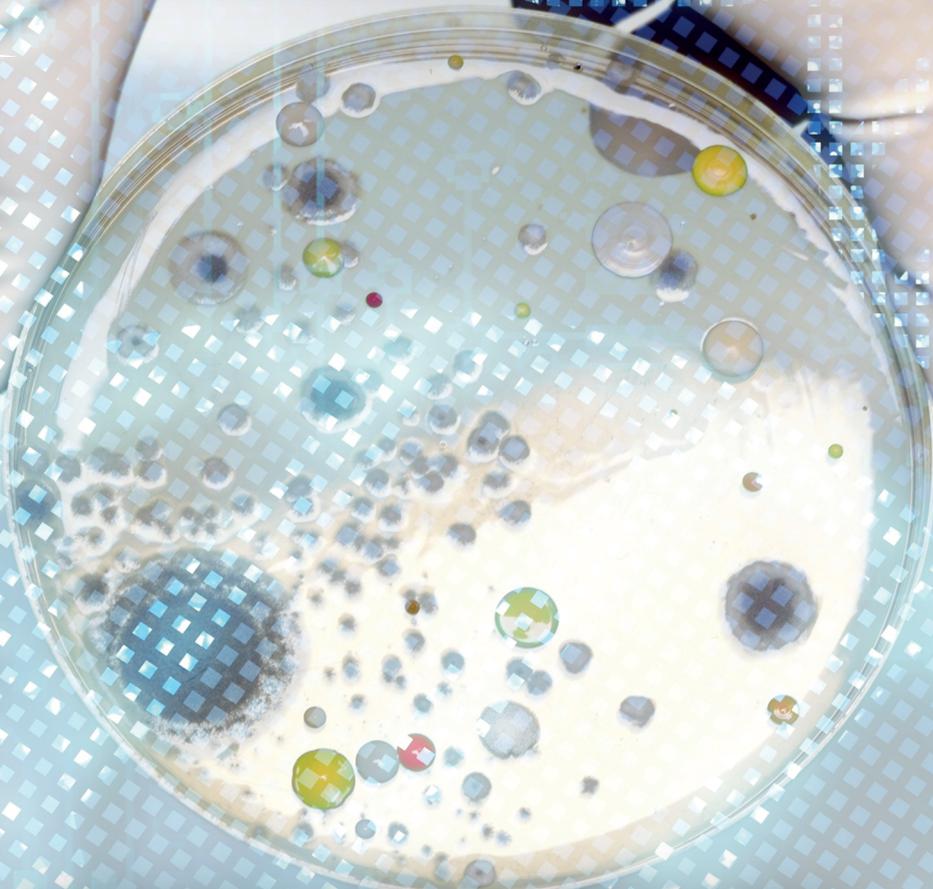
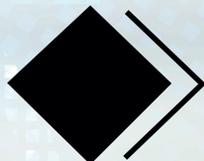


**Wiaslan Figueiredo Martins
Cybelle Pereira de Oliveira**
(Organizadores)



TECNOLOGIA & MICROBIOLOGIA

SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS



editora
científica digital

Wiaslan Figueiredo Martins
Cybelle Pereira de Oliveira
(Organizadores)

TECNOLOGIA & MICROBIOLOGIA

SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA
DOS ALIMENTOS

1ª EDIÇÃO



editora
científica digital

2022 - GUARUJÁ - SP



EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL LTDA
Guarujá - São Paulo - Brasil
www.editoracientifica.org - contato@editoracientifica.org

Diagramação e arte	2022 by Editora Científica Digital
Equipe editorial	Copyright© 2022 Editora Científica Digital
Imagens da capa	Copyright do Texto © 2022 Os Autores
Adobe Stock - licensed by Editora Científica Digital - 2022	Copyright da Edição © 2022 Editora Científica Digital
Revisão	Acesso Livre - Open Access
Os autores	

Parecer e revisão por pares

Os textos que compõem esta obra foram submetidos para avaliação do Conselho Editorial da Editora Científica Digital, bem como revisados por pares, sendo indicados para a publicação.

O conteúdo dos capítulos e seus dados e sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitido o download e compartilhamento desta obra desde que pela origem e no formato Acesso Livre (Open Access) com os créditos atribuídos aos respectivos autores, mas sem a possibilidade de alteração de nenhuma forma, catalogação em plataformas de acesso restrito e utilização para fins comerciais.



Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial-Sem Derivações 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T255

Tecnologia e microbiologia sob a perspectiva da segurança dos alimentos [livro eletrônico]: volume 2/ Organizador Wiaslan Figueiredo Martins. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

ISBN 978-65-5360-066-9

DOI 10.37885/978-65-5360-066-9

1. Alimentos – Indústria – Controle de qualidade. 2. Alimentos – Indústria – Controle de produção. 3. Gestão da qualidade total. I. Martins, Wiaslan Figueiredo.

CDD 664.07

Elaborado por Janaina Ramos – CRB8/9166

E-BOOK

ACESSO LIVRE ON LINE - IMPRESSÃO PROIBIDA

2022

CORPO EDITORIAL

Direção Editorial

Reinaldo Cardoso

João Batista Quintela

Editor Científico

Prof. Dr. Robson José de Oliveira

Assistentes Editoriais

Elielson Ramos Jr.

Erick Braga Freire

Bianca Moreira

Sandra Cardoso

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior - CRB6/2422

Jurídico

Dr. Alandelon Cardoso Lima - OAB/SP-307852



CONSELHO EDITORIAL

MESTRES, MESTRAS, DOUTORES E DOUTORAS

Robson José de Oliveira

Universidade Federal do Piauí, Brasil

Eloisa Rosotti Navarro

Universidade Federal de São Carlos, Brasil

Rogério de Melo Grillo

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

Carlos Alberto Martins Cordeiro

Universidade Federal do Pará, Brasil

Ernane Rosa Martins

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Brasil

Rossano Sartori Dal Molin

FSG Centro Universitário, Brasil

Edilson Coelho Sampaio

Universidade da Amazônia, Brasil

Domingos Bombo Damião

Universidade Agostinho Neto, Angola

Elson Ferreira Costa

Universidade do Estado do Pará, Brasil

Carlos Alexandre Oelke

Universidade Federal do Pampa, Brasil

Patrício Francisco da Silva

Universidade CEDMA, Brasil

Reinaldo Eduardo da Silva Sales

Instituto Federal do Pará, Brasil

Dalízia Amaral Cruz

Universidade Federal do Pará, Brasil

Susana Jorge Ferreira

Universidade de Évora, Portugal

Fabrcio Gomes Gonçalves

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Erival Gonçalves Prata

Universidade Federal do Pará, Brasil

Gevair Campos

Faculdade CNEC Unaí, Brasil

Flávio Aparecido De Almeida

Faculdade Unida de Vitória, Brasil

Mauro Vinicius Dutra Girão

Centro Universitário Inta, Brasil

Clóvis Luciano Giacomet

Universidade Federal do Amapá, Brasil

Giovanna Moraes

Universidade Federal de Uberlândia, Brasil

André Cutrim Carvalho

Universidade Federal do Pará, Brasil

Silvani Verruck

Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil

Auristela Correa Castro

Universidade Federal do Pará, Brasil

Oswaldo Contador Junior

Faculdade de Tecnologia de Jahu, Brasil

Claudia Maria Rinhel-Silva

Universidade Paulista, Brasil

Dennis Soares Leite

Universidade de São Paulo, Brasil

Silvana Lima Vieira

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

Cristina Berger Fadel

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

Graciete Barros Silva

Universidade Estadual de Roraima, Brasil

Juliana Campos Pinheiro

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Cristiano Marins

Universidade Federal Fluminense, Brasil

Silvio Almeida Junior

Universidade de Franca, Brasil

Raimundo Nonato Ferreira Do Nascimento

Universidade Federal do Piauí, Brasil

Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva

Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Brasil

Carlos Roberto de Lima

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

Daniel Luciano Gevehr

Faculdades Integradas de Taquara, Brasil

Maria Cristina Zago

Centro Universitário UNIFAAT, Brasil

Wesley Viana Evangelista

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

Samylla Maira Costa Siqueira

Universidade Federal da Bahia, Brasil

Gloria Maria de Franca

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Antônio Marcos Mota Miranda

Instituto Evandro Chagas, Brasil

Carla da Silva Sousa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Dennys Ramon de Melo Fernandes Almeida

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Francisco de Sousa Lima

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Reginaldo da Silva Sales

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Mário Celso Neves De Andrade

Universidade de São Paulo, Brasil

Maria do Carmo de Sousa

Universidade Federal de São Carlos, Brasil

Mauro Luiz Costa Campello

Universidade Paulista, Brasil

Sayonara Cotrim Sabioni

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Ricardo Pereira Sepini

Universidade Federal de São João Del-Rei, Brasil

Flávio Campos de Moraes

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Sonia Aparecida Cabral

Secretaria da Educação do Estado de São Paulo, Brasil

Jonatas Brito de Alencar Neto

Universidade Federal do Ceará, Brasil

Moisés de Souza Mendonça

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Pedro Afonso Cortez

Universidade Metodista de São Paulo, Brasil

Iara Margolis Ribeiro

Universidade do Minho, Brasil

Juliano Pizzano Ayoub

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

Vitor Afonso Hoeflich

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Bianca Anacleto Araújo de Sousa

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

Bianca Cerqueira Martins

Universidade Federal do Acre, Brasil

Daniela Remião de Macedo

Faculdade de Belas Artes da Universidade de Lisboa, Portugal

Dioniso de Souza Sampaio

Universidade Federal do Pará, Brasil

Rosemary Laís Galati

Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil

Maria Fernanda Soares Queiroz

Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil

Letícia Cunha da Hungria

Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil

Leonardo Augusto Couto Finelli

Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil

Thais Ranielle Souza de Oliveira

Centro Universitário Euroamericano, Brasil

Alessandra de Souza Martins

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

Claudimir da Silva Santos

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Fabício dos Santos Ritá

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Danielly de Sousa Nóbrega

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre, Brasil

Livia Fernandes dos Santos

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre, Brasil

Liege Coutinho Goulart Dornellas

Universidade Presidente Antônio Carlos, Brasil

Ticiano Azevedo Bastos

Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

Walmir Fernandes Pereira

Miami University of Science and Technology, Estados Unidos da América

Jônata Ferreira De Moura

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

Camila de Moura Vogt

Universidade Federal do Pará, Brasil

José Martins Juliano Eustaquio

Universidade de Uberaba, Brasil

Adriana Leite de Andrade

Universidade Católica de Petrópolis, Brasil

Francisco Carlos Alberto Fonteles Holanda

Universidade Federal do Pará, Brasil

Bruna Almeida da Silva

Universidade do Estado do Pará, Brasil

Clecia Simone Gonçalves Rosa Pacheco

Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Brasil

Ronei Aparecido Barbosa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Julio Onésio Ferreira Melo

Universidade Federal de São João Del Rei, Brasil

Juliano José Corbi

Universidade de São Paulo, Brasil

Thadeu Borges Souza Santos

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho

Universidade Federal do Cariri, Brasil

Francine Náthalie Ferraresi Rodriguess Queluz

Universidade São Francisco, Brasil

Maria Luzete Costa Cavalcante

Universidade Federal do Ceará, Brasil

Luciane Martins de Oliveira Matos

Faculdade do Ensino Superior de Linhares, Brasil

Rosenerly Pimentel Nascimento

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Irlane Maia de Oliveira

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

Lívia Silveira Duarte Aquino

Universidade Federal do Cariri, Brasil

Xaene Maria Fernandes Mendonça

Universidade Federal do Pará, Brasil

Thaís de Oliveira Carvalho Granado Santos

Universidade Federal do Pará, Brasil

Fábio Ferreira de Carvalho Junior

Fundação Getúlio Vargas, Brasil

Anderson Nunes Lopes

Universidade Luterana do Brasil, Brasil

Carlos Alberto da Silva

Universidade Federal do Ceara, Brasil

Keila de Souza Silva

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

Francisco das Chagas Alves do Nascimento

Universidade Federal do Pará, Brasil

Réia Sílvia Lemos da Costa e Silva Gomes

Universidade Federal do Pará, Brasil

Arinaldo Pereira Silva

Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil

Laís Conceição Tavares

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Ana Maria Aguiar Frias

Universidade de Évora, Brasil

Willian Douglas Guilherme

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

Evaldo Martins da Silva

Universidade Federal do Pará, Brasil

Biano Alves de Melo Neto

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

António Bernardo Mendes de Seica da Providência Santarém

Universidade do Minho, Portugal

Valdemir Pereira de Sousa

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida

Universidade Federal do Amapá, Brasil

Miriam Aparecida Rosa

Instituto Federal do Sul de Minas, Brasil

Rayme Tiago Rodrigues Costa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Priscyla Lima de Andrade

Centro Universitário UniFBV, Brasil

Andre Muniz Afonso

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Marcel Ricardo Nogueira de Oliveira

Universidade Estadual do Centro Oeste, Brasil

Gabriel Jesus Alves de Melo

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

Deise Keller Cavalcante

Secretaria de Estado de Educação do Rio de Janeiro

Larissa Carvalho de Sousa

Instituto Politécnico de Coimbra, Portugal

Susimeire Vivien Rosotti de Andrade

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Daniel dos Reis Pedrosa

Instituto Federal de Minas Gerais

Wiaslan Figueiredo Martins

Instituto Federal Goiano

Lênio José Guerreiro de Faria

Universidade Federal do Pará

Tamara Rocha dos Santos

Universidade Federal de Goiás

Marcos Vinicius Winckler Caldeira

Universidade Federal do Espírito Santo

Gustavo Soares de Souza

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo

Adriana Cristina Bordignon

Universidade Federal do Maranhão

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Larry Oscar Chañi Paucar

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Peru

Pedro Andrés Chira Oliva

Universidade Federal do Pará

APRESENTAÇÃO

Esta obra intitulada “Tecnologia e Microbiologia sob a Perspectiva da Segurança dos Alimentos” foi idealizada com a finalidade de reunir um material bibliográfico que possa ser uma fonte de referência para instituições acadêmicas e indústria de alimentos, compilando diversos trabalhos científicos e de revisão de literatura desenvolvidos por estudantes de cursos técnicos, de graduação, de pós-graduação, bem como por pesquisadores e extensionistas. As informações, contidas neste volume, abrangem temas como a microbiologia da segurança dos alimentos, a microbiologia preditiva aplicada aos alimentos, desenvolvimento de produtos por micro-organismos, qualidade microbiológica de alimentos, entre outros. Tem como objetivo fornecer uma abordagem ampla sob os aspectos para a produção de alimentos seguros e como a tecnologia pode contribuir para esse processo. Agradecemos aos autores pelo empenho, disponibilidade e dedicação para o desenvolvimento e conclusão desta obra. Esperamos que esta obra sirva de instrumento didático-pedagógico para estudantes, professores dos diversos níveis de ensino e aos profissionais das áreas de Ciência, de Tecnologia e de Engenharia de Alimentos, bem como qualquer pessoa interessada em diferentes campos do estudo de alimentos, ajudando-os a obter novas perspectivas.

Wiaslan Figueiredo Martins

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01

AVALIAÇÃO BACTERIOLÓGICA DA ÁGUA EM UMA PISCICULTURA, NO RESERVATÓRIO MOXOTÓ-BA, DESTINADA AO CULTIVO DE *OREOCHROMIS NILOTICUS* (LINNAEUS, 1758)

Naiane Barros de Souza; Pedro Henrique Leal Dantas; Juciléia Varjão da Silva; Amanda Maria Vieira do Nascimento; Maristela Casé Costa Cunha; Susana Menezes Luz de Souza; Danilo Mamede da Silva Santos

doi 10.37885/210906224..... 13

CAPÍTULO 02

AVALIAÇÃO DA CONDUTA DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS SOB UMA PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DE ALIMENTOS EM UM SUPERMERCADO

Moisés Iasley Lima Vasconcelos; Francisca Karoline da Costa Silva; José Milton Cordeiro Costa Júnior; João Emanuel Dias Tavares; Douglas Rodrigues Holanda; Fernando Paulino da Silva; Victor Barroso Bezerra; Lorena Silva Lima; Carolina Drummond Barboza; Mayumi Silveira Regadas Carvalho

doi 10.37885/211006446..... 24

CAPÍTULO 03

AVALIAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE ALIMENTOS EM LANCHONETES DA REGIÃO METROPOLITANA DA GRANDE VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO

Bárbara Morandi Lepaus; Jéssica Souza Rocha; Laísia Mariano Ferreira; Marina Gonçalves Afonso; Rayani Souza Rangel; Aline Carvalho Salvador Medeiros; Priscila Endlich Lozer; Jackline Freitas Brilhante de São José

doi 10.37885/220107470..... 32

CAPÍTULO 04

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE GOMA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE MACEIÓ - AL

Ângela Froelich; Celso Ritir Batista; Mylla Rafaelly da Silva Santos

doi 10.37885/210906228..... 47

CAPÍTULO 05

BENEFICIAMENTO E ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO MARISCO (*ANOMALOCARDIA BRASILIANA*) MARINADO E DEFUMADO

Maria Érica da Silva Oliveira; Raquel Lima Salgado; Joice Teixeira Souza; Carolina de Gouveia Mendes da Escóssia Pinheiro; Thiago Mendes Fernandes

doi 10.37885/220207609..... 55

SUMÁRIO

CAPÍTULO 06

ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO QUEIJO *PETIT SUISSE* SABOR CAJÁ, SEM ADIÇÃO DE GORDURA

Reginaldo Ferreira Sulino; Gerla Castello Branco Chinelate; Adriano Santana Silva; Mônica Correia. Gonçalves

doi 10.37885/220107523..... 68

CAPÍTULO 07

ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE *BACILLUS CEREUS* EM PURÊ DE BATATA ARMAZENADO EM DIFERENTES CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

Wiaslan Figueiredo Martins

doi 10.37885/220107546 76

CAPÍTULO 08

IMPLEMENTAÇÃO DE FERRAMENTAS DA QUALIDADE NA PRODUÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO: UM RELATO DE CASO

Raquel Bordignon; Maria Eduarda Peretti; Thainá Sabrina Haefliger Goldoni; Mirian Cristina Feiten

doi 10.37885/220207563..... 90

CAPÍTULO 09

INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO POR *PENICILLIUM EXPANSUM* EM MAÇÃS CONTENDO REVESTIMENTO COMESTÍVEL COM COMPOSTO ANTIFÚNGICO NATURAL

Fabiana Fiusa Ferreira; Deyse Sanae Ota; Laura Fernandes Campos; Marianne Ayumi Shirai; Alexandre Rodrigo Coelho

doi 10.37885/211206928 110

CAPÍTULO 10

POTENCIAL USO DE PREBIÓTICO, PROBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NO TRATAMENTO CÂNCER COLORRETAL: REVISÃO SISTEMÁTICA

Luciana Furlaneto Maia; Cristiane Adriana Biondo Hedler; Raquel Roman Ros

doi 10.37885/210906054..... 124

SUMÁRIO

CAPÍTULO 11

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA FINS DE AQUICULTURA NO ESTADO DO MARANHÃO: LEVANTAMENTO DAS ANÁLISES REALIZADAS EM LABORATÓRIO DE CONTROLE DA QUALIDADE NO PERÍODO DE 2015 A 2021

Liliane do Socorro Almeida Alves; Luciana Barros Oliveira; Kelly Fernanda de Sousa Santos; Greiciene dos Santos de Jesus; Gladhevan Aguilheira Pereira de Sousa; Luciana da Silva Bastos; Danilo Cutrim Bezerra; Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra; Selma Patrícia Diniz Cantanhede; Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

doi 10.37885/220107438 140

CAPÍTULO 12

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS PRODUZIDOS COM LEITE DE CABRA

Verônica Schmidt; Andrea Polidori Celia; Juliana Velasco

doi 10.37885/211006312 151

CAPÍTULO 13

REMOÇÃO DE AFLATOXINA B1 POR NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS EM MEIO FERMENTADO DO CULTIVO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Francine Kerstner; Andressa Fernandes Pivato; Allana Arcos Comitre; Karen Vanessa Marimón Sibaja; Lucielen Oliveira Santos; Jaqueline Garda-Bufferon

doi 10.37885/210906126 162

CAPÍTULO 14

SIMULAÇÕES DE BINÔMIOS E PERFIS DE TEMPO E TEMPERATURA DE PASTEURIZAÇÃO EQUIVALENTES AOS BINÔMIOS ESTABELECIDOS NA LEGISLAÇÃO

Amanda Estevão Gomes; Daniel Angelo Longhi

doi 10.37885/220107279 178

CAPÍTULO 15

USO DE ADITIVOS QUÍMICOS EM CALDA DE CONSERVAS DE CEBOLA BRANCA: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

Beatriz Campara; Ana Paula de Oliveira Schmitz; Patricia Dall Agnol; Luciano Lucchetta

doi 10.37885/211006307 198

SOBRE OS ORGANIZADORES 211

ÍNDICE REMISSIVO 212

Avaliação bacteriológica da água em uma piscicultura, no reservatório Moxotó-Ba, destinada ao cultivo de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

| **Naiane Barros de Souza**
UNEB

| **Maristela Casé Costa Cunha**
UNEB

| **Pedro Henrique Leal Dantas**
UNEB

| **Susana Menezes Luz de Souza**
UNEB

| **Jucicléia Varjão da Silva**
UNEB

| **Danilo Mamede da Silva Santos**
UNEB

| **Amanda Maria Vieira do Nascimento**
UNEB

RESUMO

O cultivo de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), tilápia do Nilo, é um dos setores da aquicultura que mais tem se desenvolvido na região do reservatório Moxotó-BA nos últimos anos, porém, o crescimento desordenado das cidades, em torno do reservatório, pode acarretar problemas na qualidade da água possibilitando o surgimento de doenças causadas por bactérias na piscicultura. A investigação de estirpes de bactérias bioindicadoras de poluição ambiental por dejetos orgânicos sanitários, na região do semiárido, é pouco estudada. **Objetivo:** Este trabalho objetiva verificar a presença de bactérias coliformes totais e termotolerantes no cultivo de uma piscicultura, do tipo tanque-rede, do reservatório de Moxotó, Bahia. **Metodologia:** A análise bacteriológica da água foi realizada através da técnica de tubos, técnica de tubos múltiplos. **Resultados:** Foi evidenciada uma quantificação de coliformes termotolerantes de 920 NMP/mL e 1600 NMP/mL para os meses de outubro e dezembro, respectivamente. Enquanto para o mês de agosto, a concentração de coliformes termotolerantes foi de 350 NMP/mL, possivelmente pela influência do período chuvoso na região. **Conclusão:** A comunidade de bactérias do grupo coliforme pode ser utilizada como bioindicadora de poluição ambiental e monitoramentos preditivos de poluição e efluentes sanitários para a região. O monitoramento da balneabilidade no reservatório Moxotó-BA é essencial para subsidiar um padrão mínimo de qualidade e conservação do reservatório onde estão implantadas as pisciculturas de *Oreochromis niloticus*.

Palavras-chave: Balneabilidade, Coliformes Termotolerantes, *Escherichia Coli*, rio São Francisco, Tilápia do Nilo.

■ INTRODUÇÃO

A piscicultura de água doce apresenta um amplo potencial econômico, estando presente em todos os estados brasileiros. Durante o ano de 2017, o município de Glória (BA), que distante 477 km da capital Salvador, foi o município brasileiro com maior produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758), com a média de aproximadamente 16.920 toneladas para este ano, estando entre os maiores municípios produtores de tilápia do Nilo no Brasil, predominando o cultivo em tanques - redes. (TENÓRIO, 2018).

Tanques-rede são estruturas flutuantes utilizadas para a criação de peixes, em rede ou tela revestidas, com malhas de diferentes tamanhos e que podem ser confeccionadas de diversos materiais, como tela de aço galvanizado revestido com PVC, aço inox entre outros, que permitem a passagem de fluxo de água e dos dejetos dos peixes. Devem ser construídos com materiais leves e não cortantes para facilitar o manejo e apresentar resistência mecânica e a corrosão (CODEVASF, 2019).

Essas estruturas têm a função de reter os indivíduos cultivados, permitindo livre fluxo na água. Suas armações permitem a sustentação da tela ou rede, além da fixação de outras estruturas, como flutuadores e comedouros (TANIGUCHI, 2014).

Para Callisto *et al.* (2002), Botelho *et al.* (2011), Cunha *et al.* (2017) e CETESB (2020) os múltiplos impactos antrópicos sobre os ecossistemas aquáticos têm sido responsáveis pela deterioração da qualidade ambiental de bacias hidrográficas. A detecção prévia de bactérias do grupo coliformes, pode fornecer meios para a melhoria da qualidade e gestão das pisciculturas. Segundo Rodrigues *et al.* (2009) o número de coliformes termotolerantes nos corpos d'água é um bom indicador de contaminação oriunda, principalmente, de despejo de esgoto doméstico e presença de animais próximos às margens, demonstrando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. O agente, frequentemente, mais utilizado para a qualidade da água é a bactéria *Escherichia coli*, bioindicadora de poluição por fezes humanas e animais de sangue quente (SILVA, 2020).

Segundo Denze e Vercellino (2018), o padrão de qualidade da água foi criado em 1975, com o objetivo de avaliar a substância em sua forma bruta para a potabilidade humana, porém apresentava deficiências, pois não analisava outros parâmetros essenciais como contaminantes tóxicos, micro-organismos patogênicos e substâncias que intervêm no padrão de consumo da água. A qualidade microbiológica da água, usualmente é avaliada pelo uso de bactérias indicadoras. A presença desses microrganismos em grande quantidade pode oferecer danos à saúde além de constatar que aquele recurso hidrográfico está poluído com matéria de origem fecal (FERNANDES, 2015).

Resignou o termo “Coliforme termotolerante” como um subgrupo de bactérias do grupo coliforme. Segundo o CONAMA, Resolução nº 357/2005, dentre as bactérias do grupo

coliforme, a bactéria *Escherichia coli*, pertencente à família Enterobacteriaceae, é caracterizada como termotolerante (44 - 45 °C) e abundante em fezes humanas e de animais de sangue quente indicando contaminação fecal por dejetos orgânicos sanitários e/ou excrementos. A presença de coliformes termotolerantes pode indicar contaminação de origem fecal e a existência de patógenos que se encontram em menores concentrações, todavia essas bactérias são encontradas em abundância em fezes de humanos e animais homeotérmicos (CERQUEIRA MMOP *et al.*, 2006; GODOI *et al.*, 2010). É considerada pela legislação vigente o bioindicador mais indicado na avaliação de contaminação por matéria fecal (BRASIL, 2004; CONAMA, 2005). Os coliformes termotolerantes são os micro-organismos de primeira escolha para avaliação da poluição de origem fecal no ambiente, uma vez que são constituídos predominantemente pela bactéria *E. coli*, considerada atualmente o indicador mais adequado (CETESB, 2015).

As bactérias do grupo coliformes não são causadoras de doenças aos peixes de cultivo, porém, quanto maior a população desses micro-organismos em uma amostra de água, maiores são as chances de contaminação (BATISTA; FUCKS, 2012). Seu reconhecimento em água é de fácil constatação, por meio de técnicas simples e rápidas, o que torna *E. coli* uma indicadora ideal para avaliar os parâmetros microbiológicos de poluição fecal (MARQUEZI, 2010).

As bactérias indicadoras de contaminação fecal, são usadas constantemente na avaliação de qualidade da água. Entretanto, a presença de coliformes na água no seu estado bruto, ou no que diz a potabilidade dentro do seu índice permitido pela portaria 2.914/11 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), não implica em contaminação, tendo em vista que bactérias desse grupo são encontradas facilmente difundidas no meio ambiente.

Dessa forma, as bactérias demonstram uma grande importância à saúde pública e segurança alimentar, sendo necessário um maior conhecimento a respeito de sua presença e distribuição, pois, a constatação de sua frequência de ocorrência poderá fornecer subsídios para estudos epidemiológicos envolvendo o pescado. No Brasil, a investigação de populações de bactérias bioindicadoras em pisciculturas do semiárido não são evidenciadas, possivelmente pelo acesso às áreas de coletas e capacidade de análise das amostras. Conforme a Lei 1283/50 que rege o controle de qualidade dos produtos oriundos da aquicultura, o Ministério da Agricultura tem a obrigação estatutária de fazer a devida fiscalização (BRASIL, 2018).

Este trabalho objetiva verificar a presença das bactérias do grupo coliforme total e termotolerantes, *Escherichia coli*, na água de uma piscicultura do tipo tanques-rede, do município de Glória, região semiárida da Bahia.

■ METODOLOGIA

Caracterização das áreas de pisciculturas e coleta

As coletas foram realizadas, bimestralmente, nos meses agosto, outubro e dezembro de 2019, em uma piscicultura de criação de tilápia do Nilo, no reservatório Moxotó, na região semiárida, do submédio do rio São Francisco, localizada no município de Glória, Bahia entre a latitude: 09° 20' 17" S, longitude: 38° 15' 17" W, altitude de 243 m. A região apresenta clima BSh, árido quente, segundo a classificação de Köppen (PELL *et al.*, 2007).

As amostras de água destinadas à análise qualitativa da composição da comunidade microbiana foram coletadas na superfície a montante dos tanques redes, em profundidade de até 10 cm, com auxílio de frascos, de borosilicato de boca larga, previamente esterilizados com 500 mL de capacidade. Após as coletas, as amostras foram conduzidas, em caixas térmicas resfriadas, ao Laboratório de Microbiologia e Planctologia (LAMIPLAN) da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), para posterior análise.

Análise Bacteriológica da Água

A análise bacteriológica da água foi realizada pela medida do número mais provável de coliformes, através da técnica de tubos múltiplos, conforme o método padrão dos tubos de fermentação preconizados no *Standard Methods* (APHA, 1995). Na metodologia adotada foi realizado o teste presuntivo para coliformes totais, utilizando o meio de cultura Caldo Lactosado (HIMEDIA®) e confirmativo utilizando o meio de cultura Caldo Bile Verde Brilhante 2% (HIMEDIA®), incubados a 35 °C, durante 48 horas. Os tubos que apresentaram resultados positivos no meio de Caldo Verde Brilhante foram inoculados para o meio *Escherichia coli* (Meio EC), sendo incubados a 44,5 °C, pelo período de 24 horas.

Para a detecção e contagem das bactérias heterotróficas as amostras foram semeadas em triplicata com 15 mL de meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA), sendo utilizados 1,0 mL da amostra de água para a semeadura pelo método de *pour plate*. Após esse procedimento, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica, por 24 horas a 35 °C. Depois do período de 24 horas de incubação, as colônias foram quantificadas e o resultado obtido foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias por Mililitro da amostra (UFC/mL).

■ RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram evidenciadas as quantificações de coliformes termotolerantes com valores de 920 NMP/mL e 1600 NMP/mL para os meses de outubro e dezembro, respectivamente. Enquanto para o mês de agosto, a concentração de coliformes termotolerantes foi de 350

NMP/mL, possivelmente, devido a ocorrência de precipitações pluviométricas. Segundo Castro (2019), para a região de Paulo Afonso (BA), o período chuvoso se compreende entre os meses de junho a agosto. O período chuvoso pode aumentar o fator de diluição dos efluentes lançados na água.

Segundo Crowther *et al.* (2001) as concentrações de coliformes termotolerantes no ambiente podem ser influenciados pelas condições climáticas, tais como chuva e vento, que auxiliaram na atividade de dispersão desses micro-organismos na água.

Os estudos sobre o monitoramento e a qualidade da água destinada ao cultivo de animais para alimentação humana, através dos métodos bacteriológicos, são muito relevantes, pois, a presença de coliformes termotolerantes detecta a poluição fecal oriunda de fezes nos corpos hídricos, o que pode ocasionar problemas à saúde dos animais e seres humanos, indicando o lançamento indiscriminado de efluentes sanitários e/ou ineficiência em seu tratamento.

A *Escherichia coli* é um micro-organismo existente na microbiota dos seres humanos e de animais homeotérmicos, principalmente no trato gastrointestinal, estando presentes em grandes quantidades em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que receberam contaminação recente. É também uma das espécies mais abundantes de coliformes termotolerantes e usualmente utilizada como indicadora de poluição fecal (PINTO; OLIVEIRA, 2011).

Van Weerelt *et al.* (2012), ao avaliarem a balneabilidade da Lagoa Rodrigo de Freitas, (RJ), encontraram coliformes termotolerantes apresentando valores entre 930 NMP/100 mL e 24.000 NMP/100 mL. Enquanto Rodrigues *et al.* (2009), ao avaliarem as condições sanitárias, destacando o uso recreacional, do Rio Piracuama, Pindamonhangaba (SP), observaram que os valores de coliformes termotolerantes encontrados, na maioria das amostras coletas, foram superiores a 1600 NMP/100 mL, apresentando assim, acima do limite.

Os resultados da presente pesquisa sugerem lançamentos difusos de efluentes domésticos superiores aos detectados, porém, podem ter sido auto depurados e/ou diluídos devido ao grande volume d'água de 2.943 m³/s do rio São Francisco. Indicando a necessidade de monitoramento e fiscalização dos despejos de efluentes pelos órgãos responsáveis. Para garantir a inocuidade do pescado, são necessários monitoramento dos padrões exigidos pela legislação e o adequado controle de qualidade do alimento (SANTOS *et al.*, 2019).

Quanto às bactérias do grupo dos coliformes, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA) não indica limites ao cultivo do pescado, porém, é importante salientar que a presença desses micro-organismos em alimentos a base de pescado pode estar relacionada à sua qualidade higiênica (BRASIL, 2019).

Os índices de coliformes termotolerantes para os meses de agosto e outubro, com concentração de 350 NMP/mL e 920 NMP/mL, estão no limite aceitável, segundo a Resolução

do Conama Nº 274/00, a qual estabelece um limite máximo de 1000 UFC/100 mL. Em contrapartida, no mês de dezembro, o índice de coliformes termotolerantes foi acima do permitido pela mesma Resolução do Conama Nº 274/00, com 1600 NMP/mL,

O Artigo 44, da Portaria do Ministério da Saúde nº 2914/2011 ressalta que quando forem identificadas situações de risco à saúde, as autoridades de saúde pública devem elaborar um plano de ação e tomar as medidas cabíveis, incluindo a comunicação eficaz com a população. Nos resultados obtidos para coliformes termotolerantes, durante os meses de outubro e dezembro, sugerem a implantação de um plano de monitoramento de balneabilidade para contribuir para a preservação do reservatório Moxotó e a manutenção das pisciculturas de tilápia do Nilo. De acordo com a Pesquisa da Pecuária Municipal 2015 realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os municípios de Paulo Afonso (BA), Jatobá (PE) e Glória (BA), que margeiam o reservatório Moxotó, encontram-se entre os 20 municípios com maior produção de tilápias do Brasil.

Os resultados para bactérias heterotróficas totais foram de $9,9 \times 10^2$ UFC/mL, $1,1 \times 10^3$ UFC/mL e 2×10^3 UFC/mL, para os meses de agosto, outubro e dezembro, respectivamente. Segundo a Portaria Nº 2914 /11 estava imprópria para o consumo humano, já que o limite máximo estabelecido é de 500 UFC/100 mL para os padrões de potabilidade. Porém, não há uma norma para cultivo de animais nectônicos, contudo, tais resultados servem de alerta para os gestores municipais de qualidade da água.

De acordo com a Portaria 2914/11, as alterações bruscas ou acima do usual na contagem de bactérias heterotróficas devem ser investigadas para identificação de irregularidade, para que assim, as possíveis providências sejam adotadas. Compreendendo que o consumo da água é indispensável à vida humana, entende-se que, manter a qualidade desse recurso é uma questão de saúde pública, visto que a água de má qualidade e exposta a contaminadores patogênicos podem causar doenças e até a morte dos indivíduos (ALVES *et al.*, 2016).

■ CONSIDERAÇÕES FINAIS / CONCLUSÕES

A comunidade de bactérias do grupo coliformes termotolerantes pode ser utilizada como bioindicadora de poluição ambiental e monitoramentos preditivos de poluição e efluentes sanitários. O monitoramento da balneabilidade no reservatório Moxotó-BA é essencial para subsidiar um padrão mínimo de qualidade e conservação do reservatório onde estão implantadas as pisciculturas de *Oreochromis niloticus*. A implantação adequada de um plano de monitoramento de balneabilidade poderá contribuir para a preservação do reservatório Moxotó e a manutenção das pisciculturas de tilápia do Nilo. Este trabalho contribui para o conhecimento sobre a qualidade da água em uma piscicultura do tipo tanques-rede de cultivo de *Oreochromis niloticus*, tilápia do Nilo, localizada na região semiárida do estado da Bahia.

■ AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado da Bahia pela concessão das bolsas PICIN/UNEB; aos gestores da piscicultura investigada pela oportunidade de realização do presente estudo.

■ REFERÊNCIAS

1. ALVES, F. C. et al. Análise microbiológica e parasitológica da água utilizada em hospital público do estado de Rondônia. *Revista Uningá*, v. 49, p. 41-43, 2016.
2. BARROSO, R. M.; MUÑOZ, A. E. P.; TAHIM, E. F.; WEBBER, D. C.; ALBUQUERQUE FILHO, A. C.; PEDROZA FILHO, M. X.; TENÓRIO, R. A.; CARMO, F. J. DO; BARRETO, L. E. G. DE S.; MUEHLMANN, L. D.; SILVA, F. M.; HEIN, G. Diagnóstico da cadeia de valor da tilapicultura no Brasil. Embrapa, 2018.
3. BATISTA, B. G.; FUCKS, M. B. Avaliação microbiológica da água do Arroio Pessegueirinho, Santa Rosa- RS. *Ciência Equatorial*. v. 2, n.1, p.1-9, 2012.
4. BOTELHO, R. G. M. Bacias hidrográficas urbanas. In: GUERRA, A. J. T. (Org.) *Geomorfologia Urbana*. Rio de Janeiro, Bertrand Brasil, 71-115, 2011.
5. BRASIL, Ministério da saúde. Portaria 1469/2000 Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de Potabilidade. Publicada no Diário Oficial da União n.º 59, de 26 de março de 2004, seção 1, p. 266- 270.
6. BRASIL, Resolução Conama N° 430, de 13 maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões e lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da união 16 de maio de 2011.
7. BRASIL, Congresso Nacional N.º 1.283. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de todos os produtos de origem animal, de 21 de fevereiro de 2018.
8. BRASIL, Ministério da saúde. Plano de Segurança da Água, 1ª edição, Brasília; 2012.
9. BRASIL, Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Instrução Normativa nº60, de 23 de dezembro de 2019.
10. CALDEIRA, T. LEITZKE; ARAÚJO, M. Maria Fernandes de; BESKOW, S. Análise de série hidrológica de precipitação no sul do Rio Grande do Sul para aplicação na gestão e monitoramento de recursos hídricos. IV Encontro Sul-Americano de Meteorologia. Pelotas-RS: 2011.
11. CALLISTO, M., FERREIRA, W., MORENO, P., GOULART, M. D. C. & PETRUCIO, M. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). *Acta Limnologica Brasiliensia*, v.14, n.1, p. 91 – 98, 2002.
12. CERQUEIRA MMOP, et al. Qualidade da água e seu impacto na qualidade microbiológica do leite; Researchgate; 2006.

13. CARVALHO, A. R.; MELO, J. A. B. Análise ambiental e repercussão do problema da água dos açudes da cidade de Pocinhos - PB. *Caminhos de Geografia, Uberlândia*, v.13, n. 44, p. 198 – 211, 2012.
14. CASTRO, C.N.; PEREIRA, C. N. Revitalização do Rio São Francisco. *Boletim regional, urbano e ambiental do IPEA*, v. 17, p. 69-76, 2017.
15. CASTRO, CÉSAR N.; PEREIRA, C. N. Revitalização da bacia hidrográfica do rio são francisco histórico, diagnóstico e desafios, IPEA, p. 27, 2019.
16. CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. (2015) Relatório de Qualidade das Águas Salinas e Salobras no Estado de São Paulo 2014. São Paulo: CETESB. (Série Relatórios).
17. CETESB. Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo (2019) Campanha ambiental do estado de São Paulo 2019. São Paulo: CETESB. 2020. (Série Relatório).
18. COELHO, G. et al. Qualidade da água do Ribeirão Lavrinha na região alto rio Grande-MG, Brasil. *Ciência Agrotecnologia, Lavras*, v.33, n.4, p.1145 – 1152, 2009.
19. CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE – CONAMA (1986). Dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. Resoluções n. 20, de 18 de junho de 1986. Lex: Disponível em: Acesso em: 27 de janeiro de 2004. Revisão atualizada: Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/1986/res_conama_20_1986_revvd_classificacaoaguas_altrd_res_conama_274_2000_revvd_357_2005.pdf
20. CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL – COPAM (1986). Estabelece normas e padrões para qualidade das águas, lançamento de efluentes nas coleções de águas, e dá outras providências. Deliberação Normativa n. 10, de 16 de dezembro de 1986. Lex: Disponível em: http://www.feam.br/Normas_Ambientais/Deliberações_Normativas/1986/dn_copam10-86.PDF>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2001.
21. CUNHA, A. C.; CUNHA, H. F. A. Rede de meteorologia e recursos hídricos do Estado do Amapá (REMETAP): Principais Resultados. Livro Tempo, Clima e Recursos Hídricos. Macapá-AP: 2010.
22. CUNHA, D. G. F.; CASALI, S. P.; FALCO, P. B.; THORNHILL, I.; LOISELLE, S. A. The contribution of volunteer-based monitoring data to the assessment of harmful phytoplankton blooms in Brazilian urba streams. *Science of the Total Environment*, v. 584-585, p. 586-594, 2017. Disponível em: Acesso em: 05 out. 2018.
23. DANZE A.P, VERCELLINO I.S. Uso de bioindicadores no monitoramento da qualidade da água. *Revista Revinter*, v 11, n. 01, p. 100-115; 2018.
24. FERNANDES K.C.B. Detecção e quantificação de contaminação fecal hospedeiro específico em águas destinadas ao abastecimento público, Dissertação (Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em saúde). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 2015.
25. FRACALANZA, A. P. Água: De elemento natural a mercadoria. *Sociedade e Natureza, Uberlândia*, v. 17, n. 33, p. 21 – 36, 2005.

26. GIULIETTI, A. N.; BOCAGE NETA, A. L.; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J. F.; QUEIROZ, L. P.; FIGUEIREDO, M. A.; RODAL, M. J. N. BARBOSA, M. R. V.; HARLEY, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do Bioma Caatinga. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília, DF: MMA: UFP, 2004. p. 47-90.
27. GODOI I, et al. Indicadores microbiológicos de água e solo. Dissertação (Mestrado); UNIOESTE; Cascavel PR; 2010.
28. JUNIOR, P. S.; TROMBETA, T. D.; MATTOS, B. O.; SALLUN, W. B.; SOUZA, M. R. G. Manual de Criação de Peixes em Tanque-Rede. 2. ed. Brasília: CODEVASF, 2019.
29. JUNIOR, E. O. P.; AMARO, I. P. M. FERREIRA, F. A. B.; FELTRIN, V. P. Qualidade Microbiológica Da Água Para Consumo De Uma Universidade Do Oeste Do Paraná / Microbiological Quality of Drinking Water At a University in Western Paraná. Brazilian Journal of Development. Vol. 7, n. 3. 26 de Março de 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/27161>. Acesso em: 27 de Setembro de 2021.
30. NOGUEIRA, G.; NAKAMURA, C. V.; TOGNIM, M. C.B.; ABREU, F. B. A.; DIAS FILHO, B. P. Qualidade microbiológica de água potável de comunidades urbanas e rurais, Paraná. Revista Saúde Pública. v.37, n.2, p.232-236, 2003.
31. ONO, E. A. Cultivo de peixes em tanques-rede. Campo Grande.[s.n.] 1998. 41 p.
32. OLIVEIRA, R. P. B.; SIQUEIRA, A. A. S.; NUNES, A. L. V. F.; MONÇÃO, K. C. R.; GONÇALVES, L. L. D.; CHAVES, S. R.; GREGÓRIO, E. L.; AMARAL, D. A. Análise microbiológica da água para consumo humano em uma comunidade do município de Santana do Riacho – MG. / microbiological analysis of water for human consumption in a community municipality of Santana do Riacho – MG. Brazilian Journal of Development. Vol. 7. N. 6. 09 de Abril de 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/8647/7434> . Acesso em: 27 de Setembro de 2021.
33. PEDROSA, V. F. Lesões anatomopatológicas associadas à ocorrência de bacterioses em tilápias (*Oreochromis niloticus*) de diferentes sistemas de cultivo em Pernambuco/Brasil. 2009. (60f, Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco). 2009.
34. PINTO A.B.; OLIVEIRA A.J.F.C. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. O Mundo da Saúde, São Paulo: 2011;35(1):105-114; 2011.
35. Projeto de gerenciamento integrado das atividades desenvolvidas em terra na bacia do são francisco (PBHSF) ANA/GEF/PNUMA/OEA, 2004. Subprojeto 4.5C – Plano Decenal de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco - PBHSF (2004-2013).
36. REIS, J. T.; PEREIRA FILHO, W. Influência do uso e ocupação da terra no ecossistema aquático da sub-bacia hidrográfica do Arroio Cadena, em Santa Maria, RS. Ciência e Natura, Santa Maria, v. 28, n.1, p. 75 – 90, 2006.
37. RIBEIRO, C. W. Conflitos distributivos e dívida ecológica. 2. ed., 1ª reimpressão, São Paulo: Contexto, p. 9 -12, 2014.

38. RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Avaliação da qualidade das águas de duas áreas utilizadas para recreação do rio Piracuama-SP. *Revista Biociências*, v. 15 (2), p. 88-94, 2009.
39. RIBEIRO, M. R. F.; SANTOS, J. P.; SILVA, E. M.; PEREIRA-JÚNIOR, E.; TENÓRIO, M. A. S.; SILVA, I. L. e; WEHBI, M. D.; LOPES, J. P.; TENÓRIO, R. A. A piscicultura nos reservatórios hidrelétricos do Submédio e Baixo São Francisco, região semiárida do Nordeste do Brasil. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, v. 3, n. 1, p. 91-108, set. 2015.
40. RIBEIRO, T. I.; BARROS, F. A. A.; BARROS, S. B. A. Análise microbiológica de águas minerais de garrafões de 20 Litros comercializada na cidade de Picos - PI.. *Brazilian Journal of Development*. Vol. 7. n. 2. 12 de Fevereiro de 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/24658/19703> . Acesso em: 27 de Setembro de 2021.
41. SILVA, H. C. Engenharia Sanitária e Ambiental: Tecnologias para Sustentabilidade 5. Ponta Grossa, PR. Atena, 2020. 274 p.
42. SOUZA, J. R. et al. A importância da qualidade da água e os seus múltiplos usos: Caso rio Almada, Sul da Bahia, Brasil. *Revista Eletrônica do Prodem, Fortaleza*, v.8, n.1, p. 26 - 45, 2014.
43. SILVA, M. L.; , MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo - SP, v. 63, n. 3, 240 p, 2008.
44. TANIGUCHI, F.; KATO, H. C. A.; TARDIVO, T. F. Definição e Estrutura de Tanque - rede. EMBRAPA, 8 p. 2014.
45. TEIXEIRA, R. N. G.; TEIXEIRA, E. G. Criação de peixes em gaiolas flutuantes. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. 17 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Circular Técnica, 5).

Avaliação da conduta de manipuladores de alimentos sob uma perspectiva da segurança de alimentos em um supermercado

| **Moisés Iasley Lima Vasconcelos**
FIC

| **Fernando Paulino da Silva**
CHRISTUS

| **Francisca Karoline da Costa Silva**
FIC

| **Victor Barroso Bezerra**
CHRISTUS

| **José Milton Cordeiro Costa Júnior**
CHRISTUS

| **Lorena Silva Lima**
CHRISTUS

| **João Emanuel Dias Tavares**
UNIFOR

| **Carolina Drummond Barboza**
UECE

| **Douglas Rodrigues Holanda**
CHRISTUS

| **Mayumi Silveira Regadas Carvalho**
FIC

RESUMO

Introdução: A unidade de alimentação e nutrição (UAN) é o setor onde ocorre a produção dos alimentos. Os manipuladores são os profissionais capacitados para realizar toda a manipulação dos alimentos presentes na UAN. É importante frisar que deles depende diretamente a segurança dos alimentos ofertados e a redução dos riscos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). **Objetivo:** avaliar a conduta pessoal e de boas práticas de manipulação dos manipuladores de alimentos, visando a segurança de alimentos, de um supermercado. **Metodologia:** A presente pesquisa é de caráter quantitativa, descritiva, transversal e observacional e foi desenvolvida no período de julho a setembro de 2021, em uma UAN de um supermercado em Fortaleza - CE. O instrumento utilizado foi retirado do artigo da Pittelkow (2014). Ao todo, o checklist possui 33 perguntas referentes a higiene e manipulação. **Resultado e discussões:** O supermercado possui um perfil de 63,975% de conformidade e 36,02% de não conformidade, dentre todos os setores, o setor das carnes foi o que obteve maior percentual de conformidade (71,87%). Os itens correspondentes a lavagem das mãos foram um ponto crítico, assim como na pesquisa de Pittelkow (2014). **Conclusão:** Apesar da capacitação acerca de boas práticas de manipulação, ainda havia práticas inadequadas. É necessário a elaboração de cursos que abordem a maneira correta de higienização das mãos, com ênfase nos riscos como a contaminação de alimentos, a disseminação de micro-organismos e os surgimentos de DTA, visto a necessidade de manter a segurança dos alimentos e a promoção da saúde da população atendida.

Palavras-chave: Segurança de Alimentos, Boas Práticas, Higiene.

■ INTRODUÇÃO

A Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) é uma entidade presente em uma empresa que tem como função atividades correlacionadas com a alimentação e nutrição, e seu intuito é garantir uma refeição equilibrada que se encaixa nos padrões dietéticos e higiênicos definidos. A UAN é um importante setor que contribui para a promoção da saúde dos seus consumidores (VIEIRA, 2019).

Vale ressaltar que a expressão “manipulador de alimentos” é amplamente usada para categorizar todos os indivíduos que possuem contato com parte ou com o todo da fabricação de alimentos, considerando as pessoas que fazem a colheita, abatimento, armazenamento, transporte, processamento ou preparação, como exemplo podemos citar os ambulantes, os trabalhadores do comércio alimentício e até mesmo donas de casa (ANDREOTTI, 2003).

A segurança alimentar é fundamental para a manutenção da saúde de uma população e possui como principais objetivos a promoção da saúde, a prevenção de riscos de contaminação e a manutenção da qualidade das refeições servidas. Dessa forma, compondo os mínimos requisitos necessários para a evitar o surgimento de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) mal manipulados (PANDOLFI; MOREIRA; TEIXEIRA, 2020).

É de fundamental importância ter conhecimento de que o manipulador de alimentos se configura como o meio principal de contaminação dos alimentos fabricados em grandes quantidades. Entretanto, ele possui um papel primordial que pode e deve garantir a segurança e as condições higiênicos-sanitárias dos alimentos ao decorrer de toda a cadeia produtiva (GARCIA, 2016).

O baixo nível de escolaridade, pouca capacitação profissional, salários injustos, a falta de supervisão por parte da equipe de controle de qualidade e o baixo nível social e cultural, que pode estar relacionado a falta de práticas de higienização pessoal, são fatores que podem influenciar o manipulador de alimentos a se tornar a causa primária do surgimento de DTAs (SILVA, 2017).

As DTA's envolvem todas as ocorrências clínicas provenientes da ingestão de alimentos que estão contaminados por micro-organismos patogênicos (bactérias, fungos, parasitas e vírus), substâncias químicas e objetos que são lesivos ou que possuam na sua composição elementos tóxicos para o organismo (SANTOS, 2014).

Os micro-organismos estão por toda parte do nosso corpo e da nossa roupa, e nem sempre sua presença estará acompanhada de algum sintoma. Aspectos como a temperatura inadequada de armazenamento, ausência de práticas de higienização dos equipamentos, utensílios e setor e a utilização de alimentos de origem duvidosa são importantes para proliferação exacerbada de micro-organismos e, portanto, culminam em um alimento impróprio para o consumo (PONATH, 2016).

As DTA's são consideradas como um problema de saúde pública, que podem resultar na diminuição da produtividade e em prejuízos econômicos. Além do mais, elas podem ocasionar a mortalidade, e isso dependerá de alguns fatores, como o perfil da toxina ou micro-organismo ingerido, a quantidade de comida contaminada consumida e a condição de saúde que o indivíduo acometido apresenta (MELLO, 2010).

Como forma de reduzir a contaminação dos alimentos, as empresas realizam a implantação das Boas Práticas (BP), que é vista como uma condição que analisa previamente as questões relacionadas à segurança de alimentos. Outro fator importante para a garantia de um alimento isento de micróbios patogênicos é o fornecimento de cursos aos manipuladores de alimentos, com os seguintes temas: contaminantes alimentares, manipulação higiênica dos alimentos, DTA's e BP (PITTELKOW, 2014; GARCIA, 2016).

É importante frisar que as mãos são uma das principais vias que transmitem contaminantes aos alimentos, portanto, é indispensável a correta higienização das mãos quando a manipulação de alimentos for interrompida ou por outras questões que possuam um potencial de contaminação. Mediante a essa questão, é imprescindível a capacitação dos manipuladores de alimentos sobre a adequada higienização das mãos e corpo (SCHUMANN, 2017; MELLO, 2010).

Diante o exposto, objetivou-se, com este trabalho, avaliar a conduta pessoal e de boas práticas de manipulação dos manipuladores de alimentos visando a segurança de alimentos de um supermercado.

■ METODOLOGIA

A presente pesquisa é de caráter quantitativa, descritiva e transversal, onde a pesquisa quantitativa se trata do estudo onde os resultados são expostos matematicamente, em modelos estatísticos onde os dados são quantificados (DE FREITAS MUSSI, 2019). O método descritivo é aquele que procura descrever as características de uma população ou de fenômenos (GIL, 2008). No estudo transversal as avaliações referentes à exposição e ao efeito ocorrem no mesmo momento (BONITA; BEAGLEHOLE; KJELLSTRÖM, 2010).

O presente estudo foi desenvolvido no período de julho a setembro de 2021, em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de um supermercado que fornece refeições em diversos períodos, localizado em Fortaleza - CE.

O instrumento utilizado foi retirado do artigo da Pittelkow (2014), trata-se de um checklist elaborado com base na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 216/2004 fornecido pela própria empresa do estudo. As perguntas do instrumento foram adaptadas para se encaixar na coleta de dados, o instrumento de coleta foi aplicado em todos os setores que possuem manipuladores de alimentos. Ao todo, o checklist adaptado de Pittelkow (2014) possui 33

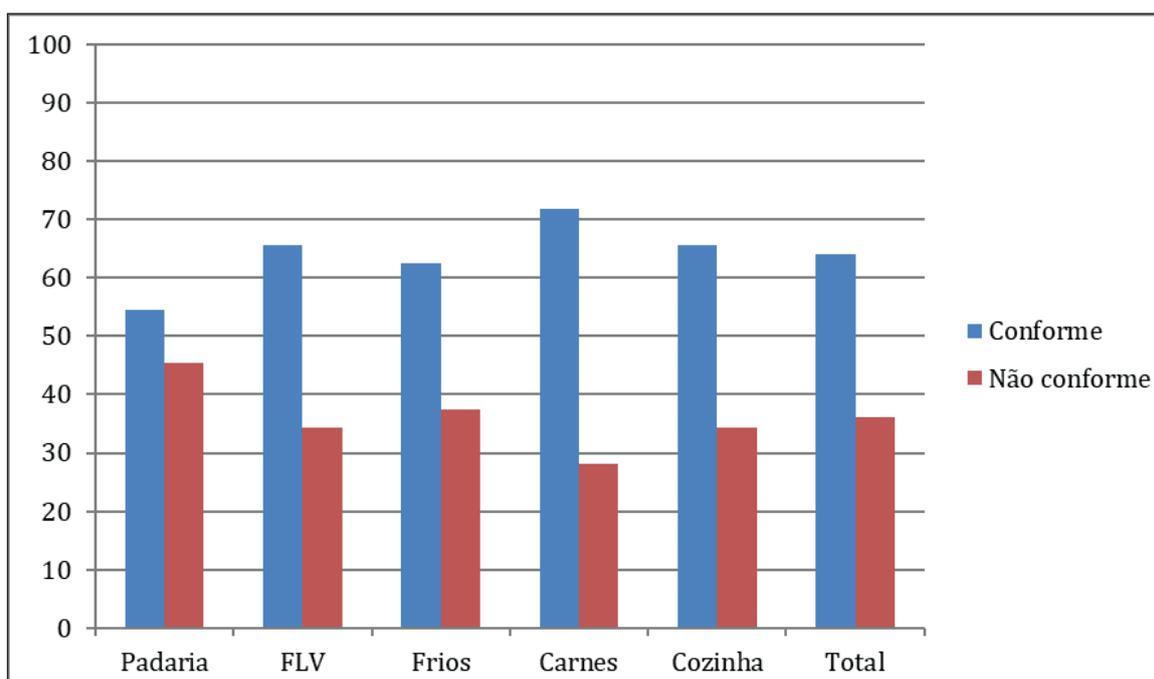
perguntas que abordam temas como a realização de exames laboratoriais, higienização das mãos, conduta de asseio pessoal e a capacitação dos manipuladores de alimentos. Os itens em conformidade com a ficha de avaliação foram registrados como conformidade, os itens que não atendiam aos questionamentos foram registrados como não conformidade, e os itens não condizentes à realidade dos setores foram registrados como não aplicáveis.

Os responsáveis pelo estabelecimento e os gerentes de cada setor estavam cientes de todo o processo de coleta de dados e após os resultados encontrados tomaram as devidas providências, os cuidados éticos da pesquisa foram suprimidos e aceito pelo gerente do estabelecimento.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados (Figura 1), observa-se que o percentual total do supermercado possui um perfil de 63,975% de conformidade e 36,02% de não conformidade. Quando os resultados foram especificados por setores, obteve-se o seguinte: no setor da padaria encontrou-se um percentual de 54,54% de conformidade e 45,45 % não conformidade, setor de FLV teve um percentual de 65,62% de conformidade e 34,37% de não conformidade, setor da cozinha apresentou um percentual de 65,62% de conformidade e 34,37% de não conformidade, no setor dos frios foi encontrado um percentual de 62,5% de conformidade e 37,5% de não conformidade, já no setor das carnes foi obtido um percentual de 71,87% de conformidade e 28,12% de não conformidade.

Figura 1. As condições de higiene e conduta pessoal dos manipuladores.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Observou-se que a padaria apresentou um percentual maior de não conformidade, isso aconteceu pelo fato da inadequada higienização de mãos, uso de adornos pelos manipuladores, e pelo fato de os manipuladores estarem trabalhando com cortes nas mãos.

Já o setor dos frigoríficos foi o que apresentou maior quantidade de itens em conformidade, principalmente devido aos itens referentes a asseio pessoal e suas não conformidade se detiveram em relação a higienização das mãos. Vale salientar que esse último setor mencionado é novo, logo, receberam treinamento recentemente, e isso pode contribuir com o percentual elevado de conformidade.

Verificou-se que em relação a exames médicos admissionais e periódicos, todos os setores apresentam em sua totalidade estarem em conformidade com esse item, resultado semelhantes ao estudo de Santos (2014), que avaliou a existência desses exames em manipuladores em um hospital de Fortaleza-CE, e obteve resultado de 100% de conformidade.

Os itens correspondentes a lavagem das mãos foram um ponto crítico da ficha de avaliação, pois todos os setores pontuaram negativamente. Na pesquisa de Pittelkow (2014) os resultados foram parecidos, pois a higienização das mãos era inadequada, pois não era realizada a higienização correta segundo as normas. Os manipuladores do supermercado utilizavam luvas, e isso influencia na falta de lavagem das mãos.

Os quesitos em relação a capacitação foram respondidos positivamente, fazendo jus ao estudo de Medeiros (2017), que observou que os conhecimentos dos trabalhadores sobre a manipulação dos alimentos, higienização pessoal e ambiental estavam de acordo com as de Boas Práticas. Entretanto, é importante verificar a aplicação na prática desses conhecimentos, pois é importante a implantação dessas condutas adequadas para garantir um alimento seguro.

Em uma avaliação geral relacionada aos achados referente a asseio pessoal, sua maioria se encontra em conformidade, entretanto, o item acerca da presença de adornos mais pontuados como não conforme. Tal achado corrobora com o estudo de Mello (2010) que verificou a presença de adornos em quantidade significativa dos colaboradores.

É necessário salientar que o percentual de não conformidades poderia ser reduzido se além dos treinamentos houvesse supervisão dos processos, isso contribuiria diretamente para a melhora da qualidade dos alimentos ofertados, o que favorece a segurança de alimentos dos produtos servidos pelo supermercado e contribui para a manutenção da saúde dos comensais, reduzindo o risco do surgimento de DTAs.

■ CONCLUSÃO

Apesar da capacitação periódica acerca de boas práticas de manipulação, os manipuladores continuam com práticas inadequadas, logo, é importante a supervisão do trabalho,

com o intuito de monitorar se a teoria aprendida está sendo aplicada e se faz necessária a capacitação contínua e eficiente dos manipuladores.

É necessário salientar sobre a correta higienização das mãos, tendo em vista que esta foi considerada um ponto crítico em todos os setores. Portanto, com a finalidade de concretizar essa prática é de extrema importância a elaboração de cursos que abordem a maneira correta de higienização das mãos, com ênfase nos riscos que podem apresentar caso não haja esse cuidado, como a contaminação de alimentos, a disseminação de micro-organismos e os surgimentos de DTA.

A criação e implantação de cartazes com o passo-a-passo da correta lavagem das mãos é uma ferramenta útil que pode auxiliar na continuidade da prática correta, visto a necessidade de manter a segurança dos alimentos ofertados e promoção da saúde da população atendida.

■ REFERÊNCIAS

1. ANDREOTTI, Adriana et al. < b> Importância do treinamento para manipuladores de alimentos em relação à higiene pessoal. **Iniciação Científica Cesumar**, v. 5, n. 1, p. 29-33, 2003.
2. BOAVENTURA, Luara Thabata Alves et al. Conhecimento de manipuladores de alimentos sobre higiene pessoal e boas práticas na produção de alimentos. **Revista Univap**, v. 23, n. 43, p. 53-62, 2017.
3. BONITA, Ruth; BEAGLEHOLE, Robert; KJELLSTRÖM, Tord. **Epidemiologia básica**. OPS, 2008.
4. DE FREITAS MUSSI, Ricardo Franklin et al. Pesquisa Quantitativa e/ou Qualitativa: distanciamentos, aproximações e possibilidades. **Revista Sustinere**, v. 7, n. 2, p. 414-430, 2019.
5. GARCIA, Marcelo Valle; CENTENARO, Graciela Salette. Capacitação de manipuladores de alimentos e avaliação das condições higiênicas em serviço de alimentação. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 2, p. 96-111, 2016.
6. GIL, Antonio Carlos. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6º Ed. São Paulo: Atlas, 2008.
7. MEDEIROS, Maria das Graças Gomes de Azevedo; CARVALHO, Lúcia Rosa de; FRANCO, Robson Maia. Percepção sobre a higiene dos manipuladores de alimentos e perfil microbiológico em restaurante universitário. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 383-392, 2017.
8. MELLO, Aline Gomes de et al. Conhecimento dos manipuladores de alimentos sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do Estado do Rio de Janeiro. 2010.
9. PANDOLFI, Izabela Andrade; MOREIRA, Larissa Quirino; TEIXEIRA, Estelamar Maria Borges. Segurança alimentar e serviços de alimentação-revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 42237-42246, 2020.
10. PITTELKOW, Adriana; BITELLO, Adriana Regina. A higienização de manipuladores de uma unidade de alimentação e nutrição (UAN). **Revista destaques acadêmicos**, v. 6, n. 3, 2014.

11. PONATH, Fabiane Seidler et al. Avaliação da higienização das mãos de manipuladores de alimentos do Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 1, p. 7-7, 2016.
12. SANTOS, S. S.; OLIVEIRA, A. M. Avaliação de conhecimentos, condutas e de ocorrência de enteroparasitos em manipuladores de alimentos em hospitais de Fortaleza, Ceará. **Rev Nut Vig Saúde**, v. 1, n. 2, p. 30-6, 2014.
13. SCHUMANN, Adriane Cristina et al. Avaliação microbiológica de mãos dos manipuladores de alimentos e de utensílios de cozinha do serviço de nutrição de um hospital do norte do estado do Rio Grande do Sul. **perspectiva, Erechim**, v. 41, n. 153, p. 07-17, 2017.
14. VIEIRA, Ana Carolina Marconi; COSTA, Tainara. Perfil nutricional de manipuladores de alimentos. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2019.

Avaliação das boas práticas de manipulação de alimentos em lanchonetes da Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo

| **Bárbara Morandi Lepaus**
UFES

| **Rayani Souza Rangel**
UFES

| **Jéssica Souza Rocha**
UFES

| **Aline Carvalho Salvador Medeiros**
UFES

| **Laísia Mariano Ferreira**
UFES

| **Priscila Endlich Lozer**
UFES

| **Marina Gonçalves Afonso**
UFES

| **Jackline Freitas Brilhante de São José**
UFES

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar as boas práticas de manipulação de alimentos em lanchonetes localizadas na Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo. Foi conduzido estudo transversal, descritivo e observacional em 6 estabelecimentos no período de maio a junho de 2014. Foi aplicada uma lista de verificação de boas práticas de manipulação contendo 91 itens. Os aspectos considerados foram: infraestrutura, equipamentos, utensílios, controle integrado de vetores e pragas, abastecimento de água, manipuladores de alimentos, matéria-prima e ingredientes, preparação dos alimentos, armazenamento do alimento, exposição ao consumo do alimento preparado e Documentação, registro e responsabilidade.. Após a avaliação, os estabelecimentos foram classificados quanto ao atendimento aos itens propostos como Grupo 1 (76 a 100 % de adequação), Grupo 2 (51 a 75 % de adequação) e Grupo 3 (0 a 50 % de adequação). Cinco dos seis estabelecimentos foram incluídos no Grupo 01 (76 a 100% de atendimento dos itens) e apenas um no Grupo 02 (51 a 75% de atendimento dos itens). A maioria das lanchonetes avaliadas apresentou boas condições higiênico-sanitárias de acordo com os critérios utilizados, e nenhuma foi classificada como “Ruim”.

Palavras-chave: Qualidade dos Alimentos, Serviços de Alimentação, Segurança dos Alimentos, Refeições Prontas.

■ INTRODUÇÃO

Mudanças nos padrões dietéticos e de atividade física têm sido notadas em várias partes do mundo, assim como o crescimento de doenças não transmissíveis relacionadas à nutrição, ocorrendo com maior velocidade nos países em desenvolvimento. Os fatores que levam a esses fenômenos, contudo, podem ser complexos e difíceis de definir (POPKIN, 2004).

Como parte das mudanças nos padrões dietéticos, destaca-se o aumento de refeições realizadas fora do domicílio. São apontadas como possíveis causas, por exemplo, a urbanização, crescimento econômico, mudanças culturais, mudanças tecnológicas, o aumento da participação das mulheres no mercado de trabalho, a crescente oferta de serviços voltados para essa finalidade e o aumento da renda familiar (POPKIN, 2006; LEAL, 2010). Segundo Claro *et al.* (2014), há associação direta entre aumento de renda e gastos com alimentação fora do domicílio.

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) mostra que as famílias brasileiras aumentaram as despesas com alimentação fora do domicílio, com um crescimento significativo (29%) entre 2002-2003 e 2008-2009. Porém, na POF de 2017-2018 observou-se decréscimo de 2,59%, explicado pela crise econômica a partir de meados de 2014 e pelas taxas mais altas de desemprego no período da coleta dos dados. Ainda assim, as despesas com alimentação no domicílio mantiveram o comportamento descendente, com uma queda de 9,65% em 2008-2009, com relação à POF de 2002-2003, e 9,78% em 2017-2018, com relação à de 2008-2009 (VAZ; HOFFMANN, 2020).

Dentre os tipos de estabelecimentos citados para as refeições fora do lar, as lanchonetes foram apontadas como os locais onde ocorreram o maior consumo alimentar de acordo com os resultados da POF 2008-2009 (BEZERRA *et al.*, 2017). Muito procuradas para lanches e outras refeições rápidas, tanto nos intervalos das refeições quanto em substituição às refeições principais, as lanchonetes caracterizam-se por comercializarem sanduíches, salgados, bebidas geladas, cafés, guloseimas, dentre outros (SEBRAE, 2021).

As preocupações que circundam essas mudanças nos padrões dietéticos e no aumento das refeições realizadas fora do lar não estão relacionadas apenas à qualidade nutricional das dietas: existe a preocupação com exposição a doenças veiculadas por alimentos (DTA). A Organização Mundial de Saúde estima que anualmente 600 milhões de pessoas adoecem e 420 mil morrem após consumir alimentos contaminados (WHO, 2015). Dados do Ministério da Saúde mostram que dentre os surtos de DTA notificados no Brasil de 2016 a 2019, os restaurantes, padarias e locais similares ocupam o segundo lugar como local de ocorrência, correspondendo a 16% dos casos (BRASIL, 2020).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) estabelece, por meio da RDC n. 216/2004, o regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, que deve

ser seguido por restaurantes, lanchonetes, cantinas, padarias, cozinhas institucionais e outros serviços similares para garantir a qualidade dos alimentos comercializados (BRASIL, 2004) e, por conseguinte, minimizar o risco de eventos adversos para a saúde.

Muitos estabelecimentos, porém, não observam os requisitos de boas práticas, o que pode resultar em falhas na qualidade higiênico-sanitária dos alimentos preparados (MESSIAS; TABAI; BARBOSA, 2007; MEDEIROS *et al*, 2012; MOREIRA; DEUS, 2017; COELHO; MOURA, ANDRADE, 2021; FERREIRA; LIMA; AGUIAR, 2020). Alguns estudos que avaliaram a qualidade microbiológica dos alimentos preparados comercializados em lanchonetes encontraram resultados insatisfatórios; alguns, inclusive, identificaram a presença de micro-organismos patogênicos, havendo, portanto, risco à saúde dos consumidores (RODRIGUES; ROCHA; SOARES, 2017; FONSECA; PEREIRA, 2013; FERNANDES; KERN; FORTUNA, 2015).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar as boas práticas de manipulação de alimentos em lanchonetes da Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, para verificar se os estabelecimentos cumprem os requisitos necessários para a comercialização de alimentos seguros.

■ MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e observacional realizado em lanchonetes localizadas na Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, no período de maio a junho de 2014.

Os estabelecimentos foram convidados a participar do estudo por meio de uma Carta Convite, a qual continha os esclarecimentos sobre a pesquisa. A escolha das lanchonetes foi realizada de forma aleatória. Todos os estabelecimentos convidados aceitaram o convite. Os responsáveis que aceitaram participar de forma voluntária da pesquisa assinaram um Termo de Autorização permitindo a visita ao local. A amostra foi constituída por seis lanchonetes. Os estabelecimentos foram codificados com letras (A, B, C, D, E e F) com o intuito de manter o sigilo das lanchonetes.

A avaliação das boas práticas de manipulação de alimentos foi realizada por meio de uma lista de verificação elaborada com base na RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) contendo 91 itens, divididos em 12 blocos de perguntas: 'edificações, instalações, móveis e utensílios' (17 itens); 'higienização de instalações, equipamentos e utensílios' (9 itens); 'controle integrado de vetores e pragas' (3 itens); 'abastecimento de água' (4 itens); 'manejo dos resíduos' (3 itens); 'manipuladores' (9 itens); 'matéria prima e ingredientes' (6 itens); 'preparação dos alimentos' (20 itens); 'armazenamento e transporte do alimento preparado' (3 itens) 'exposição ao consumo do alimento preparado' (7 itens) 'documentação e registro' (8 itens) 'responsabilidade' (2 itens). Em cada item havia três possibilidades de resposta:

‘Conforme’ - quando o item foi atendido pelo estabelecimento, ‘Não Conforme’ - quando o item não foi atendido no todo ou em partes e ‘Não se aplica’ (NA) - quando o item observado não era apropriado ao local pesquisado.

No momento da visita aos estabelecimentos os responsáveis pela pesquisa seguiram todas as normas para visitantes e não interferiram nas atividades das lanchonetes. As avaliações foram realizadas por pessoas treinadas através de observação direta. Para o bloco de itens referentes à documentação e outros itens que não estavam com livre acesso, foram solicitadas informações aos funcionários ou ao responsável pelo local.

Após a aplicação da lista de verificação, os dados foram tabulados no Microsoft Office Excel® 2016 e foi calculado o percentual de adequação do estabelecimento quanto às boas práticas de manipulação de alimentos. Para esse cálculo utilizou-se a seguinte equação: $\text{Percentual de Adequação} = \frac{\text{Total de Itens Conformes}}{(\text{Total de Itens} - \text{Itens Não Aplicáveis})} \times 100$.

Para classificação de cada lanchonete, baseou-se nos seguintes critérios de adequação propostos na RDC n. 275/2002 (BRASIL, 2002): Grupo 1 (76 a 100% de adequação dos itens), Grupo 2 (51 a 75% de adequação dos itens) e Grupo 3 (0 a 50% de adequação dos itens). A essa categorização foram adicionados os conceitos de Bom, Regular e Ruim, respectivamente, propostos pelo trabalho de Saccol (2007). Após a visita foi realizada a contabilização dos itens em conformidade, para que fosse feita a classificação e a comparação entre os locais pesquisados. Foi realizada a classificação geral e por blocos.

Para calcular a média de classificação geral e por bloco dos estabelecimentos estudados foi utilizada média aritmética dos resultados obtidos nas seis lanchonetes. Os dados foram analisados de forma descritiva e os resultados foram apresentados em percentuais.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do quantitativo de itens conformes, não conformes e não aplicáveis, os percentuais de adequação e a classificação geral dos estabelecimentos, segundo critérios de classificação propostos pela RDC n. 275/2002 (BRASIL, 2002), estão apresentados na Tabela 1.

Das lanchonetes avaliadas, constatou-se que 5 (83,3%) atenderam entre 76% e 100% dos itens e foram classificadas como Grupo 1 (Bom); 1 lanchonete (16,7%) atendeu de 51% a 75% dos itens e obteve a classificação de Grupo 2 (Regular). Nenhuma lanchonete avaliada foi classificada como Ruim. Identificou-se na literatura variação de resultados com relação às boas práticas de manipulação de alimentos em lanchonetes. Medeiros *et al.* (2012) encontraram, dentre 23 serviços de alimentação avaliados, 70% Regulares, 26% Ruims e 4% Bons. Moreira e Deus (2017), ao categorizar 6 lanchonetes de acordo com as diretrizes da Anvisa para a Copa do Mundo FIFA 2014, encontraram cinco lanchonetes (83,3%) no

Grupo 5 e uma (16,7%) no Grupo 3 (nessa classificação, o Grupo 01 é o mais satisfatório e o Grupo 5, menos satisfatório). Silveira *et al.* (2015) encontraram média de adequação apenas de 39% em lanchonetes. É importante considerar, no entanto, que os instrumentos de avaliação utilizados nos estudos não são os mesmos, o que pode tornar mais difícil a comparação entre os estudos encontrados na literatura.

Tabela 1. Total de itens conformes, não conformes e não aplicáveis, percentual de adequação e classificação das seis lanchonetes da Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, quanto às boas práticas de manipulação de alimentos, 2014.

Lanchonete	Conforme (n)	Não Conforme (n)	Não Aplicáveis (n)	Adequação (%)	Classificação
A	53	31	7	63,1	Grupo 2 (Regular)
B	69	15	7	82,1	Grupo 1 (Bom)
C	75	5	11	93,7	Grupo 1 (Bom)
D	65	15	11	81,0	Grupo 1 (Bom)
E	71	6	14	92,2	Grupo 1 (Bom)
F	62	20	9	76,0	Grupo 1 (Bom)
Média	65,8	15,3	9,8	81,4	Grupo 1 (Bom)

n= número de itens.

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Além da avaliação da adequação geral em relação às boas práticas de manipulação de alimentos, avaliar os percentuais de adequação das lanchonetes por blocos pode trazer informações importantes para definição de prioridades no sentido de buscar adequação do serviço (Tabela 2). O bloco de Manejo de Resíduos foi o que apresentou maior percentual de adequação (100%), seguido do bloco de Abastecimento de água (95,8%) (Tabela 2).

Tabela 2. Percentuais de adequação de boas práticas de manipulação, por blocos, em lanchonetes da Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, 2014.

Blocos Avaliados	% de adequação dos itens por estabelecimento						
	A	B	C	D	E	F	Média
1- Edificações, instalações, móveis e utensílios	64,7	76,5	81,3	82,0	73,3	82,0	76,6
2-Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios	77,8	77,8	85,7	87,0	85,7	67,0	80,2
3- Controle integrado de vetores e pragas	33,3	100	100	100	100	67,0	83,4
4- Abastecimento de água	100	75	100	100	100	100	95,8
5- Manejo dos resíduos	100	100	100	100	100	100	100
6- Manipuladores	55,6	66,7	88,9	78,0	100	89,0	79,7
7-Matérias-primas, ingredientes e embalagens	100	66,7	100	100	83,33	60,0	85,00
8- Preparação do alimento	55,0	60,0	100	87,0	100	55,0	76,2
9- Armazenamento e transporte do alimento preparado	0,0	66,7	100	NA	NA	NA	55,6
10- Exposição ao consumo do alimento preparado	85,7	100	100	100	100	71,0	92,8
11- Documentação e registro	0,0	100	100	12,5	100	100	68,8
12- Responsabilidade	50,0	50,0	100	100	100	100	83,3

NA- Não se aplica.

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

O bloco de Armazenamento e transporte do alimento preparado foi o que apresentou menor percentual de adequação (55,6%), seguido do bloco de Documentação e registro (68,8%), os quais obtiveram a classificação de Grupo 2 - conceito Regular, destacando-se a lanchonete A com o maior percentual de itens não conformes entre as lanchonetes, para os dois blocos avaliados.

Ferreira, Lima e Aguiar (2020), em revisão integrativa de 24 artigos elegíveis publicados entre 2013 e 2018, ao avaliarem as condições higiênicas dos serviços de alimentação observaram que os blocos de “Edificações, instalações, equipamentos, móveis e utensílios”, “Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios”, “Matérias-primas, ingredientes e embalagens”, “Preparação do alimento” e “Armazenamento e transporte do alimento preparado” foram classificados em Grupo 2 (51 a 75% de adequação). Os blocos de “Manejo de Resíduos”, “Controle integrado de vetores e pragas urbanas”, “Manipuladores” e “Documentos e Registros” foram os que tiveram menor percentual de adequação, sendo 40%, 37%, 45% e 47%, respectivamente, e foram classificados como Grupo 3 (0 a 50% de adequação). Somente o bloco de “Abastecimento de água” foi enquadrado no Grupo 1 (76 a 100% de adequação), obtendo 86,7%.

No bloco de Edificações, instalações, móveis e utensílios 66,7% (n=4) tiveram pontuação final de conformidade entre 76% a 100% dos itens e foram classificadas como Grupo I (Bom) e 33,3% (n=2) atenderam de 51% a 75% dos itens e obtiveram a classificação como Grupo II (Regular). Dutra *et. al.* (2019) ao avaliarem as instalações/edificações observaram que 71,4% das lanchonetes foram classificadas com o conceito Bom, 20% como Regular e 8,6% como Ruim; os estabelecimentos que foram classificados como Regular e Ruim apresentaram não conformidades relacionadas ao piso, parede, iluminação, separação das atividades desempenhadas, ausência de lavatório exclusivo para lavagem das mãos, balcão inadequado e presença de animais. Lima, Saturnino e Tobal (2020) observaram percentual médio de 57,9% de adequação nas lanchonetes na categoria Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios. Nesse mesmo estudo, uma parcela dos serviços de alimentação avaliados, dentre eles as lanchonetes, não possuíam instalações sanitárias e vestiários para ambos os sexos, de uso exclusivo para manipuladores, e em alguns casos os sanitários eram compartilhados entre manipuladores e clientes.

No bloco de Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios, apenas um estabelecimento (16,7%) apresentou menos que 76% de adequação, classificado como Regular; os outros 5 (83,3%) foram classificados no Grupo 1 (Bom). Silveira *et al.* (2015) verificaram que apenas 50,5% em média dos itens de higienização eram cumpridos pelos estabelecimentos. A higienização adequada é imprescindível em serviços de alimentação,

pois a presença de resíduos em utensílios e superfícies pode favorecer a formação de filmes microbianos e contaminar os alimentos (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2010).

Quanto ao bloco de Controle integrado de vetores e pragas, pode-se observar que o percentual médio de adequação foi de 83,4%. O valor de 66,7% das lanchonetes (n=4) estavam conformes em 100% dos itens e obtiveram a classificação de Grupo 1 (Bom). Os demais estabelecimentos (33,3%) foram classificados em Ruim, com 33% de adequação, e Regular, com 67% de atendimento dos itens. Resultado aproximado foi encontrado por Medeiros *et al.* (2012) nos serviços de alimentação avaliados, onde foi observado percentual de adequação médio de 84%. O manejo integrado de vetores e pragas urbanas deve abranger um conjunto de ações multidisciplinares, como a implantação de barreiras físicas e mecânicas, ações educativas e, por último, a utilização de produtos químicos, para evitar o uso indiscriminado desses produtos, e proporcionar um ambiente livre de vetores e pragas (ESPÍRITO SANTO, 2018).

Sousa *et al.* (2020), em revisão integrativa 15 artigos selecionados publicados entre 2012 e 2019, encontraram os resultados dos percentuais médios de conformidades das condições higiênico-sanitárias de Unidades Produtoras de Refeições (UPRs), em relação aos blocos de Edificações, Instalações, Equipamentos, Móveis e Utensílios de 40%, Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios de 46%, Controle Integrado de Pragas de 55%, Abastecimento de Água de 72%; Manejo de Resíduos 40%, Manipuladores de 31%, Matérias-Primas, Ingredientes e Embalagens foi de 23%; Preparação do Alimento foi de 37%, Exposição do Alimento Preparado foi de 30%, Armazenamento foi de 30% e Documentação e Registros foi de 42%.

Em relação ao bloco de Abastecimento de água, somente uma lanchonete (16,7%) foi classificada como Regular, as demais foram avaliadas com 100% de adequação. A RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) exige que sejam realizadas higienizações periódicas nos reservatórios; que os reservatórios sejam mantidos em adequado estado de conservação; que seja utilizada água potável para manipulação de alimentos (e para vapor e gelo em contato com alimentos, quando utilizados). A norma não exige que o estabelecimento realize análises laboratoriais da água, exceto se for proveniente de solução alternativa.

No bloco de Manejo dos resíduos, todos os estabelecimentos apresentaram 100% de adequação dos itens. Resultados diferentes foram encontrados por Sousa *et al.* (2020) e Ferreira, Lima e Aguiar (2020) que observaram uma média de 40% de adequação nas UPRs e serviços de alimentação, respectivamente. Segundo a RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) os estabelecimentos devem dispor de coletores de resíduos em número e capacidade suficiente, dotados de tampas com acionamento sem contato manual, identificados, íntegros, de fácil higienização e transporte; os resíduos devem ser recolhidos de forma

frequente e armazenados em local fechado e isolado da área de preparação e armazenamento de alimentos.

Em relação ao bloco de Manipuladores, 66,7% (n=4) obtiveram 76% a 100% de adequação dos itens e foram classificadas como Grupo I (Bom) e 33,3% (n=2) atenderam de 51% a 75% dos itens e receberam a classificação de Grupo II (Regular). No entanto, em pesquisa realizada por Dias e Santos (2017) em sete serviços de alimentação localizados na área interna de uma instituição de ensino, sendo três lanchonetes não franqueadas, duas lanchonetes pertencentes a franquias e dois restaurantes, avaliaram os procedimentos de boas práticas executados por manipuladores de alimentos, tais como vestuário, asseio pessoal, hábitos higiênicos, estado de saúde, atendimento ao cliente e área de resíduo e observaram que nenhuma das categorias de estabelecimentos foram classificadas como pertencentes ao Grupo 1 (76 a 100% de adequação); as três lanchonetes não franqueadas atenderam apenas 48% dos itens avaliados, classificando-se no Grupo 3 (0 a 50% de conformidade).

Hábitos comportamentais inadequados e falhas nos procedimentos realizados por manipuladores de alimentos, especialmente aqueles relacionados à higiene pessoal, higienização das mãos, equipamentos e utensílios e manipulação de alimentos influenciam diretamente a contaminação de alimentos (COELHO; MOURA; ANDRADE, 2021). Czarniecka-Skubina, *et al.* (2019) registraram não conformidades como o uso inadequado de luvas descartáveis, manipulação dos alimentos e do dinheiro simultaneamente e uso de roupas inadequadas durante o preparo das refeições.

Estudos que realizaram análises das mãos dos manipuladores, identificaram a presença de contaminantes, indicando higienização inadequada das mãos Ponath *et al.* (2016), por exemplo, considerando os critérios da Organização Pan-Americana da Saúde, identificou que todos os manipuladores de 05 lanchonetes pesquisadas apresentaram níveis insatisfatórios de contaminantes nas mãos (Mesófilos, Coliformes e *Staphylococcus aureus*). Silva, Santos e Soares (2017) avaliaram as mãos dos manipuladores de restaurantes comerciais e institucionais e identificaram que 50% das amostras apresentaram resultados insatisfatórios para *S. aureus*. *S. aureus* são importantes causadores de intoxicações alimentares e a contaminação dos alimentos pelo micro-organismo ocorre principalmente a partir dos manipuladores - cerca da metade dos indivíduos saudáveis são portadores (vias nasais e na garganta, cabelo e pele) (FORSYTHE, 2013). Apesar das lanchonetes deste estudo terem apresentado adequação satisfatória dos itens relacionados à higiene dos manipuladores, não foi realizada análise microbiológica das mãos, sendo importante ressaltar a relevância de programas de controle de qualidade em serviços de alimentação e de capacitações contínuas sobre higienização das mãos e higiene pessoal.

No bloco de Matérias-primas, ingredientes e embalagens, apenas dois estabelecimentos foram classificados como Regular; nenhum foi classificado como Ruim, variando entre 60 a 100% de adequação. Medeiros *et al.* (2012) classificaram como Ruim a média do bloco de Matérias-primas, ingredientes e embalagens de serviços de alimentação, com 47%; entre não conformidades comumente relatadas, estão a identificação e disposição inadequadas dos alimentos (MOREIRA; DEUS, 2017; GENTA; MAURÍCIO; MATIOLI; 2005). A RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) preconiza que seja realizada inspeção e aprovação dos insumos recebidos, com verificação de temperatura dos alimentos que necessitam de conservação especial nas fases de recebimento e armazenamento, dentre outros requisitos para o armazenamento adequado.

Quanto ao bloco de Preparação do alimento, 50% das lanchonetes (n=3) foram classificadas como Regular, e os outros 50%, como Bom. Lima, Saturnino e Tobal (2020) encontraram situação mais crítica entre 14 lanchonetes avaliadas: os itens relacionados ao preparo e transporte dos alimentos tiveram o segundo maior número de não conformidades, com média de 40,5% de inadequação. A etapa de preparação é crítica para obtenção de alimentos seguros, uma vez que nessa etapa são empregados métodos para redução da contaminação microbiana (FORSYTHE, 2013), assim como são adotadas medidas a fim de se evitar que contaminantes sejam adicionados ao alimento (BRASIL, 2004).

No bloco de “Armazenamento e transporte do alimento preparado”, em 50% (n=3) dos estabelecimentos este item não era aplicável. Uma lanchonete (17%) foi classificada como Ruim, com 0,0% de adequação, e outra foi classificada como Regular. Esses resultados são críticos, pois a etapa de armazenamento dos alimentos preparados é imprescindível para garantir a inocuidade dos alimentos. O armazenamento de alimentos sem garantir a temperatura adequada de conservação, ou seja, acima de 60°C ou resfriados a baixas temperaturas, podem favorecer o crescimento de micro-organismos patogênicos, como *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni* (FORSYTHE, 2013). A RDC n. 216/2004 preconiza que a temperatura dos alimentos preparados seja controlada durante todo o período de armazenamento, até a entrega ao consumo, a fim de garantir sua qualidade higiênicossanitária; isso inclui o monitoramento também nos equipamentos de exposição ao consumidor, como balcões térmicos e estufas (BRASIL, 2004). Para o efetivo controle, o estabelecimento deve especificar a rotina de registro da temperatura dos alimentos (SILVA JUNIOR, 2014). Nesta pesquisa, os itens relacionados à exposição dos alimentos aos consumidores não apresentaram grande variação entre os estabelecimentos: 05 foram classificados no Grupo 1 e apenas 1 foi classificado no Grupo 2.

Em relação ao bloco de Documentação e registro, 33,3% dos estabelecimentos (n=2), lanchonete A e D, tiveram 0,0% e 12,5% de adequação, respectivamente, e obtiveram

classificação de Ruim. Os demais estabelecimentos (66,7%) tiveram 100% de adequação dos itens e foram classificados como Bom. Belphman e Szczerepa (2019) verificaram que todos os serviços de alimentação avaliados possuíam Manual de Boas Práticas e Procedimentos Operacionais Padronizados, no entanto, esses documentos não estavam estruturados e redigidos conforme exigências da legislação sanitária e, em muitos casos, não estavam de acordo com a realidade do estabelecimento.

Lima, Saturnino e Tobal (2020) observaram que no item documentação 93% das lanchonetes apresentaram inadequações entre 89% e 100% dos itens avaliados. De acordo com a RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) os serviços de alimentação devem possuir Manual de Boas Práticas e Procedimentos Operacionais Padronizados. No entanto, somente a elaboração desses documentos sem sua completa aplicação deixa de ser um instrumento para garantir as boas práticas e prevenir a contaminação dos alimentos (BELPHMAN; SZCZEREPA, 2019). No bloco de Responsabilidade, 33,3% das lanchonetes (n=2) apresentaram 50% de adequação, sendo classificados como Ruim e 66,7% (4 estabelecimentos) apresentaram 100% de adequação e obtiveram a classificação de Bom. Barbosa *et al.* (2018) verificaram 45,5% de adequação no item referente à Responsabilidade nos *food trucks* avaliados. Ferreira, Lima e Aguiar (2020) encontraram percentual médio de 65% de adequação dos serviços de alimentação na categoria de Responsabilidade. Segundo a RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004) o proprietário ou funcionário designado deve ser o responsável pelas atividades de manipulação dos alimentos e ser comprovadamente capacitado em, no mínimo, contaminantes alimentares, doenças transmitidas por alimentos, manipulação higiênica dos alimentos e boas práticas.

Diante da classificação em grupos de cada bloco de itens avaliados, observa-se que a maior parte dos blocos foi classificado como Grupo 1, exceto os itens de 'Armazenamento e transporte do alimento preparado' e 'Documentação e registro' (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação dos grupos quanto ao percentual de adequação por blocos, Grande Vitória/ES, 2014.

Classificação	Bloco avaliado
Grupo 1 (76 a 100%)	Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios Controle integrado de vetores e pragas urbanas Abastecimento de água Manejo de resíduos Manipuladores Matérias-primas, ingredientes e embalagens Preparação do alimento Exposição ao consumo do alimento preparado Responsabilidade
Grupo 2 (51 a 75%)	Armazenamento e transporte do alimento preparado Documentação e registro
Grupo 3 (0 a 50%)	-

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Cabe salientar que neste estudo utilizou-se uma lista de verificação baseada na RDC n. 216/2004 (BRASIL, 2004), mas outras normas podem ser utilizadas para avaliação de serviços de alimentação, como a norma ABNT NBR 15635:2008: Serviços de Alimentação - Requisitos de Boas Práticas Higiênico-sanitárias e Controles Operacionais Essenciais, utilizada por MEDEIROS *et al.* (2012), e a Portaria nº 817/2013 (BRASIL, 2013), que estabeleceu as diretrizes para categorização dos serviços de alimentação para a Copa do Mundo FIFA 2014 (BRASIL, 2013), utilizada por Moreira e Deus (2017).

Os consumidores atuais têm conhecimento de direitos e buscam segurança ao consumir alimentos em diferentes tipos de estabelecimentos (LYRA *et al.*, 2017). Assim, é preciso buscar verificar de forma rotineira as boas práticas de manipulação dos alimentos. Neste contexto, Silva *et al.* (2015) relataram que a aplicação da lista de verificação é uma ferramenta simples que permite avaliar as condições higiênico-sanitárias de estabelecimentos que manipulam alimentos e que, a partir das observações feitas, é possível traçar as estratégias para correção das falhas detectadas. Nesse sentido, os estabelecimentos podem buscar apoio de profissionais especializados, como nutricionistas, para obter a orientação no que diz respeito a correções de inadequação das boas práticas e atender a legislação vigente.

■ CONCLUSÃO

A maioria das lanchonetes avaliadas apresentou resultados satisfatórios quanto a aplicação das boas práticas de manipulação de alimentos, e nenhuma foi classificada como “Ruim”. Considerando o hábito crescente da população de se alimentar fora do lar e os riscos à saúde que os consumidores podem estar expostos em casos de falhas na implementação das boas práticas, sugere-se a constante avaliação das condições de boas práticas nos estabelecimentos bem como a busca de correção das inadequações detectadas.

■ REFERÊNCIAS

1. BARBOSA, L. B. *et al.* Avaliação das boas práticas higiênico-sanitárias em food trucks. **Motri., Ribeira de Pena**, v. 14, n. 1, p. 226-231, 2018.
2. BELPHMAN, C.; SZCZEREPA, S. B. Adequação do manual de boas práticas e dos procedimentos operacionais padronizados em serviços de alimentação de Ponta Grossa, Paraná. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 7, n. 2, p. 69-74, 2019.
3. BEZERRA, I.N; MOREIRA, T.M.V; CAVALCANTE, J.B.; SOUZA, A.M.; SICHIERI, R. Consumo de alimentos fora do lar no Brasil segundo locais de aquisição. **Rev Saude Publica**, vol. 51, n. 15, 2017.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 out. 2002.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 set. 2004.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 817, de 10 de maio de 2013. Aprova as diretrizes nacionais para a elaboração e execução do projeto-piloto de categorização dos serviços de alimentação para a Copa do Mundo FIFA 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 maio 2013.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019. Boletim Epidemiológico n. 32, vol. 51, Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/edicoes/2020/boletim-epidemiologico-svs-32.pdf/view>>. Acesso em: 17 jan. 2022.
8. CLARO, R.M. *et al.* Evolução das despesas com alimentação fora do domicílio e influência da renda no Brasil, 2002/2003 a 2008/2009. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, vol. 30, n. 7, p. 1-9, jul. 2014.
9. COELHO, R. H.; MOURA, G. S.; ANDRADE, V.de O. A. Contaminação de alimentos e seus fatores predisponentes: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 10071-10087, 2021. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/29435>>. Acesso em: 24 jan. 2022.
10. CZARNIECKA-SKUBINA, E. *et al.* Consumer choices and service quality in the university canteens in Warsaw, Poland. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 19, p. 3699, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/16/19/3699>>. Acesso em: 25 jan. 2022.
11. DIAS, R. M. F.; SANTOS, I. C.B.dos. Aplicação das boas práticas em restaurantes e lanchonetes localizados em instituição de ensino superior de Salvador, BA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 31, n. 270/271, jul./ago., 2017.
12. DUTRA, V.S. *et al.* Condições físicas e higiênico-sanitárias das lanchonetes de Presidente Figueiredo – Amazonas. **Revista Agrária Acadêmica**, v.2, n.4, jul./ago., 2019. Disponível em: <<https://agrariacad.com/wp-content/uploads/2019/08/rev-agr-acad-v2-n4-2019-p147-157.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2022.
13. ESPÍRITO SANTO. Portaria nº 064-R, de 06 de setembro de 2018. As empresas especializadas na prestação de serviços de controle de vetores e pragas urbanas e a execução das ações de controle de vetores e pragas urbanas em todo o estado do Espírito Santo devem atender as diretrizes e requisitos gerais estabelecidos nesta Portaria e seus anexos. **Diário Oficial do Espírito Santo**, Vitória, ES, 10 set. 2008.
14. FERNANDES, A. M.; KERN, M.G.; FORTUNA, J. L. Pesquisa de Coliformes e Estafilococos em maionese artesanais de lanchonetes do município de Teixeira de Freitas-BA. **Higiene Alimentar**, vol.29, n. 248/249, p. 200-205, 2015.

15. FERREIRA, C. A.; LIMA, V. S. de.; AGUIAR, L. P. Sanitary hygienic conditions of food services in Brazil: an integrative review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. e499108156, 2020.
16. FONSECA, J.G.; PEREIRA, M. G. Contaminação microbiana de sanduíches em lanchonetes: estudo transversal realizado em Brasília. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília. v. 22, n.3, p. 509-516, jul-set 2013.
17. FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2013.
18. GENTA, T. M. S.; MAURÍCIO, A. A.; MATIOLI, G. Avaliação das Boas Práticas através de check-list aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Science**, v. 27, n. 2, p. 151-156, 2005.
19. LEAL, D. Crescimento da alimentação fora do domicílio. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 17, n. 1, p. 123-132, 2010. Disponível em: <<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8634806>>. Acesso em: 20 jan. 2022.
20. LIMA, M.B. de; SATURNINO, C.M. M.; TOBAL, T. M. Evaluation of the adequacy of good manufacturing procedures in foodservice establishments. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, 2020. e433997418-e433997418, 2020. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/7418>>. Acesso em: 25 jan. 2022.
21. LYRA, G.R., MOTTA, M.C.M., SÃO JOSÉ, J.F.B. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em restaurantes comerciais de Vitória-ES. **Rev Inst Adolfo Lutz**,76, p.1-7, 2017.
22. MEDEIROS, L. B.; SACCOL, A. L.de F.; DELEVATI, Miriam Teresinha da Silva; BRASIL, Carla Cristina Bauermann. Diagnóstico das condições higiênicas de serviços de alimentação de acordo com a NBR 15635:2008. **Braz. J. Food Technol.**, IV SSA, p. 47-52, mai. 2012.
23. MESSIAS, G. M., TABAI, K. C., BARBOSA, C. G. Condições higiênico-sanitárias: Situação das lanchonetes do tipo FAST FOOD do Rio de Janeiro, RJ. **Rev. Univ. Rural**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 1, p. 48-58, 2007.
24. MOREIRA, L. R.R.; DEUS, G.I.de. Avaliação e categorização do risco sanitário de lanchonetes universitárias antes e após orientações técnicas. **Higiene Alimentar**, vol.31, n. 266/267, mar./abr. 2017.
25. OLIVEIRA, M. M. M.de; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R.H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, vol. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.
26. PONATH, F. S.; VALIATTI, T.B.; SOBRAL, F. O. S.; ROMÃO, N.F.; ALVES, G.M.C.; PASSONI, G. P. Avaliação da higienização das mãos de manipuladores de alimentos do Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 1, Ananindeua, mar. 2016.
27. POPKIN, B.M. The Nutrition Transition: An Overview of World Patterns of Change. **Nutrition Reviews**, vol. 62, n.. 7, p. 140 - 143, jul. 2004.
28. POPKIN, B. M. Global nutrition dynamics: the world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. Commentrary. **Am J Clin Nutr.** n. 84; p. 289 –298, 2006.
29. RODRIGUES, A. C.D.S.; ROCHA, P. S. G.; SOARES, L.S. Perfil microbiológico de alimentos e bebidas servidas em lanchonetes e restaurantes localizados em instituição de ensino de Salvador, BA. **Hig. Aliment.**, v. 31, n. 274/275, p. 66-70, dez. 2017.

30. SACCOL, A. L.de F. **Sistematização de ferramenta de apoio para boas práticas em serviços de alimentação**. Orientador: Profa. Dra. Luisa Helena Hecktheuer. 2007. 192 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, 2007.
31. SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Como montar uma lanchonete. c2021. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/como-montar-uma-lanchonete,8b187a51b9105410VgnVCM1000003b74010aRCRD#apresentacao-de-negocio>> Acesso em 08. jan. 2022.
32. SILVA JUNIOR, E. A. da. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**. 7. ed. São Paulo: Ed. Livraria Varela, 2014.
33. SILVA, L. C. ; SANTOS, D. B. ; Silva, E.M.M; SÃO JOSÉ, J.F.B. Boas práticas na manipulação de alimentos em unidades de alimentação e nutrição. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 10, p. 797-820, 2015.
34. SILVA, R.N.A.da; SANTOS, Ana Paula Lopes; SOARES, Lilian Santos. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores em restaurantes comerciais e institucionais da cidade de Salvador, BA. **Higiene Alimentar**, vol. 31, n. 270/271, p. 103-108, jul./ago., 2017.
35. SILVEIRA, J.T.; BRASIL, C.C.B.; FLORIANO, J.M.; SCHWARZER, P.F. Condições higiênicas e boas práticas de manipulação em serviços de alimentação da cidade de Itaquí-RS. **Vigil. sanit. debate**, vol.3, n.2, p. 144-149, 2015.
36. SOUSA, A. A. de; PAZ, F. A. do N.; CARVALHO, L. M. F. de; BEZERRA, K. C. B.; LANDIM, L. A. dos S. R. Hygienic-sanitary conditions in units producing meals: a review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e46891110017, 2020.
37. VAZ, D. V.; HOFFMANN, R. Elasticidade-renda e concentração das despesas com alimentos no Brasil: uma análise dos dados das POF de 2002-2003, 2008-2009 e 2017-2018. **Revista de Economia**, v. 41, n. 75, p. 282-310, 2020.
38. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. **Geneva, Switzerland**, 2015. Disponível em:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1

Avaliação microbiológica de goma de mandioca comercializada no município de Maceió - AL

| **Ângela Froelich**
IFAL

| **Celso Ritir Batista**
IFAL

| **Mylla Rafaelly da Silva Santos**
IFAL

RESUMO

A goma de mandioca é um alimento rico em polissacarídeos, que vem sendo consumido cada vez mais como preparado de tapioca. A denominação “goma” se dá devida a propriedade de formar géis quando em contato com água. Por apresentar elevado teor de água, a goma de mandioca se torna mais susceptível a proliferação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes. **Objetivo:** nesse contexto, a pesquisa teve por finalidade avaliar a qualidade microbiológica das gomas de mandioca comercializadas no município de Maceió - AL. **Material e métodos:** as gomas de mandioca foram coletadas nos supermercados do município de Maceió - AL, transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal de Alagoas - campus Satuba, e submetidas às análises de número mais provável para coliformes a 45 °C, isolamento de *Staphylococcus aureus* e determinação de Bolores e Leveduras **Resultados:** durante as análises das gomas, os resultados para coliformes a 45 °C atenderam aos padrões da legislação vigente. Em todas as análises realizadas, as amostras apresentaram boa conformidade, sendo estas consideradas adequadas para consumo. **Conclusão:** a presença de micro-organismos como *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras indicam condições higiênicas inadequadas de produção.

Palavras-chave: Goma de Mandioca, Avaliação Microbiológica, Contaminação.

■ INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é um cultivo herbáceo com um crescimento extensivo em diversas regiões brasileiras, apresenta grande importância tanto como fonte de energia para a alimentação humana e animal, quanto como geradora de emprego e de renda, principalmente, nas áreas pobres da região Nordeste (CEREDA *et al.*, 2003). É uma das mais importantes culturas alimentícias dos países tropicais, e a maior fonte de calorias para mais de 600 milhões de pessoas nas regiões da África tropical e subtropical, Ásia e América Latina (ELSHARKAWY, 2004; FALQUET; TAYLOR, 2002).

A mandioca é cultivada por pequenos produtores para utilização do amido de suas raízes nas formas in natura e processada (principalmente como farinha e goma). Seu cultivo persiste por ser um vegetal tolerante a diferenças climáticas e stress ambiental (ELSHARKAWY, 2004), requerendo cuidados mínimos onde outras espécies, provavelmente, não conseguiriam se desenvolver, com isso, tornou-se uma das culturas principais em várias regiões do Brasil. Sendo também fonte produtora de energia e tem elevado potencial de rendimento. A versatilidade do uso e aplicações da mandioca, seus produtos e subprodutos, propiciam um amplo espectro mercadológico mundial para consumo humano.

Entre os produtos e subprodutos da mandioca, um dos mais valorizado nos últimos tempos é a goma de mandioca para o preparo da tapioca, pois além ser rica em polissacarídeos, não é constituída de glúten, características necessárias para atletas que buscam por uma alimentação livre de gorduras e portadores de doença celíaca. Para a obtenção da goma de mandioca, a raiz da mandioca sofre processo de descascamento, trituração, desintegração, purificação, peneiramento, umidificação, decantação e separação. Este produto apresenta alto valor nutricional, podendo ser utilizado em diversos segmentos alimentícios (LIMA *et al.*, 2007).

Favorita das dietas atuais, a tapioca, que seu consumo se restringia a região Nordeste do Brasil, vem ganhando espaço no cardápio de quem opta por uma alimentação livre de glúten. O alimento é de origem indígena e tem como base a fécula de mandioca sendo um excelente substituto de pães e biscoitos. Para os praticantes de atividades físicas é uma ótima opção de lanche antes do treino, fornecendo rapidamente energias. Ademais, é possível consumi-la com uma enorme gama de recheios, sendo eles doces e salgados. Nos supermercados é possível encontrar a goma da mandioca hidratada, pronta para ir para frigideira. Tanta praticidade fez muita gente trocar o pãozinho pela tapioca no café da manhã.

A designação “goma” é empregada para denominar produtos que adquirem características de pastas ou géis quando entram em contato com a água. Por apresentar elevado teor de água, quando comparado com a farinha, a goma de mandioca apresenta maior suscetibilidade à deterioração microbiológica (UKHUN *et al.*, 1989).

Vários fatores podem interferir no crescimento de micro-organismos na goma utilizada para o preparo de tapioca, como o teor de umidade, o conteúdo de oxigênio, a temperatura, as condições higiênicas durante a obtenção da matéria-prima, a presença de vetores, além de fatores relacionados ao beneficiamento e armazenamento do produto, podendo apresentar contaminantes como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e fungos toxigênicos (MARCIA; LAZZARI, 1998).

A qualidade de um alimento pode ser delimitada através do controle de qualidade analítico que enfoca a abordagem na inspeção durante a produção até a execução de testes físico-químicos, químicos e microbiológicos no produto. A condição higiênico-sanitária é um parâmetro aceito para a determinação da qualidade microbiológica dos alimentos.

Bactérias do grupo coliformes termotolerantes são utilizadas como indicadoras de condições higiênico-sanitárias de água e alimentos. A presença de micro-organismos indicadores, como *E. coli* em produtos processados indica, provavelmente, contaminação posterior ao processamento (BLOOD; CURTIS, 1995).

Devido a goma de mandioca apresentar sua maior produção de forma semi-industrial ou artesanal, em condições de rusticidade, grande parte das gomas comercializadas não apresentam condições adequadas de higiene, não garantindo, assim uma maior confiabilidade de consumo, visto que, mesmo durante o preparo da tapioca, a temperatura necessária para a geleificação da goma é baixa e o processo acontece rapidamente, não sendo suficiente para eliminar/reduzir os micro-organismos presentes. Com isso, o objetivo da pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica de gomas de mandioca comercializadas no município de Maceió – Alagoas.

■ MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização das análises microbiológicas, as gomas de mandioca foram coletadas nos supermercados do município de Maceió - AL, em seguida, transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal de Alagoas, Campus Satuba, onde deu-se início as análises. As oito amostras coletadas foram submetidas às análises de número mais provável para coliformes a 45 °C, isolamento de *Staphylococcus aureus* e determinação de Bolores e Leveduras, seguindo a metodologia preconizada por APHA (2001).

- *Número Mais Provável de coliformes a 45 °C*: foi utilizada 25 g da amostra diluída em 225 mL peptonada, em seguida, foram realizadas as diluições seriadas a 10^{-3} . Uma série de 9 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose foram inoculados com 1 mL, por tubo, com as diluições, sendo incubados, posteriormente, a 37 °C por 48 h. Os tubos que continham presença de gás e turvação do meio de cultura (positivo)

foram inoculados em tubos contendo Caldo *Escherichia coli* e incubados a 45 °C durante 24 h.

- *Isolamento de Staphylococcus aureus*: foi coletado 0,1 mL das diluições e, em seguida, inoculadas na superfície de *Baird Parker Agar* e incubadas a 35 °C por 48 h. Decorrido o tempo de incubação, as colônias típicas foram submetidas a confirmação bioquímica.
- *Deteção de Bolores e Leveduras*: foi coletado, das diluições seriadas, 0,1 mL para serem inoculadas na superfície do *Ágar Batata Dextrose* e, posteriormente, incubadas a 25 °C durante 5 dias. Após esse tempo, as colônias foram contadas e expressas em UFC/g.

■ RESULTADOS

Segundo a IN 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019), as especificações para contagem de coliformes a 45 °C para alimentos preparados prontos para o consumo devem apresentar contagem máxima de 20 NMP/g. Como exposto na Tabela 1, os resultados para coliformes a 45 °C apresentaram níveis aceitáveis de contagem, estando, assim, de acordo com a legislação vigente.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas em goma de mandioca.

Amostras	Coliformes a 45 °C (NMP/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
01	< 3	< 100	Incontável na diluição 10 ⁻³
02	< 3	< 100	2,1 x 10 ⁶
03	< 3	< 100	1,1 x 10 ⁵
04	< 3	< 100	1,2 x 10 ⁶
05	< 3	2,3 x 10 ³	9,9 x 10 ⁵
06	< 3	< 100	Incontável na diluição 10 ⁻³
07	< 3	< 100	< 100
08	< 3	< 100	Incontável na diluição 10 ⁻³

Fonte. Elaborada pelos autores (2021).

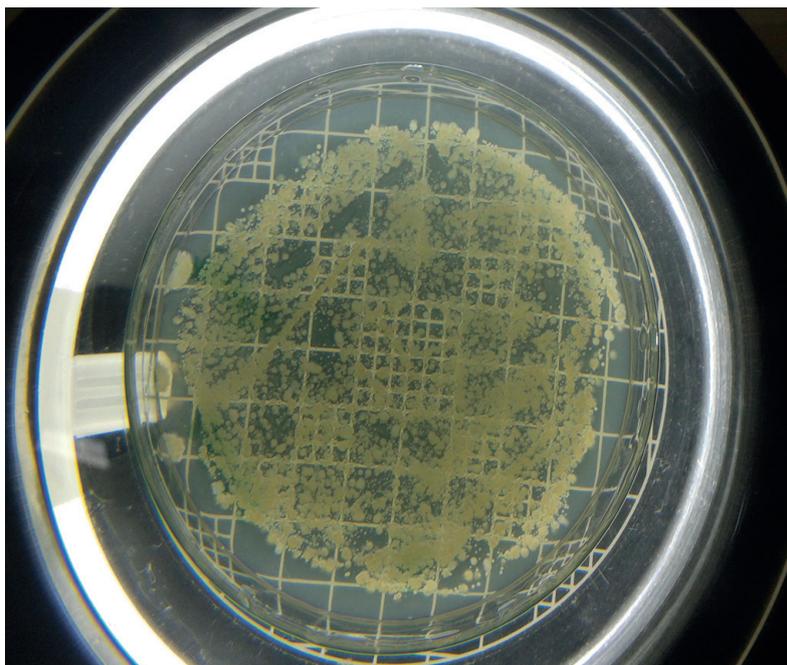
Luna e colaboradores (2013), analisaram a qualidade microbiológica de gomas de mandioca comercializadas no Ceará, e puderam constatar que os resultados para contagem de coliformes à 45 °C foram inferiores a 3 NMP/g, sendo estes semelhantes ao presente estudo. A presença desse grupo de micro-organismos no alimento, revela má higiene, seja através da matéria-prima, ou de equipamentos mal higienizados, ou de manipulação higiênica inadequada.

Conforme a Tabela 1, na contagem de *Staphylococcus aureus*, a amostra 5 foi a única a apresentar contaminação, obtendo uma contagem de 2,3 x 10³ UFC/g, esse microrganismo é considerado um indicador de contaminação, principalmente, pela manipulação inadequada

do alimento (FEITOSA *et al.*, 2017). No entanto, a ingestão de uma dose de quase 1 μg deste micro-organismo pode provocar os sintomas da intoxicação, essa quantidade é atingida quando a população do mesmo, alcança valores acima de 10^6 UFC/g do alimento, ou seja, nas análises realizadas nestas amostras, não foi detectado risco ao consumir o alimento.

Para a contagem de bolores e leveduras, apenas a amostra 7 apresentou resultados excelentes de contagem (< 100 UFC/g). As amostras 1, 6 e 8 apresentaram níveis de contaminação, não podendo ser estimada, pois mesmo na última diluição realizada (10^{-3}), não foi possível fazer a contagem, como pode-se observar na Figura 1. Já na Figura 2, pode-se observar as contagens de bolores. Segundo Franco e Landgraf (2003), contagens elevadas representam, além do aspecto deteriorante que pode levar inclusive à rejeição do produto, um risco à saúde pública devido à possível produção de micotoxinas por algumas espécies de bolores. Porém, os fungos infecciosos raramente são associados aos alimentos, entretanto, certas leveduras de origem alimentar podem desencadear reações alérgicas em indivíduos com imunidade baixa.

Figura 1. Contagem de leveduras. Fonte. Elaborado pelos autores (2021).



Fonte. Elaborada pelos autores (2021).

Figura 2. Contagem de Bolores.



Fonte. Elaborada pelos autores (2021).

A goma de mandioca é um produto que apresenta as melhores condições para a proliferação de micro-organismos sejam patogênicos ou deteriorantes, por isso, sua produção deve estar de acordo com os princípios das boas práticas de fabricação para que não comprometam precocemente a qualidade do produto e sua vida útil.

■ CONCLUSÃO

Das amostras de gomas de mandioca analisadas, somente cinco apresentaram resultados microbiológicos aceitáveis para consumo. Entretanto, três amostras estavam em desacordo com a legislação, contaminadas com micro-organismos patogênicos, porém sem risco a saúde.

Pode-se, destacar que, em uma das amostras, não foi detectada contaminação significativa nas análises realizadas. Ainda, todas as amostras atenderam os padrões da legislação para a contagem de coliformes a 45 °C. Os índices de contaminação nas gomas de mandioca, principalmente por bolores e leveduras, indicaram condições higiênicas inadequadas de produção, o que pode ocasionar a deterioração do alimento ou possíveis problemas à saúde pública.

■ REFERÊNCIAS

1. BENNETT, R. W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: DOWNES, F. P; ITO K. (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. **American Public Health Association**, Washington, D. C. Chapter 32, p. 311-316, 2001.
2. BLOOD, R. M.; CURTIS, G. D. W. Media for “total” Enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli*. **International Journal of Food Microbiology**. v. 26, p. 93-115, 1995.
3. BRASIL, Agência Nacional de Vigilância de Sanitária. **Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019.
4. CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. (Coord.). **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. v. 3. São Paulo: **Fundação Cargill**, 2003.
5. DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. (Ed.). 4. ed. Washington: APHA, 2001.
6. EL-SHARKAWY; M. A. Cassava biology and physiology. **Plant Molecular Biology**., v. 56, p. 481501, 2004.
7. FALQUET, C. M.; TAYLOR, N. The potential for biotechnology to improve the nutritional value of cassava. **Food Nutr. Bull.**, v. 23, p.364-366. 2002.
8. FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M.; TORRES, E. A. T.; SILVA, J. F. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Revista Desafios**, v. 04, n. 04, 2017.
9. FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.
10. LUNA, A.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; PEREIRA, A. O. B. Estudo físico-químico, bromatológico e microbiológico de *Manihot esculenta crantz* (mandioca). **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2013.
11. MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. Monitorament of fungi in corn, frits and corn meal. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 363-367, 1998.
12. SOUSA, C. P.; LIMA, A. W. O.; SERRANO, N. F. G.; LIMA, C. P. S. Presença de Microrganismos Indicadores de Qualidade em Farinha e Goma de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Revista APS**, v. 10, n. 1, p. 14-19, 2007.

Beneficiamento e estabilidade microbiológica do marisco (*Anomalocardia brasiliiana*) marinado e defumado

| **Maria Érica da Silva Oliveira**
UFERSA

| **Raquel Lima Salgado**
UFERSA

| **Joice Teixeira Souza**
UFERSA

| **Carolina de Gouveia Mendes da Escóssia Pinheiro**
UFERSA

| **Thiago Mendes Fernandes**
UERN

RESUMO

Objetivo: Como forma de agregar valor ao marisco (*Anomalocardia brasiliiana*), comercializado, basicamente, in natura, pré-cozido resfriado ou pré-cozido congelado, na presente pesquisa, teve-se como objetivo a avaliação do beneficiamento e da estabilidade microbiológica do marisco marinado e do marisco defumado. **Método:** Para o acompanhamento da estabilidade microbiológica do produto defumado e do produto marinado, realizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade para pesquisa de Bactérias mesófilas. **Resultados:** Em relação à avaliação microbiológica, verificou-se que o marisco in natura, o marinado e o defumado apresentaram contagem de mesófilos de $8,10 \times 10^3$ UFC/g, $6,45 \times 10^2$ UFC/g e $1,55 \times 10^3$ UFC/g, respectivamente. **Conclusão:** A tecnologia de marinação, em relação ao acompanhamento da estabilidade microbiológica, mostrou-se mais eficaz na redução e inibição do crescimento de micro-organismos, aumentando a vida útil e agregando valor ao produto, além de ter sido o processo de menor custo.

Palavras-chave: Conservação, Pescado, Processamento, Vôngole.

■ INTRODUÇÃO

A produção mundial de moluscos bivalves aumentou consistentemente nos últimos sessenta anos. No ano de 2015, a produção mundial de mariscos alcançou o valor de 16,1 milhões de toneladas (FAO, 2018). No Brasil, a exploração de mariscos, que é realizada, principalmente, por marisqueiras, é uma atividade antiga e possui grande importância social, econômica e cultural. Esta atividade, além de atender às demandas de subsistência, pode se constituir em fonte de renda principal ou como fonte complementar de outras atividades extrativistas das famílias que fazem a mariscagem (ZUFFO, 2019).

A oferta do marisco mais comum é in natura, pré-cozido resfriado ou pré-cozido congelado. No entanto, a precariedade das unidades de processamento dos mariscos faz com que ocorram entraves na comercialização de produtos mais elaborados, ocasionando uma diminuição no consumo desse alimento (LEITE; OLIVEIRA, 2015). Associado a isto, existe ainda o risco no consumo de mariscos, pois, por serem filtradores das águas de cultivo e serem encontrados próximo à costa, em águas mais rasas e, muitas vezes, poluídas por esgotos e embarcações, comumente podem ser encontrados micro-organismos que desfavoreçam a qualidade sanitária do alimento (NASCIMENTO *et al.*, 2011; GALVÃO; OETTERER; FURLAN, 2014).

Os riscos associados ao consumo de marisco podem ser minimizados nas etapas de coleta, processamento, armazenamento, distribuição e consumo, mediante vigilância constante para garantir o fornecimento sustentável e seguro de mariscos (VENUGOPAL; GOPAKUMAR, 2017). Assim, a fim de oferecer um produto com maior vida de prateleira e características sensoriais agradáveis, o uso de tecnologias alternativas tem aumentado. Nesse contexto, tecnologias, como salga, secagem, cocção, marinação e defumação, ou ainda, a combinação entre elas, são recomendadas, pois agregam valor ao produto, diminuem a carga microbiológica, aumentam a atração do consumidor e melhoram a renda de comunidades envolvidas na atividade extrativa de moluscos (ORDÓÑEZ-PEREDA, 2007; GONÇALVES, 2011; CIRQUEIRA, 2013).

De acordo com Cherifi e Sadok (2016), a marinação de mariscos, utilizando vinagre e sal (cloreto de sódio), aumenta a acidez da solução e reduz a degradação microbiana. Segundo os autores, o processamento de mariscos marinados aumenta a variedade de pescado no mercado, cria novas oportunidades de mercado e estimula a economia local, tornando os mariscos uma nova fonte de renda. Segundo Neres *et al.* (2014), o processo de defumação, aliado a boas práticas de fabricação, são eficientes na manutenção da qualidade dos alimentos e, dessa forma, oferecem menos riscos aos consumidores. Como um dos métodos mais antigos de preservação do alimento, a defumação é a combinação de fumaça, sal e secagem, que proporciona características sensoriais agradáveis ao pescado, além de aumentar o seu valor comercial (GONÇALVES; OLIVEIRA, 2011).

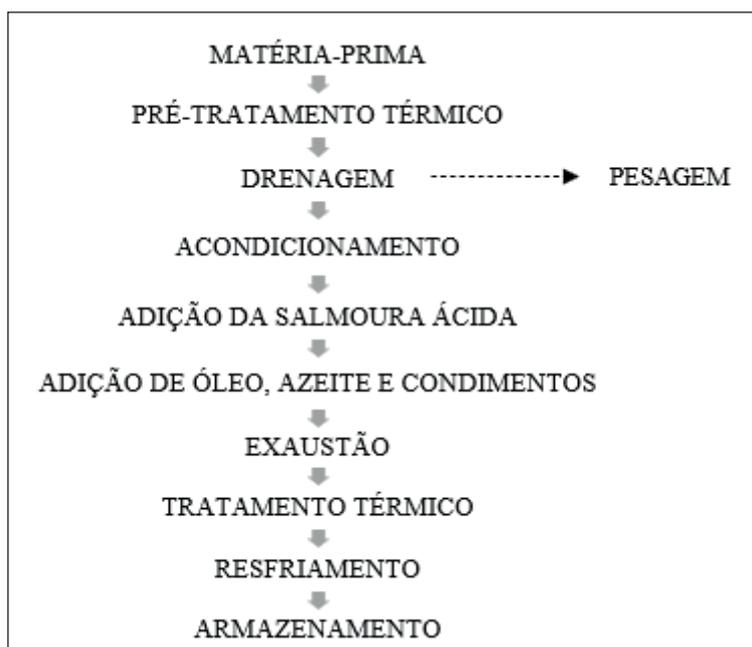
Sabendo-se dos benefícios dos processos tecnológicos já testados em outros tipos de pescado, teve-se como objetivo, na presente pesquisa, o beneficiamento e a avaliação da estabilidade microbiológica do marisco marinado e do marisco defumado.

■ MÉTODO

O marisco (*Anomalocardia brasiliiana*) foi extraído manualmente e de forma artesanal na praia de Grossos, RN, Brasil (Lat. 4° 58' 49" S., Long. 37° 9' 19" O.), durante a maré baixa. Após a coleta, os mariscos foram submetidos aos processos de depuração, cozimento e desconchamento. A matéria-prima foi, então, disponibilizada para os processos de marinação e defumação por aspersão de fumaça líquida. As etapas do processamento estão descritas nos fluxogramas das Figuras 1 e 2, respectivamente.

Para a obtenção do produto marinado (Figura 1), os mariscos depurados e desconchados foram submetidos ao pré-tratamento térmico. Para tanto, a matéria-prima foi aquecida em água inicialmente à ebulição e em volume suficiente para cobrir a superfície do produto, por 30 minutos. Após o processo de pré-tratamento térmico, fez-se a drenagem da água (5 min) e acondicionou-se o marisco (60 g) em frasco de vidro com capacidade de 150 g, previamente esterilizado. Após o marisco ser acondicionado nos potes, adicionou-se 60 mL de salmoura ácida (vinagre de vinho branco + 5% de NaCl), em temperatura de ebulição. Em seguida, foram adicionados os demais componentes da formulação, sendo 4,46% de condimentos (louro, pimenta e manjericão) previamente misturados em 25 mL de líquido de cobertura (57,38% de óleo de soja e 38,26% de azeite de oliva extravirgem).

Figura 1. Processo de marinação aplicado ao marisco (*A. brasiliiana*).



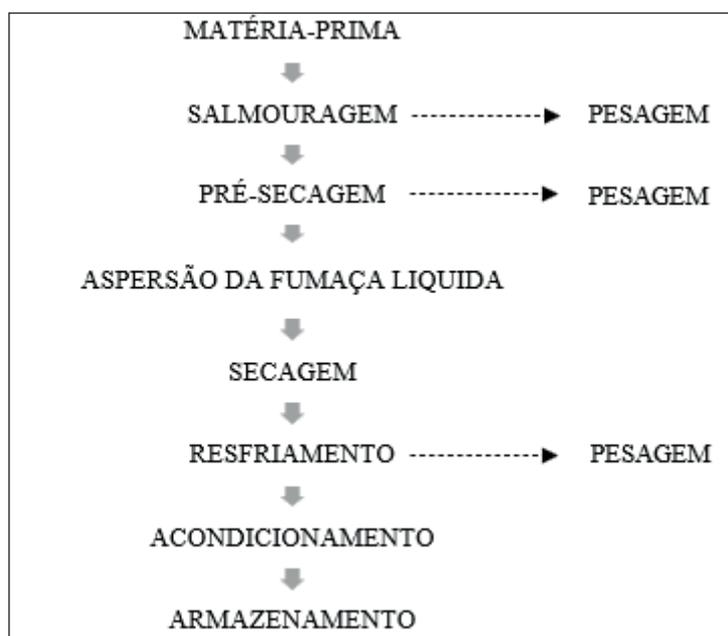
Fonte: Adaptado de Bispo et al. (2004b).

Após a adição dos ingredientes, realizou-se o processo de exaustão, no qual o produto embalado, com a tampa semifechada, foi mantido parcialmente mergulhado em água à ebulição por 20 minutos, contado a partir do momento em que a salmoura atingiu a temperatura de 90 °C. Após esse tempo, efetuou-se o tratamento térmico final, que ocorreu com a embalagem completamente fechada, por 30 minutos, em água em ebulição.

Logo após o tratamento térmico, realizou-se o resfriamento do produto, o qual foi imerso em água inicialmente à temperatura de 60 °C e, posteriormente, em água à temperatura de 38 °C. Por fim, o produto obtido foi mantido por 3 dias à temperatura ambiente, para a maturação, conforme adaptação da metodologia proposta por Bispo *et al.* (2004b).

Para a realização do produto defumado (Figura 2), os mariscos, depurados e desconchados, foram submetidos à salmouragem (10% de NaCl) por imersão, durante 15 minutos, com agitação. Em seguida, os mariscos foram colocados em bandejas de tela metálica, para que o excesso de salmoura fosse drenado, e, então, foram pesados e submetidos ao processo de pré-secagem. O processo de pré-secagem ocorreu em estufa sob temperatura de 50 °C por 45 minutos. Durante o processo de pré-secagem, foi utilizada fumaça líquida diluída (Densidade de 1,009 e 5,3 °Brix), aspergida na superfície dos mariscos, para o processo de defumação por aspersão.

Figura 2. Processo de defumação por aspersão de fumaça líquida aplicado ao marisco (*A. brasiliense*).



Fonte: Elaborada pelos autores (2022).

Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem e defumação, utilizando os tempos e temperaturas descritos no Quadro 1. A cada intervalo, foi realizada a aspersão da fumaça líquida sobre o marisco (totalizando 50 mL em todo o processo).

Quadro 1. Tempo e temperatura utilizados no processo de secagem e defumação do marisco defumado por aspersão de fumaça líquida.

	TEMPO	TEMPERATURA
1º	45 min	60 °C
2º	45 min	70 °C
3º	45 min	80 °C

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

No final dos processos de secagem e defumação, o produto foi retirado da estufa, resfriado e pesado. Em seguida, acondicionou-se o produto em potes de vidro de 150 mL, na proporção 60 g de marisco defumado e 85 mL de óleo de canola, fazendo com que o líquido de cobertura cobrisse por completo o marisco. O produto obtido foi armazenado em temperatura ambiente para maturação por 3 dias, conforme Figura 2.

Para o acompanhamento da estabilidade microbiológica do produto marinado e do produto defumado, realizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade em meio Ágar Padrão para Contagem® (PCA), para a pesquisa de Bactérias mesófilas, segundo metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 2003 (BRASIL, 2003).

Foi feita a contagem de aeróbios mesófilos no marisco in natura, no marisco processado (dia 0), nos produtos maturados (dia 3) e depois a cada 07 dias, durante um período de 38 dias, conforme Quadro 2. Foram analisadas tanto as amostras armazenadas em temperatura ambiente, para verificar a estabilidade do produto ainda com a embalagem fechada, como as amostras armazenadas em temperatura de refrigeração, após a abertura da embalagem, que ocorreu no 3º dia após a elaboração do produto, limite de tempo estabelecido nesta pesquisa para a maturação do marisco.

Quadro 2. Dias e temperaturas de armazenamento para verificação da estabilidade dos produtos marinado e defumado.

Temperatura de armazenamento dos produtos	Dias de análises						
	Dia 0	Dia 3	Dia 10	Dia 17	Dia 24	Dia 31	Dia 38
Ambiente	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Refrigerado	-	-	✓	✓	✓	✓	✓

(✓) Indica que a análise foi realizada; (-) Indica que a análise não foi realizada.

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 sumariza o resultado da análise microbiológica da contagem de mesófilos do marisco *A. brasiliensis* in natura e dos mariscos processados no dia 0 e armazenado em temperatura ambiente após 3 dias. Verificou-se uma contaminação de $8,10 \times 10^3$ UFC/g de mesófilos no marisco in natura. Deve-se ressaltar que a flora microbiana de moluscos é muito variada, dependendo da qualidade da água de onde foram retirados, da qualidade da água utilizada para a lavagem desse pescado, além de outros fatores (JAY, 2005).

Tabela 1. Resultados da contagem de mesófilos do marisco *A. brasiliiana* in natura e dos mariscos processados no dia 0 e armazenado em temperatura ambiente após 3 dias.

Amostras	UFC/g
Marisco in natura	$8,10 \times 10^3$
Marisco marinado (dia 0)	$6,45 \times 10^2$
Marisco defumado (dia 0)	$1,55 \times 10^3$
Marisco marinado maturado (dia 3)	$3,33 \times 10^1$
Marisco defumado maturado (dia 3)	$1,63 \times 10^5$

UFC, Unidade Formadora de Colônias.

Fonte: Elaborada pelos autores (2022).

Damacena e Barros (2019) analisaram amostras in natura de vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e encontraram valores de mesófilos entre 5×10^4 e 7×10^6 UFC/g, valores superiores aos encontrados na presente pesquisa. Bispo *et al.* (2004a) analisaram vôngole e encontraram valores de aeróbios mesófilos de $5,9 \times 10^3$ UFC/g em amostras in natura, valor inferior ao encontrado na presente pesquisa. Segundo Barreto *et al.* (2017), altas contagens de mesófilos em alimentos podem indicar problemas no manuseio e armazenamento.

De acordo com Barreto *et al.* (2017), entre os fatores que contribuem para a elevada densidade microbiana dos moluscos bivalves está o processo de alimentação desses organismos, que acontece por filtração e concentra em seus tecidos diversos micro-organismos, caso sejam extraídos em áreas poluídas por esgotos ou não ocorram boas práticas higiênicas e sanitárias durante a retirada das conchas, processo realizado geralmente nas residências das marisqueiras. Segundo Trombeta e Normande (2017), a depuração dos mariscos é uma forma de diminuir a quantidade de micro-organismos desse alimento, além de fornecer um produto com garantia sanitária aos consumidores. Dessa forma, os responsáveis pela coleta e manipulação inicial do marisco devem ser instruídos quanto à importância dessa etapa do processo.

Segundo Leite e Oliveira (2015), a fim de evitar danos à saúde pública, são conhecidas três regras básicas quanto à manipulação de marisco: transportá-los rapidamente, mantê-los limpos e refrigerados, e cozinhá-los em temperatura adequada. A garantia da qualidade dos moluscos bivalves é dada pela correta manipulação e pela depuração do produto, feitas em estabelecimentos apropriados. A certificação sanitária desse alimento é dada pelo Ministério da Agricultura. A legislação brasileira atual não estabelece parâmetros para a análise de bactérias mesofílicas em moluscos (BRASIL, 2019). No entanto, a contagem desses micro-organismos é muito importante para estimar a carga microbiana, pois a maioria dos micróbios patogênicos de origem alimentar é composta de agentes mesofílicos (BARRETO *et al.*, 2017).

Na presente pesquisa, observou-se (Tabela 1) que a contagem de aeróbios mesófilos diminuiu quando comparados o marisco marinado (dia 0) ($6,45 \times 10^2$ UFC/g) com o marisco

in natura ($8,10 \times 10^3$ UFC/g). Além disso, foi observada uma diminuição na contagem de mesófilos no produto marinado após três dias de maturação ($3,33 \times 10^1$ UFC/g). De forma semelhante, Bispo *et al.* (2004b) verificaram que a carga microbiana (aeróbios mesófilos totais) do marinado de marisco *Anomalocardia brasiliiana* foi inferior à contagem no marisco in natura, o que evidencia a eficiência da tecnologia aplicada e a ação antimicrobiana do ácido acético (CHERIFI; SADOK 2016).

Analisando-se, ainda, a Tabela 1, verificou-se que a contagem de aeróbios mesófilos no marisco defumado (dia 0) ($1,55 \times 10^3$ UFC/g) foi inferior ao marisco in natura ($8,10 \times 10^3$ UFC/g). Esse fato deve-se à ação conservante do NaCl, da temperatura e da fumaça líquida empregadas no processamento das amostras. Segundo Gava, Silva e Frias (2014), a ação conservadora dos produtos defumados ocorre devido ao efeito combinado de vários processos tecnológicos, como salga, cozimento, secagem e pela presença de certas substâncias químicas na fumaça. Entretanto, observou-se que após três dias de maturação do produto defumado armazenado à temperatura ambiente, a carga microbiana nos produtos aumentou de $1,55 \times 10^3$ UFC/g para $1,63 \times 10^5$ UFC/g. De acordo com Franco e Landgraf (2008), a conservação de alimentos após defumação só pode ser assegurada pela manutenção dos produtos sob refrigeração, em temperatura inferior ou igual a 4 °C, em virtude de o tratamento não eliminar os esporos das bactérias.

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados da análise microbiológica, a partir do décimo dia de armazenamento, do produto marinado armazenado em temperatura de refrigeração, após a abertura da embalagem, e do produto armazenado em temperatura ambiente, com a embalagem fechada. Observa-se que o produto marinado teve a carga de mesófilos diminuída, tanto no produto após aberto e mantido em temperatura de refrigeração quanto no produto fechado em temperatura ambiente. Essa diminuição, provavelmente, ocorreu em virtude da ação antimicrobiana do ácido acético e do NaCl utilizados no processo de salmouragem.

Tabela 2. Resultados da contagem de mesófilos do produto marinado de *A. brasiliiana* a partir dos dez dias de armazenamento até o 38 dia de análise.

Dias	ARMAZENAMENTO	
	Refrigerado (UFC/g)	Ambiente (UFC/g)
10 ^º	$2,33 \times 10^1$	$1,10 \times 10^2$
17 ^º	$0,33 \times 10$	$8,00 \times 10^1$
24 ^º	$0,66 \times 10$	$1,10 \times 10^2$
31 ^º	$0,33 \times 10$	$0,33 \times 10$
38 ^º	-	$0,33 \times 10$

(-) não avaliado.

Fonte: Elaborada pelos autores (2022).

Sallam (2008) analisou pescado marinado e verificou que soluções contendo ácido acético e NaCl podem melhorar a qualidade microbiológica, retardar ou inibir o crescimento de micro-organismos e prolongar a vida de prateleira do produto durante o armazenamento sob refrigeração. Amin *et al.* (2018) verificaram que o processo de marinação melhora a qualidade microbiológica de pescado, sendo capaz de inibir o crescimento de patógenos de origem alimentar.

Bispo *et al.* (2004b) verificaram que o processo de marinação foi suficiente para eliminar mesófilos do marisco *A. brasiliensis* marinado, pois quando comparado com a amostra inicial (marisco in natura), o resultado da análise evidenciou a ausência desses micro-organismos no produto. Os autores verificaram, ainda, que a marinação conseguiu manter as bactérias mesófilas ausentes durante seu tempo de análise de estabilidade. Porém, a eficiência do processo para diminuir ou eliminar os micro-organismos presentes vai depender da qualidade microbiológica inicial da amostra. Segundo Gonçalves (2018), os produtos marinados armazenados em temperaturas de refrigeração (4 - 6 °C) mantêm sua qualidade por mais tempo. Portanto, o processo de marinação realizado na presente pesquisa pode ser utilizado como um método seguro para a preservação de mariscos.

Na Tabela 3, estão apresentados os resultados da análise microbiológica, a partir do décimo dia de armazenamento, do produto defumado armazenado em temperatura de refrigeração, após a abertura da embalagem, e do produto armazenado em temperatura ambiente, com a embalagem fechada. Observou-se que a contagem de aeróbios mesófilos do produto defumado mantido sob refrigeração, ao longo dos dias, manteve-se inferior à carga microbiana do produto mantido à temperatura ambiente, o que confirma a ação conservante do processo de defumação em conjunto com a refrigeração dos produtos. O óleo de canola, utilizado no processamento como líquido de cobertura do marisco defumado, pode ter contribuído para ação conservante, pois possui ação antimicrobiana e pode ser utilizado como aditivo natural (GIAQUINTO *et al.*, 2017).

Tabela 3. Resultados da contagem de mesófilos do produto marinado de *A. brasiliensis* a partir dos dez dias de armazenamento até o 38 dia de análise.

Dias	Refrigerado (UFC/g)	Ambiente (UFC/g)
10 ^º	6,30 × 10 ⁵	6,40 × 10 ⁵
17 ^º	1,93 × 10 ⁵	8,10 × 10 ⁵
24 ^º	2,06 × 10 ⁵	6,23 × 10 ⁵
31 ^º	-	3,03 × 10 ⁵
38 ^º	-	2,85 × 10 ⁵

(-) não avaliado.

Fonte: Elaborada pelos autores (2022).

De acordo com Gonçalves e Oliveira (2011), o pescado defumado a quente e estocado a 4 °C tem, geralmente, uma vida útil de até duas semanas. Os pesquisadores afirmam,

ainda, que devido à fumaça líquida conter compostos antimicrobianos e antioxidantes, pode estender a vida de prateleira e retardar a deterioração durante o armazenamento sob refrigeração. Além disso, de acordo com as pesquisas de Galvão, Oetterer e Furlan (2014), após a defumação, o molusco deve ser resfriado e embalado, podendo ter vida útil de até três meses, caso seja corretamente processado, o que explica o fato de o produto mantido em temperatura ambiente possuir carga microbiana superior ao produto mantido sob refrigeração.

Observou-se que após o 17º dia de armazenamento do produto defumado à temperatura ambiente, a contagem de aeróbios mesófilos teve uma ligeira diminuição, até o final do experimento. Esse fato pode ser explicado por uma possível rancificação do óleo de canola presente no produto defumado. Segundo Franco e Landgraf (2008), ácidos graxos livres liberados durante a hidrólise de gorduras têm ação inibitória para muitos micro-organismos. As autoras afirmam, ainda, que os peróxidos produzidos durante a oxidação dos ácidos graxos insaturados possuem efeitos tóxicos para muitos micro-organismos, fato que pode explicar a redução dos aeróbios mesófilos no final do experimento. Porém, deve-se ressaltar que só uma análise mais específica para afirmar se de fato isso tenha ocorrido. Ainda é necessário levar em consideração que, apesar desse fato ter causado uma diminuição na contagem dos micro-organismos, o consumo desse alimento seria inviável, visto que poderiam acarretar efeitos toxicológicos. Nesse contexto, de acordo com Kanner (2007), a oxidação lipídica pode ser um dos principais processos degradativos nos alimentos e o consumo de produtos oxidados pode causar prejuízos à saúde humana

Na presente pesquisa, deve-se ressaltar que após o processo de defumação, o produto não passou por nenhum outro processo, como exaustão, o que pode ter contribuído para o aumento da carga microbiana do produto. De acordo com Galvão, Oetterer e Furlan (2014), após o processo tecnológico de defumação, o produto deve ser acondicionado em embalagem coberta com óleo de boa qualidade e submetido a uma temperatura de 120 °C e tempo de 15-30 minutos, com o objetivo de esterilizar o produto.

■ CONCLUSÃO

Na avaliação da estabilidade microbiológica, observou-se que o marisco marinado se manteve mais estável que o marisco defumado. Logo, o processo de marinação mostrou-se mais eficaz na redução e inibição do crescimento de micro-organismos, aumentou a vida útil e agregou valor ao produto. Deve-se avaliar, pois, as possíveis falhas no processo de defumação, para um alcance de um produto final com melhor qualidade.

■ AGRADECIMENTOS

Agradecemos às marisqueiras da Associação das Mulheres Pescadoras e Artesãs do Município de Grossos (RN) pela receptividade e doação da matéria-prima utilizada na pesquisa. Agradecemos, também, à equipe do LIPOA – Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal e do LAPESC – Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, pela disponibilidade para a execução da pesquisa.

■ REFERÊNCIAS

1. AMIN, H. F.; AHMED, O. M.; RASMEY, A. M.; YOUNIS, A.; BEKHITD, A. A. Effect of technological processing on the safety of Indian mackerel (*Rastrelliger kangurata*) from Suez, Egypt. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 22, n. 5, p. 283-294, 2018.
2. BARRETO, N. S. E.; DAMACENA, S. S.; CARDOSO, L. G.; MARQUES, V. F.; SILVA, I. P. Condições higiênicas sanitárias e grau de frescor do pescado comercializado no mercado de peixe em Cachoeira, Bahia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 11, n. 1, p. 60-74, 2017.
3. BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; ANDRADE, G.; LEITE, C. C. Aproveitamento industrial de marisco na produção de linguça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 664-668, 2004a.
4. BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D.; LEITE, C. C.; LIMA, M. A. C. Processamento, estabilidade e aceitabilidade de marinado de vongole (*Anomalocardia brasiliiana*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, 2004b.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, Seção 1, nº 249, p. 133, 26 de dezembro de 2019.
6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003.
7. CHERIFI, H.; SADOK, S. Effects of marinating process on mussels physicochemical and microbiological quality attributes during refrigerated storage. **Bulletin de l'institut national des sciences et technologies de la mer de Salammbô**, v. 43, p. 5-17, 2016.
8. CIRQUEIRA, M. G. **Contribuição tecnológica ao aproveitamento de moluscos bivalves**. 2013. 107 f. Dissertação – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2013.
9. DAMACENA, S. S.; BARROS, L. S. S. Microbiological Quality, Transmission of Resistant Bacteria, and Genetic Characterization in Fish Sold in Town Fairs in the Recôncavo da Bahia Region. **Brazil Food and Nutrition Sciences**, v. 10, p. 1072-1084, 2019.

10. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. 2018. 227p.
11. FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.
12. GALVÃO, J. A.; OETTERER, M.; FURLAN, E. F. Mexilhão: Controle de Qualidade, Beneficiamento e Industrialização. In: Galvão, J. A.; Oetterer, M. (Ed.), **Qualidade e Processamento do Pescado**. Elsevier Editora: Rio de Janeiro, 2014. 237p.
13. GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008. 511p.
14. GIAQUINTO, C. D. M.; SOUZA, G. K. M.; CAETANO, V. F.; VINHAS, G. M. Evaluation of the mechanical and thermal properties of PHB/canola oil films. **Polímeros**, v.27, n.3, p.201-207, 2017.
15. GONÇALVES, A. A. Marinação do Pescado. In: Gonçalves, A. A (ed.). **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo, SP: Atheneu, 2011. 608p.
16. GONÇALVES, A. A. Peixes marinados ou pickles de peixe? **Aquaculture Brasil**, ed. 12 (mar/abr), 2018.
17. GONÇALVES, A. A; OLIVEIRA, A. C. M. Defumação do Pescado. In: Gonçalves, A. A (ed.). **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo, SP: Atheneu, 2011. 608p.
18. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.
19. KANNER, J. Dietary advanced lipid oxidation endproducts are risk factors to human health. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, n. 9, p. 1094-1101, 2007.
20. LEITE, M. M. S.; OLIVEIRA, G. M. A produção de vôngole e seu potencial para o desenvolvimento de novos produtos a base de pescado. **Revista Verde** (Pombal - PB - Brasil), v. 10, n. 5, p. 81-92, 2015.
21. NASCIMENTO, V. A.; SANTOS, R. C. A.; MITTARAQUIS, A. S. P.; TRAVÁLIA, B. M.; AQUINO, L. C. L. Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves-Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, v. 7, n. 4, 2011.
22. NERES, L. S.; PACHECO, E. A.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; JOELE, M. R. S. P. Linguiça defumada elaborada com carne de búfalos: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 3, p. 273-278, 2014.
23. ORDÓÑEZ-PEREDA, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. v. 2. Porto Alegre: Artmed, 2007. 280p.
24. SALLAM, K. I. Effect of marinating process on the microbiological quality of Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4° C. **International journal of food science and technology**, v. 43, n. 2, p. 220-228, 2008.
25. TROMBETA, T. D.; NORMANDE, A. C. L. Avaliação microbiológica de ostras cultivadas no litoral de Alagoas submetidas a depuração em sistema fechado de recirculação. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n. 3, p. 48-53, 2017.

26. VENUGOPAL, V.; GOPAKUMAR, K. Shellfish: Nutritive Value, Health Benefits, and Consumer Safety. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 6, p.1219-1242, 2017.
27. ZUFFO, A. M. **Aquicultura e pesca: adversidades e resultados**. Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019, 174p.

Elaboração e avaliação das propriedades físico-químicas e microbiológicas do queijo *Petit Suisse* sabor cajá, sem adição de gordura

| **Reginaldo Ferreira Sulino**
UFCG

| **Adriano Santana Silva**
UFCG

| **Gerla Castello Branco Chinelate**
UFRPE

| **Mônica Correia. Gonçalves**
UFCG

RESUMO

O presente estudo objetivou elaborar e avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do queijo *Petit Suisse* sem gordura, adicionado com três concentrações de polpa de cajá. As formulações produzidas foram avaliadas quanto ao pH, acidez total titulável, proteína total, umidade, cálcio total, gordura, cinzas e cor. De acordo com os resultados obtidos, as formulações atenderam às exigências da legislação e os resultados indicaram o emprego das boas práticas de fabricação e higiene na elaboração dos produtos. As concentrações diferentes de polpa de cajá adicionadas às formulações não influenciaram a composição e a cor dos produtos. Sem adição de gordura os queijos podem ser classificados como magros em gorduras sendo também uma boa alternativa para aqueles que procuram alimentos com baixo teor de gordura.

Palavras-chave: *Petit Suisse*, Produto Saudável, Novos Produtos.

■ INTRODUÇÃO

O consumo de altas quantidades de gordura está relacionado com o aumento do risco da obesidade e de alguns tipos de câncer (Mattes, 1998). Por isso, nos últimos anos, a preocupação crescente com uma dieta mais saudável tem gerado um aumento na procura por produtos com baixo teor de gordura. Assim, alimentos com reduzido conteúdo calórico, livres ou com baixos teores de gordura, ficaram mais populares, instigando o interesse por pesquisas e o desenvolvimento de produtos que satisfaçam as exigências sensoriais do consumidor (Food Ingredients Brasil, 2008).

O leite e seus derivados, que são excelentes fontes de cálcio, são produtos conceituados por apresentarem um alto valor nutricional. Entretanto, os consumidores estão cada vez mais exigentes na seleção de produtos alimentícios, por isso é importante que a inovação tecnológica atenda às expectativas destes consumidores, no intuito de oferecer produtos diferenciados, saudáveis e com qualidade (Prudencio, 2006).

Segundo a Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por queijo *Petit Suisse*, o queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou de enzimas específicas e/ou de bactérias específicas, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias (Brasil, 2001). No Brasil este produto é consumido como sobremesa e direcionado ao público infantil. No mercado a variedade de sabores do queijo *Petit Suisse* é pequena, sendo encontrado nos sabores morango, maçã verde e uva.

O cajá, por outro lado, tem um grande potencial para ser implementado ao queijo *Petit Suisse*, já que é um fruto bastante apreciado e de grande aceitação em todo o Brasil, sendo mais consumido no Nordeste, na forma *in natura* e, nas outras regiões do País, na forma de polpa (Mata, *et al.*, 2005).

É um fruto nuculânio perfumado com mesocarpo carnoso, amarelo, contendo carotenóides, açúcares, vitaminas A e C. A procura pelos frutos da cajazeira, deve-se principalmente às boas características para a industrialização, aliadas ao aroma e seu sabor agridoce. Esse fruto tem, também, valor nutricional que aumenta a eficiência física, acelera a cicatrização depois de cirurgias, combate infecções, resfriados e reduz ataques cardíacos. Aumenta a eficiência imunológica e favorece a elasticidade da pele, prevenindo rugas (Barroso *et al.*, 1999).

Diante do exposto, o presente estudo objetivou elaborar e avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do queijo *Petit Suisse* sem gordura, adicionado com três concentrações de polpa de cajá.

■ MATERIAIS E MÉTODOS

Elaboração dos queijos *Petit Suisse*

Ingredientes

Leite pasteurizado, cultura mesofílica (*Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*), coagulante comercial - HÁ-LA (Christian Hansen, Valinhos, Brasil), sacarose, cloreto de cálcio e polpa de cajá comercial.

Elaboração da Massa Base (Queijo Quark)

O procedimento para a fabricação do queijo *Petit Suisse* foi o mesmo utilizado por Souza (2010), com modificações. O leite pasteurizado foi aquecido até 40°C e adicionado o fermento mesofílico (2%), cloreto de cálcio (150 ppm) e coalho diluído em leite o suficiente para coagular o leite em 35 minutos. Após os ingredientes serem adicionados ao leite, misturou-se bem, e deixou-se coagular até que a massa apresentasse acidez em torno de 71°D (Dornic). Atingido a acidez a coalhada então foi quebrada e o soro foi drenado por gravidade para a suspensão da coalhada durante 20 horas em sacos de algodão previamente esterilizados. A massa base (queijo Quark) foi embalada em sacos plásticos sob-refrigeração a (4 ±1°C) até elaboração do queijo *Petit Suisse*.

Elaboração do Queijo *Petit Suisse* a partir massa base (queijo Quark)

A massa base (Queijo Quark) foi homogeneizada em processador industrial, juntamente com o açúcar e a polpa de acordo com as formulações presente conforme mostra a Tabela 1 até homogeneização completa, sem visualização de grumos. Após a homogeneização o produto foi embalado e armazenado (4 ±1°C).

Tabela 1. Ingredientes utilizados nas formulações do queijo *Petit Suisse* e suas respectivas quantidades.

Ingredientes	Formulações		
	A	B	C
Massa base (Queijo Quark)	2 kg	2 kg	2 kg
Açúcar	15%	15%	15%
Polpa de cajá	10%	15%	20%

Análises de composição, cor e qualidade microbiológica

As formulações de queijo *Petit Suisse* foram caracterizadas do ponto de vista físico-químico e microbiológico. No tocante às caracterizações físico-químicas, as amostras foram caracterizadas quanto à acidez total titulável (AOAC, 1995), cálcio total (Taras, 1995), proteína

total (fator de 6,38) (AOAC, 1995), umidade (AOAC, 1997), pH (potenciômetro da Digicron Analítica, modelo Digimed DM20) e cor (colorímetro Hunter Lab, modelo Miniscan XE PLUS), expresso pelas coordenadas L^* , a^* e b^* . O valor de L^* representa a luminosidade da amostra, variando de preto (0) a branco (100); o valor de a^* representa a cor, variando de vermelho (+) a verde (-) e o valor de b^* representa a cor, variando de amarelo (+) a azul (-). A qualidade microbiológica foi avaliada por meio de análises de coliformes a 35 e 45°C, nos tempos 1 e 28, segundo Brasil (2003).

Planejamento experimental

Foram realizados dois experimentos e utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, sendo que os resultados das análises físico-químicas realizadas foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5%. As médias obtidas desta análise com $p \leq 0,05$ foram submetidas ao teste de Tukey, para comparação das médias.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, encontram-se apresentados as caracterizações físico-químicas e física realizadas nas formulações do queijo *Petit Suisse*, formulado com três concentrações de polpa de cajá (Tabela 1). No tocante à legislação brasileira, Instrução Normativa nº 53 de 29 de Dezembro de 2000, do Ministério da Agricultura, a única característica físico-química do queijo *Petit Suisse* quantificada refere-se às proteínas lácteas, a qual não deve ser inferior a 6%.

Analisando os resultados constantes na Tabela 2, verificou-se que o teor protéico e a umidade obtida para as formulações desenvolvidas atende a legislação vigente no país. Ademais, os teores de proteínas das formulações desenvolvidas, foram estatisticamente iguais, o que indica que a adição dos diferentes teores de polpa não afeta significativamente esta variável.

Os resultados de pH encontrados nesta pesquisa são inferiores aos que Cardarelli (2006) encontrou ao desenvolver queijo *Petit Suisse* simbiótico com valores de pH de 4,29 a 6,68. O fato das formulações terem apresentados pH inferiores ao do autor citado se deve pela adição da polpa de cajá, como podemos observar nos dados apresentados na Tabela 2.

O teor de gordura dos queijos *Petit Suisse* elaborados está abaixo dos valores encontrados por Padilha (2013) que ao elaborar o queijo *Petit Suisse* probiótico e simbiótico encontrou respectivamente 3,00 e 2,75%, e por Cardarelli (2006) que encontrou valores de 2,42 à 2,70%, isso devido a não adição de gordura no processo de elaboração dos queijos *Petit Suisse*. Segundo Banks (2004), a redução do conteúdo de gordura resulta em um

aumento significativo no conteúdo de proteína o que pode ser observado nos dados conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Composição físico-química média (n=2) dos queijos *Petit Suisse*;

Caracterizações	Percentual de polpa adicionada à formulação			Legislação
	10%	15%	20%	
pH	4,21 ^a	4,14 ^a	4,12 ^a	n.d.
Acidez, % ácido láctico	0,55 ^a	0,54 ^a	0,55 ^a	n.d.
Proteína total, %	11,26 ^a	11,51 ^a	11,21 ^a	Min. 6,0
Umidade, %	75,68 ^a	75,77 ^a	72,89 ^a	<55,0%.
Cálcio total, %	287,9 ^a	327,83 ^a	351,83 ^a	n.d.
Gordura, %	1,0 ^a	0,87 ^a	1,25 ^a	n.d.
L	86,91 ^a	86,26 ^a	85,57 ^a	n.d.
a*	1,38 ^a	1,72 ^a	1,84 ^a	n.d.
b*	15,13 ^a	17,12 ^a	19,54 ^a	n.d.

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p> 0,05); n.d. – não definido

Conforme mostra a Tabela 2, as concentrações de polpa de cajá adicionadas às formulações não influenciaram a mudança de cor das amostras. Mas, pode-se observar que houve uma tendência de intensificar os parâmetros de cor avaliados quanto maior foi à concentração de polpa de cajá adicionada. Segundo Mattietto (2010) o cajá possui polpa de coloração amarela forte, tendendo, às vezes, ao alaranjado, resultado das cores vermelho (+a) e amarelo (+b).

Os limites permitidos pela legislação para microrganismos indicadores de contaminação em queijos de muita alta umidade, são de $1,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ de coliformes a 35°C, e $1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ de coliformes a 45°C. Todas as formulações apresentaram aos 28 dias de armazenamento refrigerado valores de coliformes a 35 e 45°C menores do que os valores estabelecidos pela legislação vigente.

Portanto, todas as formulações do queijo *Petit Suisse* atenderam as exigências da legislação e o resultado indica o emprego das boas práticas de fabricação e higiene na elaboração dos produtos.

■ CONCLUSÃO

Conforme os resultados encontrados, podemos concluir que as diferentes porcentagens de polpa de cajá não influenciou a composição físico-química dos queijos *Petit Suisse*. Segundo os padrões de coliformes a 35 e 45°C os queijos produzidos nesse trabalho apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos para o queijo *Petit Suisse* de leite de vaca. Em relação ao teor de gordura, o queijo obteve valores bem baixos, podendo ser classificado como queijo magro em gordura, sendo também uma boa alternativa para aqueles consumidores

que procuram alimentos com baixo teor de gordura e com sabores diferentes, já que o mercado produtor tem pouca variedade de sabores para esse tipo de queijo.

■ REFERÊNCIAS

1. AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 1018p.
2. AOAC -Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16. ed. Maryland: AOAC International, 1997. 1141 p.
3. Banks, J. M. The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, Huntingdon, v. 57, n. 4, p. 199-207, 2004.
4. Barroso, G. M.; Morim, M. P.; Peixoto, A. L.; Ichaso, C. L. F. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledônea. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 433p.
5. Brasil, Instrução Normativa nº 53 de 29 de dezembro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Petit Suisse. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, p. 3 de 04 de jan. 2001.
6. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 18 de set. 2003.
7. Cardarelli, H. R. (2006). Desenvolvimento de queijo *Petit Suisse* simbiótico (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.
8. Food Ingredients Brasil, Número 5 - 2008. [www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com/materias/74.pdf). Disponível em <http://www.revista-fi.com/materias/74.pdf>
9. Mattes, R. D. Position of the American Dietetic Association: fat replacers. *J. Am. Dietetic Ass.*, Chicago, v. 98, n. 4, p.463-468, 1998.
10. Mattietto, R. A. de; Lopes, A. S.; Menezes, H. C. de. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondiasmombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, v. 13, n. 3, p. 156-164, jul./set. 2010 DOI: 10.4260/BJFT2010130300021.
11. Mata, M. E. R. M. C.; Duarte, M. E. M.; Zanini, H. L. H. T. Calor específico e densidade da polpa de cajá (*SpondiasLutea* L.) com diferentes concentrações de sólidos solúveis sob baixas temperaturas. *Eng. Agríc.*, Jaboticabal, v.25, n.2, p.488-498, maio/ago. 2005.
12. Prudencio, I. D. (2006). Propriedades físicas de queijo Petit Suisse elaborado com retentado de soro de queijo e estabilidade de antocianinas e betalainas adicionadas (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
13. Padilha, M. (2013). Queijo *Petit-Suisse* probióticos e simbiótico: características tecnológicas e emprego de técnicas dependente e independentes de cultivos na avaliação da sobrevivência dos probióticos no produto e em ensaios de sobrevivência *in vitro* (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

14. Souza, V. R; Carneiro, J. D. S; Pinheiro, A. C. M; Pinto, S. M; Carvalho, L. P; Menezes, C. C. Elaboração de queijo Petit Suisse sabor morango de baixo valor calórico. Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes, Maio/Jun, nº 374, 65, 49:58. 2010.
15. TARAS, M. J. Standard methods for the examination of water and waste water. American Public Health Association, 1995.

Estimativa dos parâmetros de crescimento de *Bacillus cereus* em purê de batata armazenado em diferentes condições isotérmicas

| **Wiaslan Figueiredo Martins**
IF Goiano

RESUMO

Objetivo: estimar os parâmetros de crescimento de *B. cereus* em purê de batata sob diferentes condições isotérmicas de armazenamento, utilizando o *software Microrisk Lab*. **Método:** os dados de crescimento de *B. cereus* nas temperaturas entre 4 °C e 19,7 °C de armazenamento foram adquiridos do Instituto Nacional Francês de Pesquisa Agrícola, disponíveis na base de dados *ComBase* e o modelo de Baranyi e Roberts foi ajustado às curvas de crescimento utilizando o *MicroRisk Lab*. **Resultados:** pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas cinco temperaturas avaliadas, com valores de $R^2 \geq 0,99$. Os modelos secundários representaram bem a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento, com melhores valores de R^2 para os modelos Exponencial e Raiz quadrada. **Conclusão:** pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização podem ser usados para orientar os proprietários de restaurantes, estabelecimentos e indústria de produtos vegetais, para preparar e armazenar adequadamente o purê de batata e outros produtos relacionados para evitar o crescimento de *B. cereus*.

Palavras-chave: Patógeno, Segurança de Alimentos, Microbiologia Preditiva.

■ INTRODUÇÃO

Bacillus cereus, uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos e ubíqua, é amplamente reconhecida como um dos principais patógenos de origem alimentar (ROSENQUIST *et al.*, 2005). Esse micro-organismo pode sobreviver a altas temperaturas devido à formação de esporos e produzir dois tipos distintos de toxinas em termos de dois sintomas: tipo emético e tipo diarreico. A toxina cerulida causa os sintomas de intoxicação do tipo emético, sendo secretada por *B. cereus* quando sua população se aproxima de $6 \log_{10}$ UFC/g (KING *et al.*, 2007; TAKENO *et al.*, 2012), enquanto a intoxicação do tipo diarreica é geralmente induzida pelo consumo de alimentos contaminados pela enterotoxina não hemolítica (Nhe), citotoxina K (CytK) e a hemolisina BL (Hbl) (KIM *et al.*, 2011).

O *B. cereus* é frequentemente identificado em diversos produtos alimentícios, como vegetais, leite, produtos cárneos, arroz e cereais, portanto, é considerado um desafio significativo para a segurança de alimentos (GUINEBRETIERE *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2009; SAMAPUNDO *et al.*, 2011).

A batata é um alimento popular e básico comum como fonte de amido e nutrientes abundantes. *B. cereus* foi encontrado em produtos à base de batata, incluindo batatas cruas com casca, flocos de batata desidratados, produtos de batata prontos para consumo, purê de batata processado refrigerado e purê de batata cozido (HEINI *et al.*, 2018; RAJKOVIC *et al.*, 2006; THOMAS *et al.*, 2002). *B. cereus*, como uma bactéria formadora de esporos resistente ao calor, pode sobreviver durante o processamento (aquecimento e desidratação) de produtos de batata, devido aos tratamentos térmicos suaves dados a esses alimentos, sendo considerado um patógeno de origem alimentar significativo relacionado a alimentos processados à base de batata (DOAN; DAVIDSON, 2000; HEINI *et al.*, 2018).

Algumas cepas de *B. cereus* podem se multiplicar a 8 °C e abaixo de uma concentração que pode ser prejudicial à saúde humana e, portanto, representa um perigo para o consumo de alimentos refrigerados processados. Assim, é fundamental compreender e controlar o comportamento (crescimento, sobrevivência ou inativação) ou nível de contaminação dos micro-organismos em diferentes condições ambientais, para garantir que os alimentos sejam seguros para o consumo (GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2005; AUGUSTIN, 2011; GONZÁLEZ *et al.*, 2018). Para isso, a microbiologia preditiva tornou-se uma ferramenta valiosa para estimar o nível de concentração bacteriana baseada no uso de modelos matemáticos (ROSS; MCMEEKIN, 1994; PELEG; CORRADINI, 2011; BARANYI; SILVA, 2017).

A utilização de modelos matemáticos auxilia na obtenção de dados sobre o comportamento dos micro-organismos, tanto na sua inativação, sobrevivência ou no seu crescimento. Os modelos a serem utilizados são divididos em modelos primários, secundários e terciários. Os modelos primários representam a dinâmica dos micro-organismos em condições

constantes, em função do tempo. Já os secundários descrevem a influência dos fatores intrínsecos ou extrínsecos sobre o crescimento dos micro-organismos e, por fim, os modelos terciários se detêm na utilização de *softwares* capazes de realizarem a consolidação dos dados obtidos nos modelos primários e secundários (WHITING; BUCHANAN, 1993).

Muitos sistemas de modelagem interativa foram desenvolvidos nas últimas décadas (TENENHAUS-AZIZA; ELLOUZE, 2015). Entre as ferramentas *online* gratuitas, destaca-se o DMFit *online* do ComBase (www.combase.cc) pode ser facilmente acessado por meio de diferentes dispositivos conectados à internet, o que proporciona a capacidade de multiplataforma aos usuários. Recentemente, um sistema de modelagem *online* que integra modelos preditivos microbianos abrangentes, o *Microrisk Lab*, foi desenvolvido para a estimação de parâmetros e simulação de modelos em microbiologia preditiva (LIU *et al.*, 2021). A primeira versão do *Microrisk Lab* foi implantada no servidor 'Shinyapps.io' e está disponível em <https://microrisklab.shinyapps.io/english/>.

Diante desse contexto, objetivou-se estimar os parâmetros de crescimento de *B. cereus* em purê de batata sob diferentes condições isotérmicas de armazenamento, utilizando o *software Microrisk Lab*.

■ MÉTODO

Dados de crescimento

Os dados de crescimento em diferentes temperaturas foram obtidos do navegador ComBase (www.combase.cc), utilizando a categoria de alimento “*vegetable or fruit and their products*”, o micro-organismo “*Bacillus cereus*” e a faixa de temperatura entre 4 °C e 20 °C. Foram selecionados dados do crescimento (\log_{10} UFC/g) de *B. cereus* em purê de batata (pH = 5,78) em cinco temperaturas de armazenamento: 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C. Os dados foram reportados do Instituto Nacional Francês de Pesquisa Agrícola (*French National Institute for Agricultural Research - INRA*).

Modelagem primária

Para uma avaliação mais biológica sob a presença de micro-organismos e as consequências que eles desencadeiam no alimento armazenado, foi utilizado o modelo matemático primário sigmoidal com função de ajuste, Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994) (Equações 1, 2 e 3), que foi ajustado às curvas experimentais de *B. cereus* em purê de batata em diferentes temperaturas.

$$Y(t) = y_0 + \mu_{m\acute{a}x} A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{e^{\mu_{m\acute{a}x} A(t)} - 1}{e^{y_{m\acute{a}x} - y_0}} \right\} \quad (1)$$

$$A(t) = t + \left(\frac{1}{\mu_{m\acute{a}x}} \right) \ln \left[e^{(-\mu_{m\acute{a}x} t)} + e^{(-\mu_{m\acute{a}x} t_{lag})} - e^{(-\mu_{m\acute{a}x} t - \mu_{m\acute{a}x} t_{lag})} \right] \quad (2)$$

$$h_0 = \mu_{m\acute{a}x} t_{lag} \quad (3)$$

Nas equações, $Y(t)$ é o logaritmo da concentração microbiana N (UFC/g) no tempo t (horas), ou seja, $y(t) = \log [N(t)]$. O parâmetro $\mu_{m\acute{a}x}$ é a velocidade máxima específica de crescimento (h^{-1}); t_{lag} é a duração da fase de latência (h); y_0 é o logaritmo da concentração microbiana inicial, $y_0 = \log (N_0)$; $y_{m\acute{a}x}$ é o logaritmo da população máxima, $y_{m\acute{a}x} = \log (Nm\acute{a}x)$; h_0 é o parâmetro relacionado ao estado fisiológico das células (adimensional); $A(t)$ é a função do modelo Baranyi e Roberts.

Modelagem secundária

Os modelos secundários potência, exponencial, raiz quadrada e tipo Arrhenius (Equações 4, 5, 6 e 7, respectivamente) foram usados para descrever o efeito da temperatura na velocidade máxima específica de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$), em que a e b são parâmetros empíricos, T é a temperatura de armazenamento ($^{\circ}C$) e T_{min} é a temperatura teórica mínima de crescimento ($^{\circ}C$).

$$\mu_{max} = aT^{(b)} \quad (4)$$

$$\mu_{max} = ae^{(bT)} \quad (5)$$

$$\sqrt{\mu_{max}} = a(T - T_{min}) \quad (6)$$

$$\ln \mu_{m\acute{a}x} = a(1/T) + b$$

Análises numéricas

Os ajustes do modelo primário aos dados experimentais de crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas temperaturas de armazenamento entre 4 $^{\circ}C$ e 19,7 $^{\circ}C$ foram realizados no *software MicroRisk Lab online* versão 1.0. O ajuste foi realizado em apenas uma etapa, obtendo os parâmetros $\mu_{m\acute{a}x}$, t_{lag} , y_0 e $y_{m\acute{a}x}$.

Os valores estimados, os erros padrão e os intervalos de confiança inferior e superior de 95% (Eq. 8) foram determinados pelo pacote R de “stats” e “nlstool”.

$$\begin{cases} L95\%IC = \hat{\beta} - t_{95\%,df} \times MSE \times \hat{B} \\ U95\%IC = \hat{\beta} + t_{95\%,df} \times MSE \times \hat{B} \\ t_{95\%,df} = t_{95\%,\infty} \approx 1,96 \end{cases} \quad (8)$$

Em que, $\hat{\beta}$ é o parâmetro estimado; MSE é a soma média do erro quadrado; \hat{B} é o inverso da matriz de segundas derivadas da função log-probabilidade (*log-likelihood*) em função de β avaliada nas estimativas dos parâmetros $\beta = \hat{\beta}$; df é grau de liberdade, que é assumido infinito; $t_{95\%,df}$ é o valor da distribuição *t* para 95% de confiança para o número especificado de df.

Os modelos secundários foram ajustados no programa Microsoft Excel®. As equações dos modelos secundários foram realizadas em planilhas do Excel®.

Avaliação do desempenho dos modelos

Vários indicadores estatísticos foram relatados para avaliar e comparar a qualidade do ajuste entre os valores observados e previstos, como a soma dos quadrados residual (RSS, Eq. 9, DRAPER; SMITH, 1998), soma média do erro quadrado (MSE, Eq. 10, GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2005), soma da raiz média do erro quadrático (RMSE, Eq. 11, MCKELLAR; LU; RATKOWSKY, 2003), critério de informação Akaike regular (AIC, Eq. 12, AKAIKE, 1974), AIC corrigido (AIC_c, Eq. 13, BURNHAM; ANDERSON, 2003), critérios de informação Bayesianos (BIC, Eq. 14, SCHWARZ, 1978) e o coeficiente de determinação (R², Eq. 15, RAWLINGS; PANTULA; DICKEY, 2001).

$$RSS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (9)$$

$$MSE = \frac{RSS}{n} \quad (10)$$

$$RMSE = \sqrt{MSE} \quad (11)$$

$$AIC = -2 \log(\hat{\theta}) + k \ln(n) \quad (12)$$

$$AIC_c = AIC + \frac{2k(k+1)}{n-k-1} \quad (13)$$

$$BIC = -2 \log(\hat{\theta}) + k \ln(n) \quad (14)$$

Em que onde y_i é o *i*-ésimo valor da observação; \hat{y}_i é o *i*-ésimo valor da predição; k é o número de parâmetros; e n é o número de dados amostrais; $\log(\hat{\theta})$ é o valor numérico da probabilidade de log para o modelo ajustado (a probabilidade dos dados fornecidos a um modelo no modelo), que é doado pela função `logLik()` construída no pacote R 'stats'.

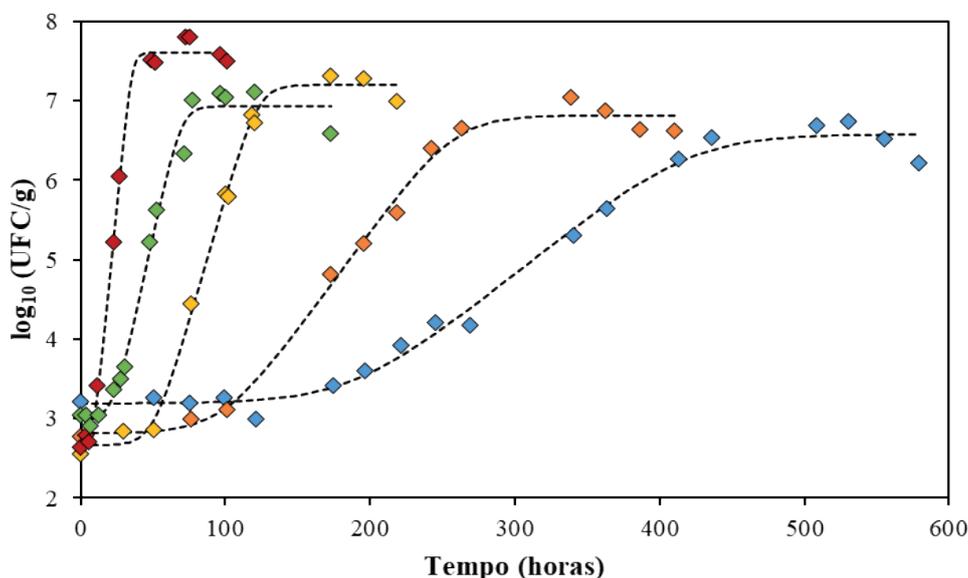
O desempenho dos modelos secundários foi avaliado pelo R², obtido do ajuste dos modelos aos dados de $\mu_{m\acute{a}x}$ em função da temperatura de armazenamento.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de crescimento foram obtidas em purê de batata para avaliar a temperatura de incubação no crescimento de *B. cereus* a 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C, e o modelo de Baranyi e Roberts foi ajustado aos dados experimentais utilizando o *software MicroRisk Lab*, apresentando um bom ajuste e todos os casos (Figura 1).

Independente da temperatura de crescimento, as contagens iniciais obtidas foram, em média, de 2,9 log₁₀ UFC/g, indicando que as curvas de crescimento foram construídas partindo, aproximadamente, do mesmo ponto. De acordo com Osimani, Aquilanti e Clementi (2018), vários surtos de origem alimentar foram causados por alimentos contaminados por *B. cereus* em contagens que variaram entre 2 log₁₀ UFC/g (um valor abaixo do limite relatado para produção de toxinas) e 9 log₁₀ UFC/g, sendo esse último valor detectado em alimentos ricos em amido. Curiosamente, 5 × 10² UFC/g (ou 2,7 log₁₀ UFC/g) corresponde ao limite mais baixo proposto de contagens de *B. cereus* para muitas categorias de alimentos de acordo com a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2019), destacando, assim, a adequação desse limite.

Figura 1. Curvas de crescimento de *Bacillus cereus* em purê de batata e os ajustes do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais nas temperaturas de 4 °C (símbolos vermelhos), 7 °C (símbolos verdes), 10,6 °C (símbolos amarelos), 15,1 °C (símbolos laranjas) e 19,7 °C (símbolos azuis) de armazenamento. As linhas tracejadas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.



Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os parâmetros de crescimento calculados de *B. cereus* incubado em purê de batata nas temperaturas indicadas são mostrados na Tabela 1. *B. cereus* foi capaz de crescer em todas as temperaturas, mesmo sob refrigeração (4 °C a 7 °C). O crescimento foi relativamente rápido na menor temperatura de armazenamento (4 °C), iniciando a fase exponencial em

8-9 dias, com uma velocidade específica máxima de crescimento de $0,03 \text{ h}^{-1}$, equivalente a um tempo de duplicação (geração) de, aproximadamente, 10 h. Guinebretière *et al.* (2001) verificaram que as condições de armazenamento a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ favoreceram o desenvolvimento de *Bacillus macroides*/*Bacillus maroccanus* e *Paenibacillus* spp. em purês de abobrinha, enquanto outros autores (CARLIN *et al.*, 2000; CHOMA *et al.*, 2000) relataram o crescimento de *Paenibacillus* spp. em outros purês, como alho-poró, brócolis, ervilha, cenoura e batata a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 1. Parâmetros de crescimento (\pm DP) estimados pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais de *B. cereus* em purê de batata armazenado a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $7 \text{ }^\circ\text{C}$, $10,6 \text{ }^\circ\text{C}$, $15,1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $19,7 \text{ }^\circ\text{C}$.

Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Parâmetros e intervalos de confiança					
	$\mu_{\text{máx}}$ (h^{-1})	IC95%	<i>t</i> _{lag} (h)	IC95%	$\gamma_{\text{máx}}$ (\log_{10} UFC/g)	IC95%
4	$0,03 \pm 0,00$	(0,03; 0,04)	$188,86 \pm 12,53$	(161,98; 215,74)	$6,58 \pm 0,08$	(6,41; 6,75)
7	$0,06 \pm 0,01$	(0,05; 0,07)	$98,29 \pm 13,00$	(68,31; 128,24)	$6,81 \pm 0,08$	(6,63; 6,99)
10,6	$0,14 \pm 0,01$	(0,13; 0,16)	$49,73 \pm 2,68$	(43,99; 55,47)	$7,20 \pm 0,08$	(7,03; 7,36)
15,1	$0,19 \pm 0,02$	(0,15; 0,24)	$22,11 \pm 3,04$	(15,42; 28,80)	$6,94 \pm 0,09$	(6,74; 7,14)
19,7	$0,42 \pm 0,04$	(0,34; 0,50)	$8,32 \pm 1,47$	(4,93; 11,71)	$7,61 \pm 0,06$	(7,48; 7,75)

IC95%: intervalo de confiança inferior e superior a 95%.

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Neste trabalho, o purê de batata apresentou valor de pH de 5,78, de acordo com as informações obtidas dos dados de crescimento no *ComBase* (www.combase.cc). De acordo com Valero, Fernández e Salmerón (2003), diferentes valores de pH influenciaram o crescimento de *B. cereus* em purê de cenoura. Em pH 5,1 e 5,2, o crescimento foi observado apenas quando a temperatura de incubação foi de $16 \text{ }^\circ\text{C}$. Por outro lado, à medida que o pH aumentava, aumentava também a temperatura de refrigeração necessária para inibir o crescimento de *B. cereus*. Segundo os autores, em pH 5,3, *B. cereus* não foi capaz de crescer a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ e $8 \text{ }^\circ\text{C}$, mas em pH 5,4 e 5,5, a inibição foi detectada apenas na temperatura de $5 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo considerada, de acordo com a morfologia da colônia, uma cepa psicrotrófica. Esse fato justifica o rápido crescimento de *B. cereus* em purê de batata, nesta pesquisa, pois o pH de 5,78 favoreceu o seu crescimento, independente da temperatura estudada.

Ao observar os parâmetros da Tabela 1, é possível verificar que a temperatura é um fator importante no crescimento dos micro-organismos, com um aumento da velocidade específica máxima de crescimento e, conseqüentemente, diminuição do tempo da fase *lag*. Foi possível observar que os valores do parâmetro *t*_{lag} diminuíram com o aumento da temperatura, com valores variando entre 8,32 h e 188,86 h. O contrário ocorreu com a velocidade de crescimento, em que foi possível observar um aumento em temperaturas mais elevadas, variando de $0,03 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ a $0,42 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ nas temperaturas de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ a $19,7 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Assim, destaca-se a importância de manter toda a cadeia do frio, com a finalidade de

umentar o tempo da fase *lag* e de retardar ao máximo a fase exponencial de crescimento, evitando atingir valores críticos de patogenicidade.

Os valores da população máxima atingida variaram entre 6,58 e 7,61 \log_{10} UFC/g, indicando o ótimo crescimento de *B. cereus* em purê de batata. Em estudo relatado por Schmid *et al.* (2016), um surto massivo de *B. cereus* enterotoxigênicos ocorreu em um hotel em 2013, na Áustria Ocidental, onde 44% entre os 32 hóspedes que estavam envolvidos apresentaram os sintomas de vômitos e diarreia entre 1,5 e 24 horas após o consumo de pratos de purê de batata com contagens de *B. cereus* de 5 \log_{10} UFC/g. Segundo os autores, as inadequações na limpeza e na desinfecção das superfícies de contato com alimentos, juntamente com o abuso da temperatura de armazenamento, provavelmente, permitiram a multiplicação do patógeno em purê de batata.

Os valores elevados da contagem de *B. cereus*, apresentados neste estudo, podem indicar a presença de toxinas no alimento. Estudos reportaram que a toxina emética pode ser produzida por cepas de *B. cereus* nas quais as contagens de células vegetativas sejam de, pelo menos, 5 \log_{10} UFC/g, enquanto as enterotoxinas, que causam a síndrome diarreica, são geralmente produzidas por *B. cereus* em contagens de 6 \log_{10} UFC/g ou superiores (VALERO; FERNÁNDEZ; SALMERÓN, 2003; FSAI, 2016). Além disso, seus esporos são resistentes ao calor e podem suportar tratamentos térmicos suaves (SAMAPUNDO *et al.*, 2011).

Ao avaliar os índices estatísticos do desempenho do modelo de Baranyi e Roberts obtidos pelo *software MicroRisk Lab* (Tabela 2), pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas cinco temperaturas avaliadas. Em estatística, os índices AIC, AICc e BIC são mais frequentemente usados para seleção de modelos. Ao calcular e comparar os valores desses índices de diferentes modelos, é possível indicar aquele que melhor se ajusta aos dados experimentais. Neste trabalho, apenas o modelo de Baranyi e Roberts foi utilizado, assim, apenas os valores de RSS, MSE, RMSE e R^2 foram comparados para o desempenho do modelo nas diferentes temperaturas estudadas.

Os valores de R^2 foram $\geq 0,99$ para todas as curvas de crescimento e valores de MSE e RMSE foram próximos de zero. Embora todos esses índices demonstrem o bom ajuste do modelo, os valores de RSS, MSE e RMSE foram ligeiramente maiores para a curva de crescimento de *B. cereus* a 15,1 °C, indicando um menor desempenho em relação às outras temperaturas.

Tabela 2. Índices estatísticos de desempenho do modelo de modelo de Baranyi e Roberts ajustado aos dados experimentais de *B. cereus* em purê de batata armazenado a 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C.

Temperatura (°C)	Índices estatísticos						
	RSS	MSE	RMSE	AIC	AICc	BIC	R ²
4	1,93	0,14	0,37	18,87	13,94	22,43	0,990
7	1,09	0,14	0,37	13,32	11,03	15,26	0,993
10,6	1,39	0,10	0,32	13,00	8,08	16,57	0,995
15,1	2,28	0,21	0,46	22,32	18,32	25,15	0,990
19,7	0,84	0,11	0,32	10,20	7,91	12,14	0,997

*Resultado não mostrado no *MicroRisk Lab*.

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

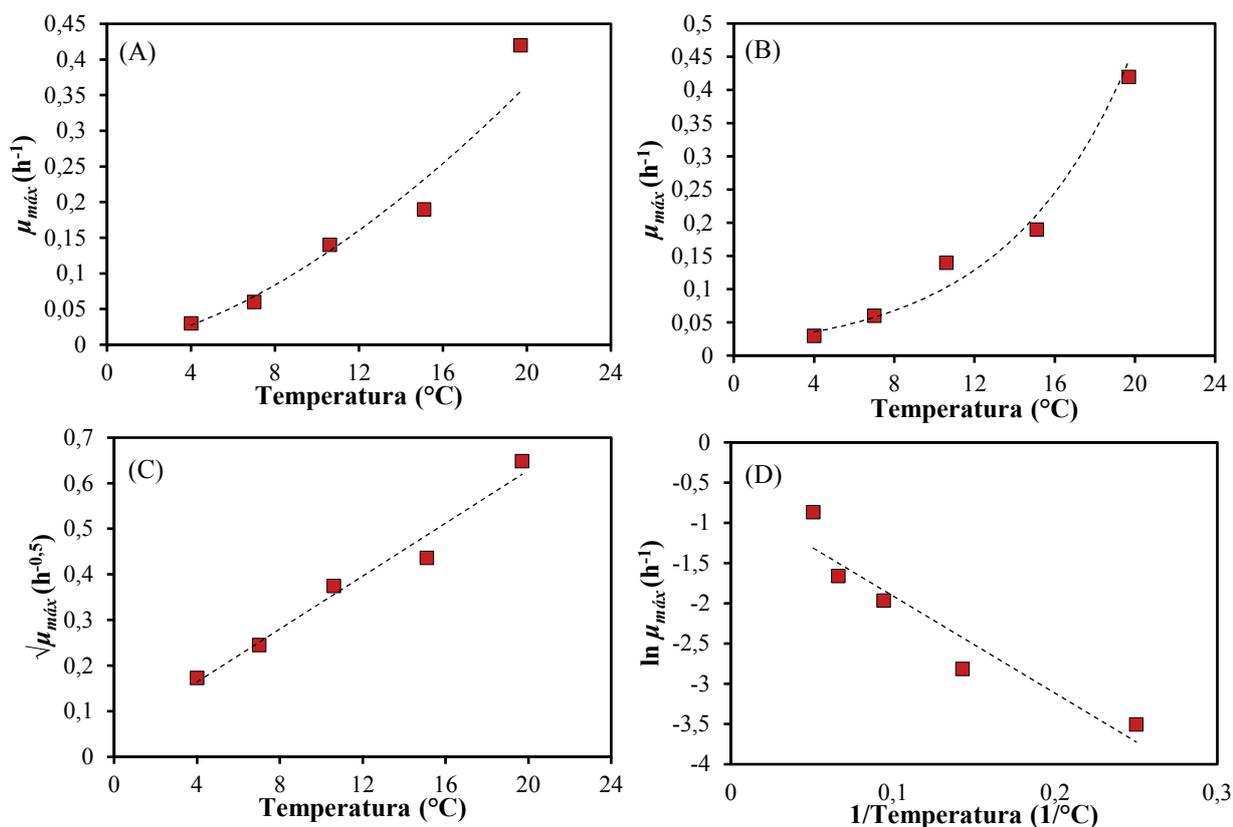
De acordo com os resultados publicados por Guinebretière *et al.* (2003), as contagens de *B. cereus* atingiram $4,6 \pm 1,9 \log_{10}$ UFC/g em purês armazenados a 10 °C por 21 dias, superior ao limite recomendado pelos padrões microbiológicos de vários países, incluindo o Brasil. Os autores verificaram que, em purês mantidos a 4 °C não apresentaram crescimento significativo de *B. cereus*. No entanto, os autores não indicaram os valores de pH dos purês, que podem influenciar no crescimento de *B. cereus*, conforme já explicado neste trabalho. Dessa forma, dependendo o pH do alimento, destaca-se a importância que a refrigeração seja mantida adequadamente em toda a cadeia de frio (câmara fria da planta de processamento, transporte, distribuição e refrigeradores domésticos). De acordo com Choma *et al.* (2000), as flutuações de armazenamento antes do consumo do produto, ocorrendo mais frequentemente durante a distribuição do produto ou na geladeira dos consumidores, podem induzir o crescimento de *B. cereus*, pois algumas cepas de purês de vegetais pasteurizados foram capazes de crescer em temperaturas abaixo de 10 °C.

Os resultados dos ajustes obtidos neste trabalho corroboram com o estudo realizado por Valero, Fernández e Salmerón (2003), ao estudar a influência do pH e da temperatura no crescimento de *B. cereus* em substratos vegetais, reportaram o bom ajuste do modelo primário de Baranyi e Roberts, com valores de R² variando entre 0,984 e 0,998 para o crescimento de *B. cereus* em purê de cenoura (pH 5,5) para todas as condições de temperatura, enquanto em caldo de abobrinha natural (pH 6,5) os valores de R² variaram entre 0,987 e 0,999, valores esses próximos aos relatados neste estudo.

Os modelos secundários que melhor se ajustaram aos dados do parâmetro $\mu_{\text{máx}}$ obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts para os dados de crescimento de *B. cereus* em purê de batata são apresentados na Figura 2 e as equações dos modelos com seus parâmetros ajustados são apresentadas na Tabela 3.

Ao analisar a Figura 3, é possível verificar de forma qualitativa que os modelos apresentaram bons ajustes aos dados experimentais, sendo que os modelos secundários apresentados na Tabela 3 podem ser usados para prever a velocidade específica máxima de crescimento de *B. cereus* nas condições estudadas e em condições que não extrapolem a temperatura no intervalo entre 4 °C e 19,7 °C.

Figura 2. Modelos secundários que representam o efeito da temperatura no parâmetro velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *Bacillus cereus* em purê de batata. (A) modelo da potência, (B) modelo exponencial, (C) modelo da raiz quadrada e (D) modelo do tipo Arrhenius.



Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os modelos exponencial, raiz quadrada e potência apresentaram valores de R^2 acima de 0,95, com maior destaque para o modelo exponencial ($R^2 = 0,983$) e Raiz quadrada ($R^2 = 0,972$). Os valores de R^2 próximos a 1,0 são considerados como um ajuste satisfatório (ROSS, 1996). O modelo do Tipo Arrhenius que apresentou um menor desempenho, com um valor de R^2 igual a 0,896.

Tabela 3. Equações dos modelos secundários que representam a influência da temperatura do no parâmetro velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *Bacillus cereus*.

Modelos	Equação	R^2
Potência	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,003 \times T^{(1,6033)}$	0,952
Exponencial	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,0188 \times e^{0,1606 \times T}$	0,983
Raiz quadrada	$\sqrt{\mu_{m\acute{a}x}} = 0,029 (T + 1,67)$	0,972
Tipo Arrhenius	$\ln \mu_{m\acute{a}x} = -12,083 \times (1/T) - 0,7028$	0,896

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os modelos secundários juntamente com os modelos primários podemos ser utilizados para prever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata na faixa de temperatura estudada. Para isso, um modelo preditivo precisa ser validado, a partir de simulações do crescimento desse micro-organismos em condições de flutuação de temperatura de armazenamento.

Assim, a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização pode auxiliar na identificação de patógenos contaminantes de alimentos em diferentes condições de armazenamento, sem a necessidade de realização de vários experimentos para determinar a qualidade e a segurança do produto. Além disso, os modelos podem ser utilizados para a tomada de decisão nas indústrias de vegetais, como verificar a eficiência de diferentes valores de pH na conservação dos alimentos, o desenvolvimento de novas formulações de alimentos, novas embalagens para o aumento da vida útil de alimentos, entre outras aplicações.

■ CONCLUSÃO

O modelo primário de Baranyi e Roberts apresentou bom desempenho para descrever o crescimento da *B. cereus* em purê de batata, com a estimativa dos parâmetros de crescimento. Além disso, os modelos secundários descreveram bem a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento de *B. cereus*, com destaque para os modelos Exponencial e Raiz quadrada. Assim, pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização podem ser usados para orientar os proprietários de restaurantes, estabelecimentos e indústria de produtos vegetais, para preparar e armazenar adequadamente o purê de batata, e outros produtos relacionados, para evitar o crescimento de *B. cereus*.

■ REFERÊNCIAS

1. AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v. 19, p. 716–723, 1974.
2. AUGUSTIN, J. -C. Challenges in risk assessment and predictive microbiology of foodborne spore-forming bacteria. **Food Microbiology**, v. 28, p. 209–213, 2011.
3. BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 277-294, 1994.
4. BARANYI, J.; SILVA, N. B. The use of predictive models to optimize risk of decisions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 240, p. 19–23, 2017.
5. BRASIL. Instrução Normativa nº. 60, de 23 de dezembro de 2019. A Diretoria Colegiada da ANVISA/MS estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. 2019.
6. BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Model Selection and Multimodel Inference. **Springer Science & Business Media**, 2003.
7. CARLIN, F. et al. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purées. **Food Microbiology**, v. 17, p. 153-165, 2000.

8. CHOMA, C. et al. Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, p. 17-25, 2000.
9. DOAN, C. H.; DAVIDSON, P. M. Microbiology of potatoes and potato products: a review. **Journal of Food Protection**, v. 63, p. 668–683, 2000.
10. DRAPER, N. R.; SMITH, H. Applied regression analysis. **John Wiley & Sons**, 1998.
11. FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND (FSAI). Microbial Fact Sheet Series, *Bacillus cereus*, Issue No. 2 Food Safety Authority of Ireland, Abbey Court, Lower Abbey Street, Dublin 1 (2016). (Disponível online) <https://www.fsai.ie/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=10919>.
12. GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; VAN IMPE, J. F. GlnaFIT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, p. 95–105, 2005.
13. GONZÁLEZ, S. C. et al. “MicroHibro”: A software tool for predictive microbiology and microbial risk assessment in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 226–236, 2018.
14. GUINEBRETIERE, M. H. et al. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini purée processing line. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 223-232, 2003.
15. GUINEBRETIERE, M. H. et al. Identification of bacteria in pasteurized zucchini purées stored at different temperatures and comparison with those found in other pasteurized vegetable purées. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 20-30, 2001.
16. HEINI, N. et al. Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 283, p. 59-64, 2018.
17. KIM, J. B. et al. Toxin genes profiles and toxin production ability of *Bacillus cereus* isolated from clinical and food samples. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 25-29, 2011.
18. KING, N. J.; WHYTE, R.; HUDSON, J. A. Presence and significance of *Bacillus cereus* in dehydrated potato products. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 514-520, 2007.
19. LIU, Y. et al. Microrisk Lab: An Online Freeware for Predictive Microbiology. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 18, p. 607-615, 2021.
20. MCKELLAR, R.; LU, X.; RATKOWSKY, D. A. Model fitting and uncertainty. In: R. McKellar, & X. Lu (Eds.), **Modeling Microbial Responses in Foods** (p. 151–196). Boca Raton: CRC Press., 2003.
21. OSIMANI, A.; AQUILANTI, L.; CLEMENTI, F. *Bacillus cereus* foodborne outbreaks in mass catering. **International Journal of Hospitality Management**, v. 72, p. 145-153, 2018.
22. PARK, Y. B. et al. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 612–617, 2009.
23. PELEG, M.; CORRADINI, M. G. Microbial growth curves: What the models tell us and what they cannot. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 917–945, 2011.

24. RAJKOVIC, A. et al. Prevalence and characterisation of *Bacillus cereus* in vacuum packed potato puree. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, p. 878-884, 2006.
25. RAWLINGS, J. O.; PANTULA, S. G.; DICKEY, D. A. Chapter 7: Model development variable selection. In: Applied regression analysis: a research tool (pp.205-234). **Springer Science & Business Media**, p. 205-234, 2001.
26. ROSENQUIST, H. et al. Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food. **FEMS Microbiology Letters**, v. 250, p. 129-136, 2005.
27. ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. **Journal Applied Bacteriology**, v. 81, p. 501–508, 1996.
28. ROSS, T.; McMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 241–264, 1994.
29. SAMAPUNDO, S. et al. The influence of headspace and dissolved oxygen level on growth and haemolytic BL enterotoxin production of a psychrotolerant *Bacillus weihenstephanensis* isolate on potato based ready-to-eat food products. **Food Microbiology**, v. 28, p. 298-304, 2011.
30. SCHLEI, K. P. et al. Microbiologia prediva: aspectos gerais e tendências. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 52-68, 2018.
31. SCHMID, D. et al. Elucidation of enterotoxigenic *Bacillus cereus* outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013. **International Journal of Food Microbiology**, v. 232, p. 80-86, 2016.
32. SCHWARZ, G. Estimating the dimension of a model. **The Annals of Statistics**, v. 6, p. 461–464, 1978.
33. TAKENO, A. et al. Complete genome sequence of *Bacillus cereus* NC7401, which produces high levels of the emetic toxin cereulide. **Journal of Bacteriology**, v. 194, p. 4767–4768, 2012.
34. TENENHAUS-AZIZA, F.; ELLOUZE, M. Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair. **Food Microbiology**, v. 45, p. 290–299, 2015.
35. THOMAS, L. V. et al. Effective use of nisin to control *Bacillus* and *Clostridium* spoilage of a pasteurized mashed potato product. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1580–1585, 2002.
36. VALERO, M.; FERNÁNDEZ, P. S.; SALMERÓN, M. C. Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 71-79, 2003.
37. WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models in predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 10, p. 175–177, 1993.

Implementação de ferramentas da qualidade na produção de requeijão cremoso: um relato de caso

| **Raquel Bordignon**
IFC

| **Thainá Sabrina Haefliger Goldoni**
IFC

| **Maria Eduarda Peretti**
IFC

| **Mirian Cristina Feiten**
UEM

RESUMO

As ações e atividades para garantir a qualidade de um alimento exigem o comprometimento de todas as pessoas envolvidas no processo produtivo e devem ser monitoradas por integrantes do departamento de qualidade, para assegurar o cumprimento de normas e a realização de registros periódicos. Assim, neste relato de caso a utilização de ferramentas no controle de qualidade de uma indústria de processamento de requeijão cremoso é ilustrada, com apresentação e descrição do fluxograma de processo, definição dos pontos de controle e dos pontos críticos de controle, elaboração de cartas de controle, Procedimento Padrão de Higiene Operacional e Procedimentos Operacionais Padrão para treinamento, registro e monitoramento. Por descreverem detalhadamente roteiros de todas as etapas na execução de uma atividade, as ferramentas desenvolvidas apresentaram-se como alicerce fundamental na garantia da padronização das tarefas, fornecendo medidas para contornar os possíveis problemas que a indústria possa encontrar diariamente, buscando um produto com menor variabilidade, garantindo sua qualidade, padronização e conformidade.

Palavras-chave: BPF, PCs, PCCs, POP, PPHO.

■ INTRODUÇÃO

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são um conjunto de normas empregadas em produtos, processos e serviços, visando a promoção e a certificação da qualidade e segurança do alimento; constituem pré-requisitos para o sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e formam parte da base da Gestão da Segurança e qualidade de uma empresa de alimentos (SENAI, 2002; TOMICH *et al.*, 2005). São um conjunto de procedimentos higiênico-sanitários instituídos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) do Ministério da Saúde, órgão que fiscaliza e regula as atividades realizadas nesses tipos de estabelecimentos, através das visas estaduais e municipais (BRASIL, 2004; 2015). Em todas as etapas de comercialização (recebimento, armazenamento, manipulação e exposição à venda) é importante que haja o controle, para não permitir que os produtos fiquem expostos a agentes capazes de provocar deterioração e/ou causar danos à saúde do consumidor.

Neste sentido, o manipulador pode ser fonte de micro-organismos e de outros perigos para os alimentos. Assim, deve-se dar especial atenção às Boas Práticas de Higiene Pessoal e de Comportamento (SENAI, 2002; SENAC, 2004). Devem ser obedecidos os avisos afixados que indicam a obrigatoriedade da correta lavagem das mãos e sua frequência, com agentes de limpeza autorizados e com água corrente potável, no início do trabalho, imediatamente após o uso do sanitário, após o contato com material contaminado e todas as vezes que for necessário. Um Procedimento Operacional Padrão (POP) pode ser confeccionado para auxiliar no passo-a-passo da higienização correta das mãos. A utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), tais como máscara, jaleco, luva, touca e sapato fechado, ajudam a evitar contaminação do alimento pelo manipulador e o protege de perigos eventuais na área de processamento.

Na área de produção e manipulação, os alimentos devem ser protegidos de contaminações químicas, físicas e microbiológicas. É fundamental a elaboração de manuais de operações, como os POPs, ou instrução de serviço para todas as etapas de processo (SILVA; CORREIA, 2011).

Os procedimentos de limpeza e sanitização da fábrica, dos equipamentos e utensílios devem estar descritos em manuais específicos e feitos com agentes de limpeza em suas devidas concentrações e diluições. Estes manuais são o Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e os POPs, que constituem a base higiênico - sanitária necessária para a adequada implantação do Sistema APPCC (MACHADO, 2015; FEITEN, 2021). A empresa deve estabelecer um cronograma, os métodos e a frequência de limpeza. Essa operação deve ser monitorada e controlada por responsável técnico, e o pessoal que realiza esse trabalho deve ser treinado nos procedimentos instituídos. Os detergentes e sanitizantes devem ser armazenados em local específico e identificados fora da área de processamento

(SILVA; CORREIA, 2011). A água utilizada deve ser tratada e, caso não seja possível, é crucial a utilização de água filtrada, fervida ou mineral (SENAC, 2004; TOMICH *et al.*, 2005).

Os treinamentos envolvem atividades com o objetivo de instruir, treinar e capacitar os profissionais que trabalham no preparo de alimentos, por meio de mecanismos que transmitam conceitos importantes sobre as técnicas operacionais e de informações sobre o controle higiênico-sanitário. Esses treinamentos devem ser revisados, reforçados e atualizados, sempre que for necessário (SILVA; CORREIA, 2011).

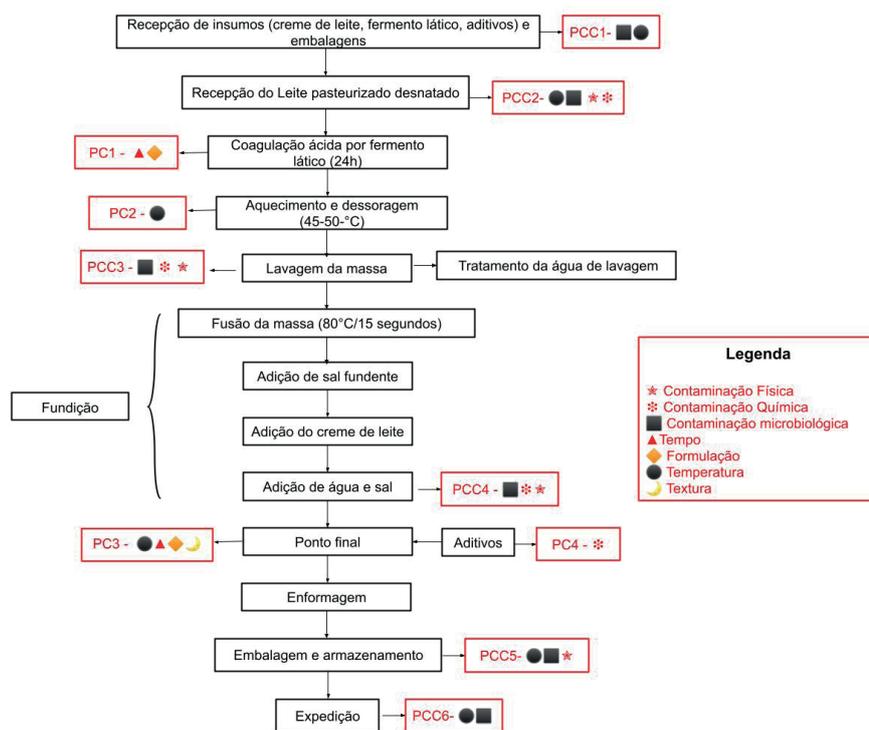
Assim, o objetivo deste relato de caso é descrever a utilização de ferramentas da qualidade em uma indústria de processamento de requeijão cremoso, com apresentação e descrição do fluxograma de processo, identificação dos pontos de controle (PCs) e pontos críticos de controle (PCCs), confecção das cartas de controle, PPHO e POPs desenvolvidos para treinamento, registro e monitoramento.

■ RELATO DE CASO

Fluxograma de processo

A indústria de processamento de requeijão cremoso, aqui denominada *Creamy*, está localizada na região oeste de Santa Catarina e, na Figura 1, pode-se verificar o fluxograma com as etapas de sua fabricação, destacando os PCCs e PCs do processo.

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração de requeijão cremoso identificando os PCs e PCCs.



Fonte: Elaborada pelas autoras (2022).

De acordo com a Instrução Normativa nº 359, de 4 de setembro de 1997 do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento):

Entende-se por Requeijão o produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil*. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias. A denominação Requeijão está reservado ao produto no qual a base láctea não contenha gordura e/ou proteína de origem não láctea (BRASIL, 1997).

Além disso, o requeijão pode ser classificado de acordo com a matéria-prima empregada no processo de elaboração em:

- **Requeijão:** Obtido pela fusão da massa de coalhada dessorada e lavada obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite com ou sem adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil*.
- **Requeijão Cremoso:** Obtido pela fusão de massa coalhada dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite, com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite e/ou *butter oil*.
- **Requeijão de Manteiga:** Obtido pela fusão prolongada com agitação de uma mistura de manteiga e massa de coalhada de leite integral, semi-desnatado ou desnatado.

São ingredientes obrigatórios:

- **Requeijão:** Leite ou leite reconstituído;
- **Requeijão Cremoso:** leite ou leite reconstituído, creme e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil*;
- **Requeijão de Manteiga:** leite ou leite reconstituído, manteiga, cloreto de sódio.
- Como ingredientes opcionais têm-se coalho ou coagulantes apropriados, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou *butter oil*, sólido de origem láctea, leite em pó, caseína, caseinatos, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, fermentos lácteos ou cultivos específicos, condimentos, especiarias, outras substâncias alimentícias.

Os requisitos sensoriais determinados são: consistência (untável ou fatiável); textura (cremosa, fina, lisa ou compacta); formato (variável); cor (característica); odor (característico); sabor (levemente ácido, opcionalmente salgado para requeijão ou requeijão cremoso; levemente ácido, salgado a ranço para requeijão de manteiga).

As análises microbiológicas para requeijão estão descritas na Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019) e podem ser verificadas no Quadro 1.

Quadro 1. Micro-organismos e limites indicados para requeijão.

Grupo de alimentos	Micro-organismo/Toxina/ Metabólito	n	c	m	M
Produtos lácteos processados fundidos, incluindo requeijão e misturas lácteas pastosas.	Enterotoxinas estafilocócicas (ng/g)	5	0	Aus	-
	Estafilococos coagulase positiva/g	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	< 3	10

Fonte: Brasil (2019).

A seguir, são descritas as etapas do processo de fabricação do requeijão cremoso (Figura 1):

- **Coagulação:** o leite desnatado deve ser deixado coagular naturalmente ou então pode-se adicionar 2% de fermento láctico mesofílico por um dia (não usar o coalho). No dia posterior, deve-se realizar a dessoragem.
- **Dessoragem:** A coalhada é aquecida a 45 – 50 °C. Durante o aquecimento, a massa separa-se completamente do soro. Atingida a temperatura ideal e com a separação total da massa, coa-se a coalhada em saco de pano alvejado devidamente limpo ou de tecido similar.
- **Primeira lavagem da massa:** realizada com a finalidade de reduzir a sua acidez. A massa obtida deve ser esfarelada no fundo do tacho. Em seguida, acrescenta-se 20% de leite desnatado fresco. A massa deve ser aquecida novamente a 45 - 50 °C. Com o aumento da temperatura, o leite coagula, formando duas fases distintas novamente: a massa e o soro. Em seguida, a massa é retirada, então faz-se ligeira compressão com as mãos, esfarelando-a novamente e procede-se à segunda lavagem.
- **Segunda lavagem da massa:** é realizada, também, com a finalidade de diminuir a acidez (uma massa muito ácida não é capaz de fundir-se). Para realizar tal operação, deve-se usar 8% de leite desnatado fresco. Essa quantidade pode ser minimizada se a coalhada apresentar pouca acidez. A lavagem da massa é feita seguindo a mesma metodologia da etapa anterior.
- **Fundição:** quando a massa estiver isenta da sua acidez e enxuta, deve ser colocada no tacho bem limpo, em aquecimento brando e contínuo até a fundição, sempre mexendo. O ponto de fundição é constatado quando a massa fica fina, com características próprias, aderindo ao fundo do tacho e acompanhando a pá. Coloca-se metade do creme a ser usado e algumas gotas de corante. Logo após, adiciona-se o resto do creme e o sal. Agita-se até obter o ponto, isto é, quando a

massa adere ao tacho, fica brilhante e bem elástica. Em seguida, é colocada em formas apropriadas, adquirindo o formato específico.

- **Embalagem e comercialização:** pode-se utilizar embalagens variadas (termoencolhível, sacola plástica, papel-celofane, papel impermeável, copos, potes plásticos, etc.). Deve ser mantido em câmaras frias (10 °C) até a comercialização (MONTEIRO; PIRES; ARAÚJO, 2011).

■ DISCUSSÃO

Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) na produção do requeijão cremoso

A APPCC é um sistema de gestão de segurança alimentar, com o objetivo de assegurar a sanidade, qualidade e integridade dos alimentos. Este, se baseia na análise das diversas etapas da produção de alimentos, desde a obtenção da matéria-prima e processamento na indústria, até a comercialização nos pontos de distribuição (atacado) e venda (varejo), analisando os perigos (físicos, químicos e microbiológicos) potenciais à saúde dos consumidores, determinando medidas preventivas de controle (SENAI, 2002; SILVEIRA; DUTRA, 2012). A seguir, são identificados os PCs e PCCs do fluxograma de processo de fabricação de requeijão cremoso na *Creamy*.

PCC1 - Na recepção dos insumos (creme de leite, fermento láctico, aditivos) e embalagens, há perigo de contaminação microbiológica, que pode ser gerada pelas condições de armazenamento, manuseio, transporte e recepção, além do próprio processamento de elaboração das mesmas. Acrescenta-se também que a produção de requeijão conta apenas com aquecimento brando de 45 a 50 °C na etapa intitulada de aquecimento e dessoragem e na lavagem da massa à 80 °C por 15 segundos na fusão, sendo assim, muitos micro-organismos e toxinas podem não ser eliminados ou inibidos, o que pode causar prejuízo à qualidade do produto. Dessa forma, se for identificada contaminação microbiológica, os insumos e embalagens devem ser rejeitados para assegurar uma boa qualidade do produto e não trazer riscos ao laticínio com a entrada de um insumo ou embalagem contaminada na indústria. As análises indicadas para os insumos (à exceção do creme de leite) e embalagens no quesito microbiológico são Enterotoxinas estafilocócicas (ng/g), Estafilococos coagulase positiva/g e *Escherichia coli*/g indicadas pela IN nº 60 de 23 de dezembro de 2019 (Quadro 1) para requeijão, que é o produto que será acondicionado nas embalagens e onde serão adicionados os insumos. Além disso, coloca-se em evidência que na recepção do creme de leite, por se tratar de um produto perecível, deve-se ter controle da temperatura, pois de acordo com a Instrução Normativa nº 146 de 07 de março de 1996 (BRASIL, 1996), o

creme de leite deve ser conservado em câmara fria à temperatura igual ou inferior a 5 °C, com o objetivo de manter suas características, exceto os cremes esterilizados e UHT que podem ser conservados à temperatura ambiente. O creme de leite deverá ser analisado quanto à *Salmonella*/25g, Estafilococos coagulase positiva/g, *Escherichia coli*/g e Bolores e Leveduras/g (BRASIL, 2019).

PCC2 - Na recepção do leite pasteurizado e desnatado deve haver controle crítico de temperatura ao receber a matéria-prima, além de verificar o histórico/registo da temperatura durante o transporte do leite e após este ser processado (pasteurizado) na indústria primária. Coloca-se em evidência que o leite deve ser transportado em veículo isotérmico com unidade frigorífica operante e que também deve haver controle de temperatura após a pasteurização (4 °C); na estocagem em câmara frigorífica e expedição (4 °C); e na entrega ao consumo (7 °C), de acordo com a Instrução Normativa nº 76, de 26 de Novembro de 2018 do MAPA (BRASIL, 2018). Um outro parâmetro para ser levado em consideração na recepção do leite é a acidez, pois segundo esta mesma Instrução Normativa nº 76, a acidez deve ser de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100 mL, sendo que acidez acima dos valores prescritos pela normativa pode indicar deterioração do leite, o tornando um possível veículo de contaminação que pode causar intoxicação alimentar ou outras DTAs (doenças transmitidas por alimentos), além de gerar um produto de baixa qualidade. Agrega-se que há também perigo de contaminação microbiológica pelas condições de armazenamento principalmente relacionado à temperatura, ao manuseio, transporte e à recepção. Analogamente ao creme de leite, pelo fato da produção de requeijão contar apenas com um aquecimento brando de 45 a 50 °C na etapa intitulada de aquecimento e dessoragem e na lavagem da massa à 80 °C/15 segundos na fusão, muitos micro-organismos e toxinas podem não ser removidos e, dessa forma, prejudicar a qualidade do produto. A análise microbiológica obrigatória para leite pasteurizado descrita na IN nº 60 de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019) é Enterobacteriaceae/mL. Acrescenta-se também que o leite pasteurizado pode ter contaminação química onde, de acordo com a Normativa nº 76, de 26 de Novembro de 2018 (BRASIL, 2018), este não deve apresentar substâncias estranhas à sua composição, tais como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade ou do índice crioscópico. Além disso, não deve apresentar resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes acima dos limites máximos previstos em normas complementares e não é permitida a utilização de aditivos e coadjuvantes de tecnologia. Nesta etapa pode haver também risco de contaminação física que pode ter tido origem principalmente durante o acondicionamento em embalagens na indústria primária onde o leite foi processado, no transporte ou na recepção. Dessa forma, o leite deve passar por uma filtração com o objetivo de reter materiais indesejáveis ou passar por um detector de metal. E por fim, verifica-se que se for

identificado qualquer um dos itens supracitados, o leite deve ser rejeitado para assegurar uma boa qualidade do produto e não trazer riscos ao consumidor e à própria indústria.

PCC3 e PCC4 - Na lavagem da massa e na adição de água ao produto durante o processamento pode haver riscos relacionados à contaminação microbiológica, química e/ou física através da água utilizada. Portanto, esta deve ser tratada e estar adequada para o uso, pois podem haver riscos relacionados. Para a água, as análises microbiológicas indicadas pela RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005 são de *Escherichia coli* ou Coliformes (fecais) termotolerantes, em 100 mL, Coliformes totais, em 100 mL, Enterococos, em 100 mL, *Pseudomonas aeruginosa*, em 100 mL e Clostrídios sulfito redutores ou *Clostridium perfringens*, em 100 mL (BRASIL, 2005). Além disso, é imprescindível realizar medição de turbidez, pH, cor e de cloro residual livre ou de outro composto residual ativo, caso o agente desinfetante utilizado não seja o cloro, de acordo com a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011). É importante também realizar a passagem da água a ser utilizada por um processo de detecção de metais ou por uma filtração, com o objetivo de identificar a presença de materiais indesejáveis, que podem gerar riscos à saúde do homem. Esta contaminação física, pode ser gerada pelo desprendimento de objetos metálicos, borrachas, entre outros durante o armazenamento, manuseio e transporte pelas tubulações.

PCC5 - No armazenamento do requeijão há riscos relacionados com a temperatura, pois deve-se mantê-la inferior a 10 °C durante o período de conservação e comercialização segundo a Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997 do MAPA (BRASIL, 1997). Em uma temperatura superior a 10 °C, pode ocorrer uma deterioração acelerada, o que gerará mudanças sensoriais indesejáveis ao produto. Agregado a isso, sabe-se também que pode haver contaminação microbiológica durante a embalagem, armazenamento ou o processamento, se o produto entrar em contato com algum material/equipamento que esteja contaminado ou mal higienizado, pelo manuseio ou pelo não cumprimento da temperatura supracitada de armazenamento, o que pode favorecer e acelerar o crescimento microbiano. Dessa forma, neste ponto é imprescindível a análise microbiológica do produto, tanto após a embalagem quanto durante a vida de prateleira a qual é estimada, no que se refere a Enterotoxinas estafilocócicas (ng/g), Estafilococos coagulase positiva/g e *Escherichia coli*/g indicadas pela IN nº 60 de 23 de dezembro de 2019. Além disso, é importante ressaltar que podem haver riscos relacionados à contaminação física, gerada principalmente durante a embalagem do produto, pelo contato com máquinas, esteiras e equipamentos que possuam, por exemplo, parafusos, borrachas, arruelas, porcas, entre outros, que podem ser desprendidos durante o processamento e entrar em contato com o produto. Assim sendo, é necessária a realização de uma detecção de metais após a embalagem do produto por

meio de um detector calibrado com corpo de prova para evitar riscos à saúde humana ao ingerir tal produto.

PCC6 - Na etapa de expedição, os riscos estão relacionados à temperatura pois, durante a conservação e comercialização, o requeijão deve ser mantido à uma temperatura inferior a 10 ° C de acordo com a Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997 do MAPA (BRASIL, 1997), para assegurar a estabilidade e segurança do produto e, conseqüentemente, há possibilidade de contaminação microbiológica pelo não cumprimento do item supracitado.

PC1 - O tempo de fermentação juntamente com a concentração de fermento láctico adicionado na etapa de coagulação, influenciam na qualidade do produto, principalmente no requisito sensorial, onde o tempo de coagulação indicado é de até 24 horas e a concentração é de 2% de fermento láctico. Estes itens são importantes para eliminar a manutenção de culturas lácticas, proporcionar maior uniformidade na produção, bem como melhores características de conservação do produto.

PC2 - Na etapa de aquecimento e dessoragem, a temperatura é um ponto de controle pois esta deve ser de 45 – 50 °C para ocorrer a separação completa do soro, característica importante do produto, pois o requeijão é obtido pela fusão da massa de coalhada dessorada, ou seja sem a presença do soro.

PC3 - O produto obtido pela fusão deve ter fluidez suficiente para poder ser embalado convenientemente. É importante também que este mantenha suas características durante o armazenamento e ao longo de toda a cadeia de distribuição e comercialização. A textura do produto deve-se principalmente ao processo de fusão, onde o produto deve ser submetido a aquecimento mínimo de 80 °C durante 15 segundos ou qualquer outra combinação tempo/ temperatura equivalente segundo a Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997 do MAPA (BRASIL, 1997). Além disso, coloca-se em evidência que a concentração adicionada de sal e creme de leite influenciarão às características do produto, principalmente no que se refere aos requisitos sensoriais, o que é distinto e característico de cada indústria, pois se refere a formulação do produto.

PC4 - Há limites descritos pela Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997 do MAPA (BRASIL, 1997) a respeito do emprego de aditivos, como emulsificantes, conservantes, corantes, entre outros. Se houver extrapolação dos limites pode haver contaminação química, o que pode gerar danos à saúde do consumidor e alteração das características sensoriais do produto, porém o dever da empresa é controlar esse PC.

Dessa forma, verifica-se que a APPCC oferece ferramentas para minimizar os perigos de contaminação dos alimentos e, se estes forem cumpridos de maneira adequada, com a realização das medidas preventivas e os devidos cuidados durante o processamento por parte do manipulador e da indústria como um todo, o produto terá maior qualidade e proporcionará

uma maior segurança ao consumidor. Os registros são documentos específicos utilizados para protocolar dados dos PCs e PCCs, resultados e leituras específicas, de modo que, a qualquer desvio de padrões, possam ser tomadas ações corretivas.

Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) na produção de requeijão cremoso

Segundo Stolarski *et al.* (2015), os POPs são procedimentos escritos de forma objetiva que estabelecem instruções sequenciais para a realização de operações rotineiras e específicas na produção, armazenamento e transporte de alimentos. Assim, abaixo estão descritos os procedimentos operacionais padrão relacionados com os pontos críticos de controle da produção de requeijão.

Quadro 2. Procedimento Operacional Padrão – Coleta de amostras para análises microbiológicas e físico-químicas.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão COLETA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Descrever todos os procedimentos relacionados à coleta de amostras para posterior análise físico-química ou microbiológica.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Aplicado quando necessária a realização de análises	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Procedimento para coleta de amostras para análises microbiológicas e físico químicas		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar o recipiente coletor com o nome da amostra, data. 2. Colocar as luvas e borrifar álcool 70% nas mãos. 3. Abrir o recipiente coletor, rasgando o picote e puxando pelas abas laterais. 4. Usando o pegador do alimento (ou coletor estéril) pesar 5 g da amostra dentro do recipiente, tomando o cuidado para não encostar a amostra na borda do recipiente coletor. 5. Fechar o recipiente de coleta. 		

Quadro 3. Procedimento Operacional Padrão – Recepção dos insumos.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão RECEPÇÃO DOS INSUMOS	Data emissão:
		Revisão nº: 00
		Data:
	Cópia Controlada	Folha 1/1
Identificação		
Objetivo	Descrever todos os procedimentos relacionados à recepção dos insumos para controle da contaminação do produto.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Aplicado na recepção dos insumos utilizados na produção do requeijão.	
Base legal	IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996.	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Procedimentos de recepção dos insumos (creme de leite, fermento láctico, aditivos).		
Após a chegada do veículo de transporte com os insumos no local da recepção da empresa, deve-se:		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Conferir a nota fiscal que deve chegar sempre junto à mercadoria, e a quantidade recebida de insumos, bem como se atendem às especificações do fabricante; 2. A mercadoria deve ser descarregada em pallets; 3. Também são observadas as condições do veículo de transporte que não deve apresentar a menor evidência da presença de roedores, vazamentos, umidade, materiais estranhos e odores desagradáveis; 4. Confere-se a qualidade e rotulagem do produto, que deve informar a data de validade e fabricação, lote, número de registro no órgão oficial, endereço do fabricante e distribuidor e se está danificado fisicamente. Caso esteja deve-se proceder a devolução dos produtos; 5. Aferir a temperatura do veículo de transporte e da massa de creme de leite; 6. Caso tiver alguma avaria, é preenchida a planilha de controle de temperatura com a assinatura do responsável. A mercadoria não é aceita, e é devolvida; 7. Se estiver tudo correto, assina-se os canhotos, entrega-se ao funcionário da transportadora e repassa-se a nota fiscal para dar continuidade no processo; 8. Estocar as mercadorias em local adequado para cada produto recebido; 9. Todo o processo deve ser feito sem permitir contato do produto com o chão; 10. Registrar no sistema. 		

Quadro 4. Procedimento Operacional Padrão – Recepção de embalagens.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão RECEPÇÃO DE EMBALAGENS	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Estabelecer procedimentos a serem adotados para garantir e manter a segurança e a qualidade das embalagens utilizadas.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Utiliza-se na recepção das embalagens.	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Procedimentos de recepção das embalagens.		
Após a chegada do veículo de transporte com as embalagens no local da recepção da empresa, deve-se:		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Conferir a nota fiscal que deve chegar sempre junto à mercadoria, e verificar se a quantidade está conforme o pedido, se estes se encontram dentro dos padrões estipulados pela empresa, e se atendem às especificações do fabricante; 2. A mercadoria deve ser descarregada em pallets, sem entrar em contato com chão; 3. É válido ficar atento às condições do veículo de transporte que não deve apresentar a menor evidência da presença de roedores, vazamentos, umidade, materiais estranhos e odores desagradáveis; 4. Confere-se a qualidade do produto, se está danificado fisicamente. Caso esteja, deve-se efetuar a devolução do produto; 5. Realiza-se o teste de resistência mecânica, onde de 1000 produtos recebido, 50 devem ser testados, e apenas 5 podem não passar no teste. Caso um número maior que 5 não esteja em conformidade, efetua-se a devolução do material; 6. Para realização da análise microbiológica, no intuito de conferir se as embalagens estão esterilizadas adequadamente, deve selecionar arbitrariamente 10 embalagens a cada 1000, das quais nenhuma pode apresentar contaminação fora dos limites. Caso haja contaminação que ultrapasse os limites, todo o lote deve ser rejeitado; 7. Se estiver tudo correto, assina-se os canhotos, entrega-se ao funcionário da transportadora e repassa-se a nota fiscal para dar continuidade no processo; 8. Estocar as mercadorias em local adequado; 9. Registrar no sistema. 		

Quadro 5. Procedimento Operacional Padrão – Recepção do leite pasteurizado.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão RECEPÇÃO DO LEITE PASTEURIZADO E DESNATADO	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Descrever todos os procedimentos relacionados a recepção do leite pasteurizado e desnatado.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Aplicado na recepção do leite pasteurizado e desnatado.	
Base legal	Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019.	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Procedimentos de recepção do leite pasteurizado desnatado.		
Após a chegada do veículo de transporte no local da recepção da empresa, deve-se:		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Conferir a nota fiscal que deve chegar sempre junto; 2. Ao chegar à plataforma de recepção do laticínio, amostras de leite são coletadas diretamente no caminhão para análise físico-química e microbiológica; 3. Deve-se observar se o veículo de transporte se apresenta em boas condições; 4. Aferir a temperatura do veículo de transporte e do leite pasteurizado e desnatado na chegada; 5. Caso exista alguma avaria, são preenchidas as planilhas controle de temperatura de recepção do leite pasteurizado desnatado e de controle de temperatura do veículo de transporte com a assinatura do responsável, e efetua-se a devolução da carga; 6. O leite pasteurizado desnatado deve passar pela operação de filtração de modo a verificar a presença de materiais indesejados; 7. Caso haja algum destes materiais, é informado na planilha de controle de recepção e de contaminação física com a assinatura do responsável, de forma que carga não será aceita; 8. Se estiver tudo correto, assina-se os canhotos, entrega-se ao funcionário da transportadora e repassa-se a nota fiscal para dar continuidade no processo; 9. O leite é transferido para o tanque de resfriamento, no qual deve-se verificar se a temperatura programada está adequada para o recebimento do leite; 10. Registrar recebimento no sistema. 		

Quadro 6. Procedimento Operacional Padrão – Embalagem e armazenamento.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Descrever os procedimentos necessários para a embalagem e armazenamento adequado dos produtos.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Aplicado na área de embalagem e armazenamento dos produtos.	
Base legal	Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997. IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Procedimentos de embalagem e armazenamento.		
<p>Após o processamento do requeijão e obtenção do produto, deve-se prosseguir conforme as seguintes etapas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Passagem do produto pelo detector de metais. Caso haja a presença de algum metal, após o preenchimento da planilha, o lote é descartado e inicia-se a procura pelo maquinário que deu origem ao objeto; 2. Conferir o abastecimento de embalagens do maquinário de envase; 3. Conferir a data de fabricação, validade e lote da impressora; 4. O envase deve ser a quente e imediato após passar pelo detector de metais, realizado em recipientes tipo copo plástico termoresistente a temperatura de descarga do requeijão; 5. Fechamento das embalagens; 6. A cada 1000 unidades fabricadas, 20 devem ser selecionadas arbitrariamente para posterior análise. Se as especificações legais do produto estão sendo atendidas, segue-se para o armazenamento, caso contrário, deve-se descartar o lote, identificar a etapa falha do processo e rever o POP das operações de processamento, bem como investir em treinamentos para os colaboradores de forma a solucionar o problema; 7. Acomodar os produtos nas devidas embalagens secundárias; 8. Verificar as condições do local de armazenamento, o qual deve ser feito em pallets, local limpo organizado, ventilado, com temperatura controlada, sem receber luz solar direta, livre de entulhos ou materiais tóxicos, e de acordo com as características intrínseca do alimento e as recomendações do produto; 9. Encaminhá-las ao local de armazenamento sob refrigeração adequada (inferior a 10 °C). 		

Quadro 7. Procedimento Operacional Padrão – Expedição.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão EXPEDIÇÃO	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data: Folha 1/1
Identificação		
Objetivo	Descrever as etapas do processo de expedição.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Utilizado no setor de expedição dos produtos.	
Base legal	Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997.	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Expedição.		
<p>O gerenciamento de saída de estoque é feito segundo o método PEPS ou PVPS (Primeiro a Entrar Primeiro a Sair e Primeiro que Vence Primeiro que Sai, respectivamente). Deve seguir os seguintes passos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Inicialmente faz-se o processamento da requisição onde o responsável verificará no sistema de informação as requisições provenientes das unidades consumidoras, de acordo com cronograma pré-estabelecido; 2. A separação é quesito primordial para a distribuição dos produtos que deve suprir as necessidades das unidades e evitar desabastecimento. <ol style="list-style-type: none"> i. A separação dos produtos é realizada diariamente em ordem cronológica, a partir do documento de distribuição, e encaminhado pelo encarregado; ii. Separar os produtos em pallets ou carrinho; iii. Separar de forma organizada as embalagens secundárias; iv. Na separação, a fim de otimizar a conferência, organizar as caixas sobre os pallets ou carrinho de modo que as etiquetas dos lotes estejam sempre virados para fora; v. Verificar o lote adequado no momento da separação, todos os números ou letras que compõem o lote devem ser averiguados; vi. Caso ocorram divergências entre o lote selecionado no documento de distribuição, com os lotes armazenamento no depósito (lote/validade), comunicar a chefia de serviço imediatamente, para providências. É proibida a troca de lote; vii. Após a separação encaminhar o pallet ou carrinho para a conferência; viii. O separador deve assinar o documento. 3. Conferência de produtos. <ol style="list-style-type: none"> i. O Conferente deve conferir todos os produtos em expedição, verificando se o produto separado está com o lote e quantidade correta para a distribuição; 		

- ii. De forma organizada proceder a contagem física e verificação de lote, validade, marca e quantidade;
 - iii. Quando o produto separado possui divergências no que está descrito com o lote selecionado no documento de distribuição, após a conferência, fazer correção nos documentos;
 - iv. Verificar a temperatura do produto;
 - v. Etiquetar todas as caixas, com o destino;
 - vi. Colher a assinatura do motorista.
4. Os movimentos das mercadorias devem ser registrados no sistema interno da empresa para dispor da informação necessária para uma boa gestão de estoques;
 5. Observação: Pedidos extras devem ser separados com antecedência, passando pelo conferente mesmo que sejam poucos itens. Evitar jogar caixas, papel e bulas no corredor ou prateleiras;
 6. Verificar se os veículos empregados no transporte apresentam sistemas de refrigeração necessários para a manutenção adequada da temperatura;
 7. Deve-se assegurar um rápido carregamento, de forma que a temperatura seja mantida de acordo com a necessidade de cada produto;
 8. Em seguida, juntamente com uma nota fiscal emitida pela indústria, os produtos são transportados respeitando um roteiro previamente estabelecido para que se assegure a segurança do produto.

Quadro 8. Procedimento Operacional Padrão – Controle da potabilidade da água.

	Creamy	Código do documento:
	POP - Procedimento Operacional Padrão CONTROLE DA POTABILIDADE DA ÁGUA	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão nº: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Estabelecer procedimentos a serem adotados para manter a qualidade da água utilizada na produção de requeijão.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Potabilidade da água utilizada no processamento do produto.	
Base legal	RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011.	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Controle da qualidade da água.		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Executar a limpeza do reservatório de água e registrar (POP 6); 2. Coletar as amostras de água; 3. Encaminhar as amostras para análise. Caso a água não se adeque às leis vigentes, deve-se revisar os POPs de coleta de água e limpeza dos reservatórios. Se o problema persistir, deve-se entrar em contato com o fornecedor. Quando a água estiver dentro dos limites vigentes da legislação, procede-se o próximo item. 4. Realizar o processo de filtração da água para eliminação de interferentes físicos. 		

Quadro 9. Procedimento Padrão de Higiene Operacional –Higienização das mãos.

	Creamy	Código do documento:
	PPHO - Procedimento Padrão de Higiene Operacional HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS	Data emissão:
	Cópia Controlada	Revisão n°: 00 Data:
Folha 1/1		
Identificação		
Objetivo	Descrever os procedimentos corretos para lavagem das mãos de forma a evitar e prevenir a contaminação de alimentos por proliferação de micro-organismos, ou contato com suor, oleosidade da pele e células mortas.	
Responsável pela elaboração	COLABORADOR	
Campo da aplicação	Manipulação de alimentos.	
Definições	<p>Higienização: operação que se divide em duas etapas, limpeza e desinfecção.</p> <p>Limpeza: operação de remoção de substâncias minerais e ou orgânicas indesejáveis, tais como terra, poeira, gordura e outras sujidades.</p> <p>Desinfecção: operação de redução, por método físico e ou agente químico, do número de micro-organismos em nível que não comprometa a qualidade higiênico-sanitária do alimento.</p> <p>(Resolução RDC nº216/2004)</p>	
Descrição ou etapas do plano		
ETAPA - Higienização das mãos.		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Abra a torneira e molhe as mãos evitando encostá-las na pia; 2. Aplique sabonete para cobrir toda a superfície das mãos, friccionando as palmas entre si; 3. Esfregue a palma da mão direita contra o dorso da mão esquerda (e vice-versa) entrelaçando os dedos; 4. Entrelace os dedos palma com palma e friccione os espaços interdigitais; 5. Esfregue o dorso dos dedos de uma mão com a palma da mão oposta, segurando os dedos, com movimentos de vai e vem; 6. Esfregue o polegar direito com o auxílio da palma da mão esquerda (e vice-versa), utilizando movimento circular; 7. Esfregue em movimentos circulares as polpas digitais e as unhas para frente e para trás de uma mão na palma da outra; 8. Esfregue o punho esquerdo com o auxílio da palma da mão direita (e vice-versa), utilizando movimento circular; 9. Enxágue as mãos com água, retirando os resíduos de sabonete; 10. Seque as mãos com papel toalha descartável, iniciando pelas mãos e seguindo pelos punhos; 11. Utilize o papel toalha para fechar a torneira, se esta não for automática; <p>Observação: Passar álcool 70% nas mãos e antebraços sempre que disponível e deixar secar naturalmente.</p>		

■ CONSIDERAÇÕES FINAIS

A implantação das BPF, considerada a base do controle de qualidade em uma indústria alimentícia, é um processo contínuo que necessita de constantes adaptações e inovações com o objetivo de buscar a melhoria contínua dos produtos e do estabelecimento. A sua prática é fundamental nas indústrias para minimizar a ocorrência de possíveis erros nocivos aos manipuladores e consumidores e para assegurar a qualidade e integridade do produto.

Os POPs devem ser de fácil entendimento e descritos o mais detalhadamente possível, de forma clara para que todos possam saber como proceder na tarefa, além de estarem disponíveis a todos, e têm como grande vantagem o fato de conduzir corretamente o colaborador na execução das operações da empresa. Por serem roteiros e descrever todas as etapas na execução de uma atividade, os POPs apresentam-se como alicerce fundamental na garantia da padronização das tarefas, fornecendo medidas para contornar os possíveis problemas que se possa encontrar diariamente em uma empresa de produtos alimentícios. Dessa forma, assegura um produto com menor probabilidade de erro e variação, garantindo sua qualidade, padronização e conformidade.

■ REFERÊNCIAS

1. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.
2. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005. **Dispõe sobre Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2005.
3. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 43, de 1 de setembro de 2015. **Dispõe sobre Prestação de serviços de alimentação em eventos de massa.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 2 de setembro de 2015.
4. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2019.
5. BRASIL. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 146, de 07 de março de 1996. **Dispõe sobre Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 07 de março de 1996.
6. BRASIL. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 359, de 4 de Setembro de 1997. **Dispõe sobre Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 4 de setembro de 1997.

7. BRASIL. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Dispõe sobre Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 30 de novembro de 2018.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 12 de dezembro de 2011.
9. FEITEN, M. C. **A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) como ferramenta de controle de qualidade no abate de aves: uma revisão narrativa.** In: Wiaslan Figueiredo Martins (Org.) Tecnologia e Microbiologia Sob a Perspectiva da Segurança dos Alimentos. Guarujá: Editora Científica Digital, 2021, v. 1, p. 93-114.
10. MACHADO, R. L. P. **Boas Práticas de Fabricação (BPF).** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2015.
11. MONTEIRO, A. A.; PIRES, A. C. S.; ARAÚJO, E. A. **Tecnologia de produção de derivados de leite.** 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2011. 85 p.
12. SENAC: **As boas práticas na distribuição de alimentos II: cartilha 3.** Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2004.
13. SENAI: **Guia para implantação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e do sistema APPCC.** Brasília, DF: SENAI, 2002.
14. SILVA, L. A.; CORREIA, A. F. K. **Manual de Boas Práticas de Fabricação para Indústria Fracionadora de Alimentos.** Revista de Ciência & Tecnologia, v.16, n. 32, p. 39-57.
15. SILVEIRA, A. V. M.; DUTRA, P. R. S. **Produção Alimentícia: Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.** 2012. Disponível em: <http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Programa_de_Analise_de_Perigos_e_Pontos_Criticos_de_Control>. Acesso em: 03 dez. 2022.
16. STOLARSKI, M. C.; Dorigo, A. B.; da Cunha, F. B.; de Oliveira, S. (Org.). **Boas práticas de manipulação de alimentos.** Curitiba: SEED-PR, 2015. Disponível em: http://www.gestaoescolar.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/alimenatacao_escolar/manual_de_boas_praticas_2016.pdf
17. TOMICH, R. G. P.; TOMICH, T. R.; AMARAL, C. A. A.; JUNQUEIRA, R. G.; PEREIRA, A. J. G. **Metodologia para avaliação das boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 1, p. 115-120, 2005.

Incidência de infecção por *Penicillium expansum* em maçãs contendo revestimento comestível com composto antifúngico natural

| **Fabiana Fiusa Ferreira**
UTFPR

| **Marianne Ayumi Shirai**
UTFPR

| **Deyse Sanae Ota**
UTFPR

| **Alexandre Rodrigo Coelho**
UTFPR

| **Laura Fernandes Campos**
UTFPR

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a incidência de infecção por *Penicillium expansum* em maçãs contendo revestimento comestível com composto antifúngico natural, obtido a partir do cultivo de *Hansenula wingei* como agente de biocontrole. O revestimento foi elaborado pela técnica de *casting*, empregando o extrato bruto do cultivo da levedura e/ou solução aquosa (controle). O experimento compreendeu 5 Tratamentos: RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com fungo; FRA: frutos feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com fungo; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com fungo; FREB: frutos feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com fungo; C (Controle): frutos sem revestimento, feridos e inoculados com fungo. A incidência de infecção por *P. expansum* nos frutos foi avaliada por meio do cálculo da porcentagem de frutos doentes, da porcentagem de ferimentos infectados, bem como da determinação da severidade da doença e da porcentagem do controle das lesões. Após 15 dias de armazenamento a 25 °C, 100% dos frutos estavam doentes e 100% dos ferimentos estavam infectados, em todos os tratamentos. Entretanto, o controle das lesões nos frutos submetidos aos tratamentos com revestimentos antifúngicos foi de aproximadamente 55% (RFEB) e 59% (FREB), enquanto nos frutos recobertos com revestimento aquoso, o controle das lesões foi de apenas 6,6% (RFA) e 18,5% (FRA). O revestimento antifúngico contendo a toxina *killer* de *H. wingei* surge como uma nova estratégia para o controle de *P. expansum* em maçãs pós-colheita.

Palavras-chave: Bolor Azul, Frutas, Amido, Levedura, Biocontrole.

■ INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, ficando atrás somente da Índia e da China (BRASIL, 2020). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, a maçã está entre as principais frutas produzidas e entre as cinco mais comercializadas no país (IBGE, 2016). A maçã Fuji (*Malus domestica* Borkh) foi introduzida no Japão em 1962, proveniente de um cruzamento entre a maçã vermelha “Delicious” e a “Ralls Janet” e destaca-se pela sua excelente qualidade e características sensoriais como a suculência e a firmeza, além de ótima aceitabilidade pelo consumidor (FELIPINI; DI PIERO, 2010). O fruto tem se destacado pela sua praticidade e disponibilidade durante o ano todo, sendo o seu consumo *per capita* em 2017 no Brasil de 5 kg (KIST *et al.*, 2018).

O desenvolvimento da fruticultura depende principalmente da redução das perdas pós-colheita, que podem atingir até 55% do total produzido na América Latina (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2016). Fatores climáticos associados ao transporte e ao armazenamento inadequados facilitam a ocorrência de danos mecânicos nos frutos, causando ferimentos e rachaduras, e conseqüentemente o ataque de fungos deteriorantes, que representam de 80 a 90% dos fatores relacionados a deterioração do fruto (PARISI; HENRIQUE; PRATI, 2015; SOUSA *et al.*, 2018).

Com o intuito de reduzir as perdas e aumentar o tempo de conservação do fruto, é importante utilizar práticas adequadas de manuseio, desde a etapa de colheita até a comercialização. Embora o controle de fungos em nível de campo e pós-colheita ainda seja realizado por meio de fungicidas químicos, pesquisas com novas alternativas estão sendo estudadas, a fim de minimizar os riscos ao meio ambiente e diminuir os resíduos nos frutos tratados (OLIVEIRA; SANTOS, 2015). Segundo Assis e Britto (2014), a aplicação de revestimentos comestíveis vem sendo utilizada para prolongar a vida útil do fruto, além de melhorar a sua aparência e torná-lo mais atraente para o consumidor. Além disso, a adição de compostos naturais com propriedades antifúngicas vem se tornando uma opção atraente na preservação de frutos frescos (OLIVEIRA; SANTOS, 2015).

Neste contexto, a incorporação de agentes antimicrobianos em filmes comestíveis é uma alternativa interessante, no sentido de impedir o crescimento indesejável de fungos deteriorantes e aumentar a vida útil de frutos frescos. Micro-organismos antagonistas vêm sendo utilizados no combate de fungos filamentosos em frutas, quando aplicados na fase pós-colheita e armazenamento (MACARISIN *et al.*, 2010). Algumas espécies de leveduras são capazes de secretar metabólitos proteicos de massa molar variável, chamados de toxinas *killer*, capazes de inibir ou matar outros micro-organismos por alterações na parede ou membrana celular (BUZZINI; TURCHETTI; VAUGHAN-MARTINI, 2007).

O desenvolvimento de um revestimento em matriz polissacarídica, como por exemplo o amido, apresenta-se vantajoso, pelo baixo custo, grande disponibilidade na natureza e ser de fonte renovável (GALDEANO *et al.*, 2014). Ainda, a incorporação de um composto com propriedade antifúngica natural no revestimento é uma alternativa viável, que além de retardar a podridão e preservar a qualidade dos frutos, diminuiria o impacto ambiental e maiores perdas econômicas (CANAVER; DI PIERO, 2011).

Com base no pressuposto, este trabalho teve como intuito avaliar a incidência de infecção por *Penicillium expansum* em maçãs contendo revestimento comestível com composto antifúngico natural.

■ MÉTODO

Matérias-primas

As maçãs (*Malus domestica*) cultivar “Fuji” foram adquiridas de um distribuidor atacadista localizado em Londrina, Paraná (Brasil) e transportadas para o laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná em caixas de poliestireno. Os frutos foram selecionados por tamanho, cor, firmeza e ausência de lesões mecânicas para o experimento. Um total de 40 frutos foi utilizado no trabalho.

O amido usado como material do revestimento foi extraído do resíduo de aveia industrial (pureza 87%) pela empresa SL Cereais e Alimentos Ltda. Paraná, Brasil. O Glicerol (pureza 99,5%, Sigma-Aldrich) foi usado como agente plastificante.

Micro-organismos

As culturas de *Penicillium expansum* n. 2 e *Hansenula wingei* AM2-2 (CMRP4947), identificadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (FONTANA *et al.*, 2017) e Rapid TM Yeast Plus System (Remel, Lenexa, USA), respectivamente, foram utilizadas nesta pesquisa. A levedura e o fungo filamentosos foram mantidos a 7 °C em ágar Meio Para levedura – MPL (glicose 2%, extrato de levedura 0,5%, cloreto de sódio 1%, sulfato de amônio 0,5% e ágar 1,8%) e em Ágar Batata Dextrose – BDA, respectivamente. Para o ensaio antifúngico, *P. expansum* foi suspenso em solução 0,1% (v/v) de Tween 80 e padronizado em 10⁵ conídios/mL, com auxílio de câmara de Neubauer.

Produção do extrato bruto (EB) de levedura antagonista com composto antifúngico

Uma alçada da cultura antagonista *H. wingei* AM2-2 (CMRP4947) foi inicialmente reativada em frasco Erlenmeyer contendo 25 mL de Caldo MPL (25 °C/24h). O cultivo foi então

padronizado na Escala nº 1 de MacFarland e uma alíquota de 100 µL (correspondente a $3,0 \times 10^6$ células), foi transferida para cinco frascos Erlenmeyers contendo 50 mL do mesmo Caldo. O cultivo (96 h/25 °C) foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 min e filtrado em membrana de 0,20 µm (COELHO *et al.*, 2009). O extrato bruto livre de células contendo o composto antifúngico (EB) foi homogeneizado e armazenado em frascos âmbar a – 20 °C para elaboração da solução filmogênica.

Elaboração do revestimento antifúngico

O revestimento foi elaborado conforme descrito por Costa *et al.* (2019), empregando-se a técnica de *casting*. Em um becker contendo 90 mL de EB foi adicionado 4 g de amido, seguido de agitação (agitador magnético) por 15 min em temperatura ambiente (solução A). Paralelamente, uma solução de glicerol a 20% foi preparada, utilizando-se 0,8 mL de glicerol em 9,2 mL de EB (solução B). As soluções A e B foram misturadas e aquecidas a 90 °C por 30 minutos (para a gelatinização dos grânulos de amido de aveia), originando as soluções filmogênicas. Como controle, foi elaborada uma formulação do revestimento sem o composto antifúngico, substituindo integralmente o volume de EB com água destilada. As soluções filmogênicas com composto antifúngico (REB) e aquoso (RA, controle), foram resfriadas até 30 °C para aplicação como revestimento nos frutos.

Ensaio antifúngico nos frutos in natura

O ensaio antifúngico *in situ* foi realizado conforme metodologia descrita por Gonzáles-Estrada *et al.* (2017), com modificações. O experimento foi conduzido com 60 maçãs, num período de armazenamento de 15 dias a 25 °C e compreendeu 5 Tratamentos: T1 (RFA): 12 frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; T2 (FRA): 12 frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; T3 (RFEB): 12 frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; T4 (FREB): 12 frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*; C (Controle): 12 frutos sem revestimento, feridos e inoculados com *P. expansum*.

Os tratamentos RFA e RFEB, que envolvem a aplicação do revestimento no fruto e posterior ferimento, simulam uma situação de prevenção da doença (aplicação pré-infecção), ao passo que os tratamentos FRA e FREB, que envolvem a aplicação do revestimento no fruto previamente ferido, promovem um efeito curativo (aplicação pós-infecção).

Para a aplicação do revestimento nos frutos submetidos aos Tratamentos 1 a 4, os frutos foram submersos individualmente por 1 minuto em um béquer contendo a solução filmogênica a 30 °C, seguido de secagem em BOD a 25 °C por 24 horas. Dois ferimentos

(2,5 mm de profundidade e 3,0 mm de largura) foram realizados na porção superior do fruto, seguido de inoculação de uma alíquota de 10 µL da suspensão de *P. expansum* (previamente padronizado em 10⁵ conídios/mL). Os frutos foram armazenados individualmente em potes plásticos higienizados (10,0 cm Largura x 8,5 cm altura), e incubados em BOD a 25 °C por 15 dias.

A incidência de infecção por *P. expansum* nos frutos foi avaliada por meio do cálculo da porcentagem de frutos doentes, da porcentagem de ferimentos infectados, bem como da determinação da severidade da doença e da porcentagem do controle das lesões, conforme metodologia descrita por Gonzáles-Estrada *et al.* (2017), com modificações. Para estas análises, 12 frutos de cada tratamento foram avaliados, e as observações realizadas nos dias 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12 e 15 dias de armazenamento a 25 °C.

Na determinação porcentagem de frutos doentes, o fruto foi considerado doente quando pelo menos um ferimento apresentasse sinal de podridão. Foram avaliados 12 frutos de cada tratamento, e o resultado foi expresso em porcentagem de frutos doentes.

Na determinação da porcentagem de ferimentos infectados, foi considerado positivo o ferimento que apresentasse sinais de infecção de desenvolvimento do fungo. Foram avaliados 24 ferimentos realizados nos 12 frutos de cada tratamento, e o resultado foi expresso em porcentagem de ferimentos infectados.

Para a determinação da severidade da doença, foi determinado o diâmetro da podridão (lesão) dos ferimentos nos frutos com o auxílio de um paquímetro. Foram avaliados 24 ferimentos realizados nos 12 frutos de cada tratamento e os resultados foram expressos em milímetros.

A porcentagem de controle das lesões foi calculada da seguinte forma: $CL = [(D_c - D_t) / D_c] \times 100$, onde D_c é a média do diâmetro das lesões no fruto sem revestimento (controle) e D_t é a média do diâmetro das lesões no fruto com revestimento.

Análise estatística

Os dados obtidos para a determinação da severidade da doença e controle das lesões foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Foi empregado o programa Statistica 12.0 (Statsoft, USA).

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

O experimento *in situ* foi conduzido em maçãs com revestimento antifúngico aplicado antes do ferimento realizado (RFEB) e após o ferimento realizado (FREB) e não-antifúngico

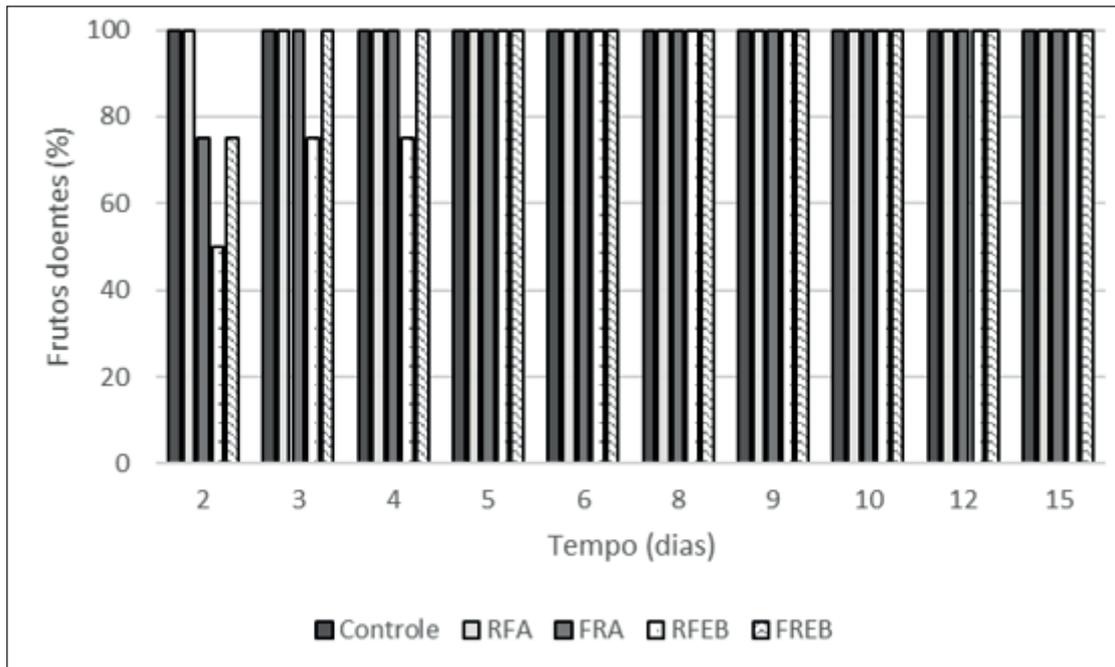
aplicado antes do fermento (RFA) e após o fermento (FRA), inoculadas com *P. expansum* e armazenadas a 25 °C por 15 dias.

A ordem de aplicação dos revestimentos no fruto foi realizada com o intuito de estudar o efeito preventivo (RFA e RFEB) e curativo da doença (RFA e FRA), ou seja, anteriormente e posteriormente a realização do fermento, respectivamente. No primeiro caso, os frutos revestidos ainda estão sujeitos a pequenas perfurações e machucados durante a distribuição para os revendedores e nas gôndolas para comercialização; o revestimento, que atua a princípio como barreira, está passível de pequenos rompimentos, possibilitando a colonização do fungo e conseqüentemente a deterioração. A presença do composto antifúngico na formulação poderia inibir a germinação de conídios/desenvolvimento micelial, prevenindo a deterioração. Já no efeito curativo, o revestimento é incorporado ao fruto já machucado, facilitando o acesso do fungo até a polpa do fruto; uma vez instalado, é necessário que o componente ativo do revestimento se difunda pela polpa para interromper o apodrecimento.

Nas Figuras 1 e 2 estão apresentados os resultados da incidência de frutos doentes e de fermentos infectados pelo fungo filamentoso, respectivamente, em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.

Nos frutos contendo revestimento antifúngico aplicado de forma preventiva (RFEB), a incidência de frutos doentes (75%) e a incidência de fermentos infectados (75%) foram controladas até o quarto dia de armazenamento. Nos frutos revestidos de forma curativa com antifúngico (FREB) e sem antifúngico (FRA), todos os frutos foram considerados doentes no quarto dia de armazenamento, enquanto 100% e 87,5% dos fermentos já estavam infectados, respectivamente (Figuras 1 e 2). Após o quinto dia, a incidência de frutos doentes e de fermentos infectados atingiu 100%, independente do revestimento testado e a ordem de aplicação (Figuras 1 e 2).

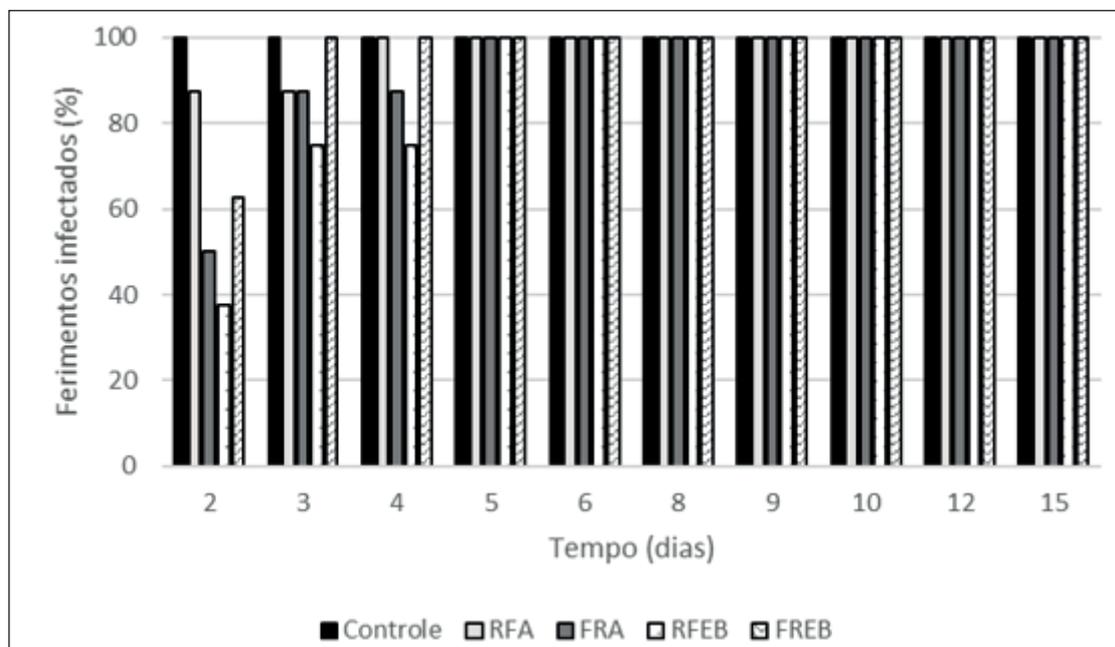
Figura 1. Incidência da doença por *Penicillium expansum* em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.



N = 12 frutos (por tratamento). Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FRA: frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FREB: frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Figura 2. Incidência de ferimentos infectados por *Penicillium expansum* em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.



N = 24 ferimentos (por tratamento). Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FRA: frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FREB: frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da severidade da doença ao longo do período de armazenamento a 25 °C por 15 dias.

Os diâmetros das lesões nos frutos sem revestimento (controle) variaram de 6,6 a 47,1 mm, enquanto nos frutos recobertos com revestimento aquoso a variação foi de 4,3 a 44 mm, com valor médio de 19,1 mm. Já nos frutos contendo revestimento antifúngico a variação foi de 4,0 a 20,5 mm, com valor médio de 10,6 mm. Nota-se que as lesões causadas pelo fungo nos frutos com revestimento antifúngico foram significativamente menores que naqueles recobertos com revestimento aquoso.

Tabela 1. Severidade da doença em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.

Armazenamento (dias)	Diâmetro das lesões (mm)*				
	Controle	RFA	FRA	RFEB	FREB
2	6,6 ± 1,2 ^a	4,5 ± 0,5 ^b	4,3 ± 0,5 ^b	4,7 ± 0,8 ^b	4,0 ± 0,0 ^b
3	7,9 ± 1,5 ^a	6,9 ± 1,1 ^{ab}	5,9 ± 1,1 ^{bc}	4,5 ± 0,5 ^{cd}	4,1 ± 0,4 ^d
4	11,4 ± 1,4 ^a	7,4 ± 1,1 ^b	7,0 ± 0,9 ^{bc}	5,0 ± 1,2 ^d	5,5 ± 0,5 ^{cd}
5	17,4 ± 2,3 ^a	10,6 ± 1,7 ^b	13,6 ± 4,4 ^{ab}	5,8 ± 1,6 ^c	10,0 ± 1,6 ^b
6	18,3 ± 3,3 ^a	14,9 ± 2,5 ^a	16,9 ± 2,2 ^a	7,8 ± 2,5 ^b	10,0 ± 0,0 ^b
8	25,9 ± 4,6 ^a	15,6 ± 1,8 ^b	19,5 ± 9,9 ^{ab}	7,8 ± 3,8 ^c	11,9 ± 2,7 ^{bc}
9	28,6 ± 7,7 ^a	19,1 ± 1,6 ^{bc}	24,1 ± 9,3 ^{ab}	11,2 ± 2,6 ^c	15,4 ± 2,0 ^c
10	35,1 ± 8,4 ^a	27,8 ± 12,8 ^{ab}	27,1 ± 11,0 ^{ab}	13,0 ± 5,8 ^c	17,5 ± 1,7 ^{bc}
12	42,6 ± 12,7 ^a	37,9 ± 5,5 ^a	35,4 ± 13,1 ^a	13,0 ± 5,0 ^b	19,5 ± 2,2 ^b
15	47,1 ± 5,9 ^a	44,0 ± 12,7 ^a	38,4 ± 3,9 ^a	20,5 ± 2,1 ^b	20,0 ± 2,5 ^b
Valor médio	24,1 ± 14,3 ^a	18,9 ± 13,5 ^b	19,2 ± 12,0 ^{ab}	9,4 ± 5,5 ^c	11,8 ± 6,1 ^c

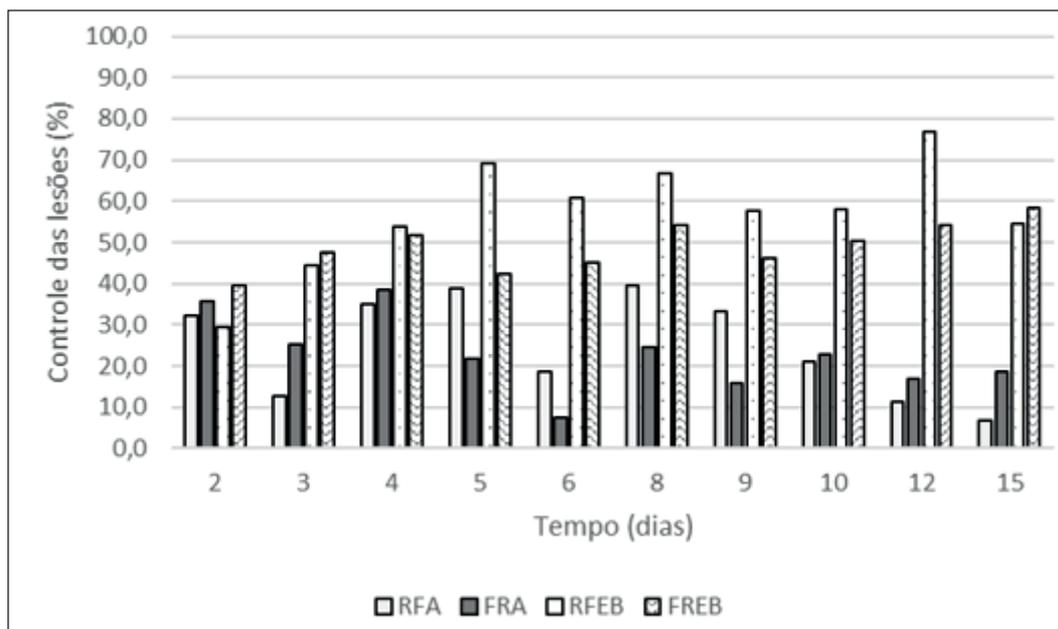
* Média ± desvio padrão de 24 dados. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância (teste Tukey). Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FRA: frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FREB: frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

As primeiras 48 horas foram caracterizadas pela colonização, adaptação e infecção do fruto, não sendo diferenciado o comportamento dos revestimentos com e sem antifúngico. Porém, a partir do quarto dia, foi possível observar um retardamento na evolução das lesões nos frutos recobertos com o revestimento antifúngico preventivo (RFEB) e/ou curativo (FREB), quando comparado com as lesões nos tratamentos com revestimento aquoso.

O controle das lesões causadas por *P. expansum* nos frutos com revestimento e armazenados a 25 °C por 15 dias está apresentado na Figura 3, e os valores médios de controle das lesões por tratamento estão apresentados na Tabela 2.

Figura 3. Controle das lesões em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.



N = 24 ferimentos (por tratamento). Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FRA: frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FREB: frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

O controle das lesões nos frutos com revestimentos aquosos variou de 7,5% (sexto dia) a 39,6% (oitavo dia), com valor médio de controle em 24,9% (RFA) e 22,8% (FRA). Já nos frutos com revestimento antifúngico a variação no controle das lesões foi de 29,6 (segundo dia) a 76,8% (décimo segundo dia), com valor médio de 57,1% (RFEB) e 49,0% (FREB) (Figura 3, Tabela 2).

Tabela 2. Valor médio de controle das lesões em maçãs armazenadas a 25 °C/15 dias, com e sem revestimento antifúngico.

	Valor médio de controle das lesões (%)
RFA	24,9 ± 12,3 ^b
FRA	22,8 ± 9,2 ^b
RFEB	57,1 ± 13,2 ^a
FREB	49,0 ± 5,8 ^a

Média ± desvio padrão de 10 dados. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância (teste Tukey). RFA: frutos recobertos com revestimento aquoso, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FRA: frutos inicialmente feridos e na sequência recobertos com revestimento aquoso e inoculado com *P. expansum*; RFEB: frutos recobertos com revestimento antifúngico, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*; FREB: frutos inicialmente feridos e na sequência recoberto com revestimento antifúngico e inoculação com *P. expansum*.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Comparando-se os dados obtidos para o controle das lesões nos frutos contendo revestimento antifúngico preventivo (RFEB) e curativo (FREB), após 15 dias de armazenamento a 25 °C, ambos controlaram as lesões em mais de 50% ($p > 0,05$) (Tabela 2). Porém, analisando-se o comportamento ao longo do experimento, o efeito preventivo prevaleceu sobre o curativo (Figura 3).

O controle das lesões nos frutos submetidos aos tratamentos com revestimentos antifúngicos e armazenados por 15 dias foi de aproximadamente 55% (RFEB) e 59% (FREB), enquanto nos frutos recobertos com revestimento aquoso, o controle das lesões foi de apenas 6,6% (RFA) e 18,5% (FRA) (Figura 3). Os resultados mostraram que os revestimentos antifúngicos retardaram significativamente a evolução das lesões infectadas nos frutos analisados após 15 dias de armazenamento a 25 °C, quando comparados com os revestimentos aquosos ($p \leq 0,05$). Estes, por sua vez, não foram eficazes no controle das lesões, cujos diâmetros não diferiram daqueles observados nos frutos sem revestimento ($p > 0,05$) (Tabela 1).

O controle das lesões pelo revestimento contendo composto antifúngico natural foi eficaz no retardamento das lesões causadas por *P. expansum* no fruto. Tal fato indica que o desenvolvimento micelial é prejudicado ou retardado pelo composto antifúngico, deixando claro o efeito preventivo e curativo no controle da doença. Embora os revestimentos com propriedade antifúngica preventiva e curativa tenham controlado as lesões nos frutos de forma semelhante neste trabalho, González-Estrada *et al.* (2017) obtiveram um controle mais efetivo contra a podridão azul em limão, quando o revestimento com leveduras antagonistas foi aplicado no tratamento preventivo da doença.

Um estudo preliminar realizado *in vitro* com o extrato livre de células de *H. wingei* AM2-2 (CMRP4947) mostrou uma inibição superior a 78% do desenvolvimento de *P. expansum* e *Aspergillus ochraceus*, quando incubados em meio líquido por 12 horas (FERREIRA *et al.*, 2019). Neste mesmo estudo, o composto resistiu ao tratamento térmico de 90 °C/30 minutos, indicando ser favorável para aplicação na formulação do revestimento (FERREIRA *et al.*, 2019). O estudo *in situ* empregando células íntegras da mesma levedura, em combinação com baixa dosagem de tiabendazol (10% da recomendada pelo fabricante), apresentou 100% de eficácia no controle de doença de maçãs por *P. expansum* após 7 dias de estocagem a 21 °C, quando aplicados diretamente nos ferimentos. Após 14 e 21 dias, a eficácia foi de 80,45% e 72,13%, respectivamente (FIEIRA *et al.*, 2013).

Entretanto, estudos envolvendo antagonismo com *H. wingei* AM2-2 (CMRP4947) vem sendo realizados pelo grupo de pesquisa desde 2011, quando Gasperini *et al.* (2011) isolou a cepa de amostra de milho no sudoeste do Paraná, que se mostrou antagonista contra *Fusarium verticillioides* 103F, associado ao caráter *killer* positivo demonstrado no estudo. Desde então, estudos progrediram na pesquisa desta cepa, direcionando para outros fungos filamentosos, como *P. expansum* e *A. ochraceus* (SIMER *et al.*, 2013; FONTANA *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2019).

Por fim, os estudos relacionados com a aplicação de toxinas *killer* de leveduras como agentes antifúngicos naturais são promissores para o desenvolvimento de novas formulações para o biocontrole do bolor azul em maçãs pós-colheita.

■ CONCLUSÃO

Os revestimentos com propriedade antifúngica não inibiram a infecção por *P. expansum* nas maçãs armazenadas por 15 dias a 25 °C, porém controlaram significativamente as lesões causadas pelo fungo nos frutos. O controle das lesões foi obtido pelos revestimentos antifúngicos aplicados de forma preventiva e curativa.

O revestimento antifúngico contendo a toxina *killer* de *H. wingei* AM2-2 (CMRP4947) surge como uma nova estratégia para o controle de *P. expansum* em maçãs pós-colheita.

■ AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Araucária pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL e Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina, pelos recursos financeiros.

■ REFERÊNCIAS

1. ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.
2. BRASIL. Secretaria da agricultura e do abastecimento (SEAB). Departamento de Economia Rural. Fruticultura: análise da conjuntura, 2020. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/fruticultura_2020.pdf. Acesso em 08 set. 2021.
3. BUZZINI, P.; TURCHETTI, B.; VAUGHAN-MARTINI, A. E. The use of killer sensitivity patterns for biotyping yeast strains: the state of the art, potentialities and limitations. **FEMS yeast research**, v. 7, n. 6, p. 749-760, 2007.
4. CANAVER, B. S.; DI PIERO, R. M. Quitosana e adjuvantes para o controle preventivo do mofo azul da macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 419-423, 2011.
5. COELHO, A.R.; TACHI, M.; PAGNOCCA, F.C.; NÓBREGA, G.M.A.; HOFFMANN, F.L.; HARADA, K. HIROOKA, E.Y. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as active agent against *Penicillium expansum*. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 2009.

6. COSTA, D.; FERREIRA, F. F.; SHIRAI, M. A.; SAKANAKA, L. S.; COELHO, A. R. Caracterização de filme à base de amido de resíduo de aveia com composto antifúngico natural. **Higiene Alimentar**, v. 33, n. 3, p. 2734-2743, 2019.
7. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. 2016. Relatório: Pérdidas y desperdícios de alimentos em América Latina y el Caribe. Disponível em: <https://www.fao.org/3/i5504s/i5504s.pdf>. Acesso em: 06 de out. de 2021.
8. FELIPINI, R.B.; DI PIERO, R. M. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1591-1597, 2010.
9. FERREIRA, F. F.; MARTINS, R. A.; COSTA, D. R.; TONIAL, I. B.; COELHO, A. R. Levedura antagonista no controle de fungos filamentosos deteriorantes de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 33, n. 289, p. 2793-2797, 2019.
10. FIEIRA, C.; OLIVEIRA, F.; CALEGARI, R. P.; MACHADO, A.; COELHO, A.R. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of natural inhibitors against *Penicillium expansum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 40-46, 2013.
11. FONTANA, H. Y. Y.; PAIÃO, F. G.; PEDRÃO, M. R.; COELHO, A. R. Purificação parcial de toxina *killer* de *Hansenula wingei* visando aplicação no controle do desenvolvimento de fungos filamentosos deteriorantes de alimentos. In: OLIVEIRA, A. F.; STORTO, L. J. **Tópicos em ciências e tecnologia de alimentos: resultados de pesquisas acadêmicas**. Editora Edgard Blücher Ltda: São Paulo, v. 3, p. 199-218, 2017.
12. GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; EIRAS, M. V. G.; MALI, S. Efeito do processamento e das condições ambientais nas propriedades de materiais biodegradáveis de amido de aveia. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. São Paulo. v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.
13. GASPERINI, A. M.; HASHIMOTO, E. H.; COELHO, A. R.; HIROOKA, E. Y. Leveduras *killer* visando o biocontrole de *Fusarium verticillioides* micotoxigênico para a qualidade de milho. In: III EPEA-Encontro paranaense de engenharia de alimentos, Guarapuava. **Anais [...]**. Guarapuava. Unicentro, v. 1, 2011.
14. GONZÁLEZ-ESTRADA, R. R.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; RAGAZZO-SÁNCHEZ, J. A.; BAUTISTA-ROSALES, P. U.; Calderón-Santoyo, M. Control of blue mold decay on Persian lime: Application of covalently cross-linked arabinoxylans bioactive coatings with antagonistic yeast entrapped. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 187-196, 2017.
15. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, v. 43, p.1-62, 2016. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2016_v43_br.pdf . Acesso em: 12 out. 2021.
16. KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro da maçã 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 56 p. Disponível em: https://www.abpm.org.br/wp-content/uploads/2018/06/Anuario_maca_2018.pdf. Acesso em: 05 mai. 2021.
17. MACARISIN, D.; DROBY, S.; BAUCHAN, G.; WISNIEWSKI, M. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist-fruit interaction: A new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, n 3, p. 194-202, 2010.

18. OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C. **Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças**. Natal: IFRN, 234p., 2015. Disponível em: <https://memoria.ifrn.edu.br/bitstream/handle/1044/363/Tecnologia%20e%20Processamento%20de%20Frutos%20e%20Hortalic%CC%A7as%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 nov. 2020.
19. PARISI, M. C. M.; HENRIQUE, C. M.; PRATI, P. Doenças pós-colheita: um entrave na comercialização. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 12, n. 2, p. 1-5, 2015.
20. SIMER, P.; CALEGARI, R. P.; MACHADO-LUNKES, A.; HASHIMOTO, E. H.; COELHO, A. R. Biocontrole de fungos filamentosos por *Hansenula wingei* visando aplicação na pós-colheita de frutos. **Revista Magistra**, v. 25, n. especial, p. 1-5, 2013.
21. SOUSA, A. N. S.; ALMEIDA, E.; NASCIMENTO, S.; MENDES, M.; SOUSA, W.; MELO, P.A. Perdas pós-colheita de hortaliças no mercado varejista de Chapadinha, Maranhão, Brasil. *Agrotrópica (Brasil)*, v. 30, n. 2, p. 127-134, 2018.

Potencial uso de prebiótico, probiótico ou simbiótico no tratamento câncer colorretal: revisão sistemática

| **Luciana Furlaneto Maia**
UTFPR

| **Cristiane Adriana Biondo Hedler**
UTFPR

| **Raquel Roman Ros**
UTFPR

RESUMO

O câncer é uma das enfermidades que mais causam mortes no mundo, sendo que o câncer colorretal (CCR) é o terceiro tipo mais frequente diagnosticado em homens e o segundo em mulheres. O tratamento para este tipo de câncer está associado a uma série de riscos e complicações, visto que a prevenção ainda é a melhor opção. Foram consultadas as bases de dados Pubmed, CAPEs, *Scopus*, *Science Direct*, *Scielo* e *Google Scholar*, e selecionadas publicações entre os anos de 2016 a 2021 que preencheram os critérios de busca. Estudos realizados com pessoas acometidas de CCR e submetidas ao tratamento com a utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos no pré ou pós-cirúrgico demonstraram melhora significativa, melhorando a integridade da barreira intestinal, modulando a microbiota intestinal, prevenindo infecções e reduzindo a probabilidade de desenvolver CCR.

Palavras-chave: CCR, Bactérias Probióticas, Microbiota Intestinal.

■ INTRODUÇÃO

O câncer já está entre as quatro principais causas de morte prematura (antes dos 70 anos de idade) na maioria dos países sendo o principal problema de saúde pública no mundo. Em uma escala global, o câncer colorretal é o terceiro tipo de câncer mais frequente diagnosticado em homens e o segundo em mulheres (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019).

Sua incidência e a mortalidade estão aumentando no mundo, parcialmente por conta do envelhecimento, crescimento populacional, e também por mudanças na distribuição e na prevalência de fatores de risco do câncer, principalmente nos associados ao desenvolvimento socioeconômico. Observa-se uma mudança dos principais tipos de câncer observados nos países em desenvolvimento, com uma queda nos que estão associados a infecções e acréscimo àqueles associados à melhoria das condições socioeconômicas com a inclusão de hábitos e atitudes relacionadas à urbanização (sedentarismo, alimentação inadequada, entre outros) (BRAY *et al.*, 2018). O melanoma continua sendo um dos tipos de tumores mais agressivos, principalmente por sua propensão à metástase e à terapia de resistência (LI *et al.*, 2020).

A estimativa mundial mais recente feita no ano de 2018 demonstra que ocorreram no mundo 18 milhões de novos casos de câncer (17 milhões se descontar os casos de câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de óbitos (9,5 milhões excluindo os cânceres de pele não melanoma) (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019).

Em uma escala mundial de incidência, o câncer de pulmão é o que mais prevalece (2,1 milhões) seguido pelo câncer de mama (2,1 milhões), cólon e reto (1,8 milhão) e próstata (1,3 milhão). Em homens, a incidência representa 53% dos casos novos (9,5 milhões), sendo que em mulheres, com 8,6 milhões, a prevalência é menor (47%). Os tipos de câncer mais frequentes nos homens foram o câncer de pulmão (14,5%), seguido de próstata (13,5%), cólon e reto (10,9%), estômago (7,2%) e fígado (6,3%). Já nas mulheres, as maiores incidências foram câncer de mama (24,2%), cólon e reto (9,5%), pulmão (8,4%) e colo do útero (6,6%) (BRAY *et al.*, 2018).

No Brasil, a estimativa para cada ano do triênio 2020-2022 destaca a ocorrência de 625 mil casos novos de câncer (450 mil, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma). O câncer de pele não melanoma será o mais incidente (177 mil), seguido pelos cânceres de mama e próstata (66 mil cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e estômago (21 mil) (INCA, 2020).

O trato gastrointestinal (TGI) é um sistema complexo, no qual as células, nutrientes provenientes da dieta e micro-organismos colonizadores interagem entre si, assegurando o equilíbrio intestinal dinâmico que permite o desenvolvimento saudável do hospedeiro

(CARDOSO, 2016). Existem muitas evidências de que a microbiota intestinal bem colonizada é importante no controle do crescimento tumoral e resposta a terapias (LI *et al.*, 2020).

Quando ocorre uma desordem na microbiota com predomínio de bactérias patogênicas sobre as benéficas, tem-se um quadro chamado disbiose, que provoca um desequilíbrio no organismo pela multiplicação de bactérias patogênicas, levando a degradação de vitaminas, inativação de enzimas, produção de toxinas cancerígenas, destruição da mucosa intestinal, acarretando em uma redução da absorção de nutrientes, aumentando a espessura da mucosa intestinal (BOAS, 2017; CONRADO *et al.*, 2018). As principais causas desse desequilíbrio são o uso de antibióticos, anti-inflamatórios, excesso de laxantes, elevado consumo de alimentos industrializados e processados, carne vermelha, gordura animal, baixo consumo de alimentos crus, como legumes, frutas e grãos integrais e exposição a agrotóxicos, idade, etc (THEODOROPOULOS *et al.*, 2016).

O equilíbrio da microbiota pode ser garantido através dos alimentos probióticos, prebióticos e/ou simbióticos estimulando o crescimento e atividades de bactérias benéficas que impedem o crescimento das bactérias patogênicas, além de prevenir e/ou controlar alguns tipos de doenças crônico-degenerativas, inclusive com produção de efeitos fisiológicos e metabólicos, através da interação gene-nutriente, na manutenção das funções do organismo humano, atuando como auxiliares/promotores na melhoria da saúde. Dessa forma, a alimentação tem um papel importante, pois ela pode influenciar positivamente ou negativamente a composição da microbiota intestinal e saúde humana (ARAÚJO *et al.*, 2019; TRENNEPOHL *et al.*, 2019).

Com a descrição do cenário destacado acima, este artigo objetivou uma revisão sistemática sobre os benefícios de probióticos, prebióticos e/ou simbióticos no combate ao câncer de cólon e reto.

■ METODOLOGIA

O presente estudo consiste em uma revisão do conhecimento disponível na literatura, onde foi realizada uma busca bibliográfica nos bancos de dados informatizados entre os meses de abril e maio de 2021. Para essa análise foi utilizada a base de dados Pubmed, CAPEs, *Scopus*, *Science Direct*, *Scielo* e *Google Scholar*.

Os descritores utilizados na busca foram: ação dos probióticos, prebióticos e simbióticos, câncer de cólon e reto, ambos utilizados isoladamente ou em combinações na língua portuguesa e inglesa. A escolha dos artigos direcionou-se em publicações entre os anos de 2016 a 2021, escritos em português, inglês ou espanhol. Foram excluídos artigos que não estavam com texto disponível na íntegra, por conta que esse fato dificultava e/ou impossibilitava a retirada de informações relevantes para a busca dos fatores e conclusões

estudados, também foram utilizadas pesquisas realizadas utilizando modelo animal, ensaios *in vitro*, relatos de caso.

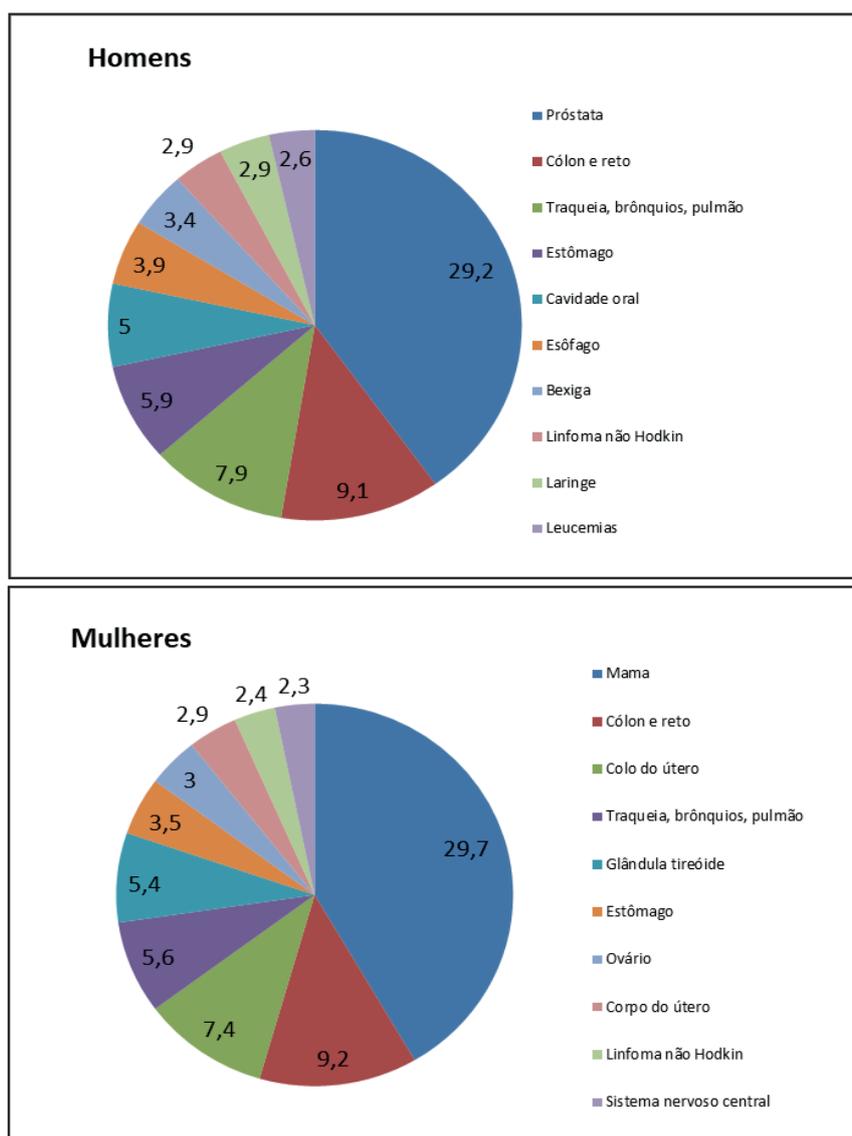
■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a associação de todos os descritores nas bases pesquisadas foram encontrados 33 artigos.

Câncer colorretal

A figura 1 apresenta a distribuição dos principais tipos de câncer que acometem homens e mulheres. O câncer colorretal apresentam na mesma proporção de indivíduos, independente do sexo, sendo 9,1% nos homens e 9,2% nas mulheres.

Figura 1. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.



Fonte: Adaptado de American Cancer Society (2019).

O câncer de cólon e reto, também conhecido como câncer colorretal, iniciam-se na parte do intestino grosso (chamada cólon) e no reto (final do intestino, imediatamente antes do ânus) e ânus. Pode ser tratado e, na maioria dos casos ocorre a cura, quando detectado precocemente e ainda não atingiu outros órgãos. A maior parte desses tumores inicia-se a partir de pólipos, que são lesões benignas que podem crescer na parede interna do intestino grosso. Uma estimativa mundial mais recente indica que, em homens, ocorreu 1 milhão de novos casos de câncer do cólon e reto, sendo o terceiro tumor mais incidente entre todos os cânceres, com um risco estimado de 26,6/100 mil. Em mulheres, foram 800 mil casos novos, sendo o segundo tumor mais frequente com taxa de prevalência de 21,8/100 mil (INCA, 2020).

De acordo com o INCA (2020), estima-se que no Brasil, para cada ano do triênio de 2020-2022, 20.520 casos de câncer de cólon e reto acontecerão em homens e 20.470 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 19,63 novos casos a cada 100 mil homens e 19,03 a cada 100 mil mulheres.

Os maiores fatores de risco em desenvolver câncer de cólon e reto estão relacionados à etiologia multifatorial (Figura 2). Outros fatores incluem hábitos alimentares e dieta rica em gorduras levam ao aumento da secreção de ácidos biliares que podem contribuir para a ocorrência de câncer colorretal (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020). Há também fatores de origem hereditária que aumentam o risco, destes incluem histórico familiar de câncer colorretal e/ou pólipos adenomatosos, certas condições genéticas como a polipose adenomatosa familiar e o câncer colorretal hereditário sem polipose, histórico de doença inflamatória intestinal crônica (colite ulcerativa ou doença de Crohn) e diabetes tipo 2, e, ainda, fatores como a exposição ocupacional à radiação ionizante (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019; INCA, 2020; KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Figura 2. Fatores de risco em desenvolver câncer de cólon e reto relacionados à etiologia multifatorial.



Fonte: Adaptado de Kaźmierczak-Siedlecka (2020).

O tratamento do câncer de cólon e reto ainda está associado a uma série de riscos e complicações. Assim, a prevenção ainda é a melhor forma para não desenvolver o mesmo. Manter o equilíbrio qualitativo e quantitativo da microbiota intestinal, evitando a disbiose, com uma reeducação alimentar e suplementação com o uso diário de probióticos e/ou prebióticos e/ou simbióticos, ainda é tido como a melhor opção terapêutica e preventiva (CONRADO *et al.*, 2018). A microbiota intestinal é complexa e pode afetar o indivíduo como um todo, seja positiva ou negativamente, regulando o crescimento de bactérias, vírus e protozoários que adentram o corpo humano (BRITO e FERRAZ, 2019). Desta forma, a ingestão de probióticos e prebióticos ou até mesmo a combinação dos dois (simbióticos), é uma medida bem favorável.

Prebióticos

De acordo com a Codex Alimentarius Commission (2018), prebióticos são alimentos para probióticos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios nutricionais para o hospedeiro. A caracterização de um prebiótico deve ser demonstrada por testes *in vivo* ou *in vitro* (estudos em humanos ou animais) com o objetivo de obter endosso científico para demonstrar que aumenta o número de bactérias probióticas no cólon.

Em síntese, os prebióticos são ingredientes alimentares como as fibras solúveis e insolúveis, fermentáveis ou não e alguns oligossacarídeos não digeríveis (galactooligosacarídeos

(GOS), xilo-oligossacarídeos (XOS), fruto-oligossacarídeo (FOS), inulina, fosfo-oligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeos, lactulose e pectina, etc.), capazes de inibir a multiplicação de patógenos, pois são carboidratos não digeríveis, e, portanto, não absorvidos pelo organismo, atuando no intestino grosso em sua maioria, onde após fermentação, contribuem para o crescimento de bactérias desejáveis no cólon, alterando a microbiota e conferindo benefícios à saúde do hospedeiro (SANTOS;RICCI, 2016; RAMIREZ, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019).

Existem muitas propriedades nestes compostos, como a estimulação de bactérias intestinais benéficas, aumento da absorção de micronutrientes no cólon, modificação da expressão gênica em células bacterianas no ceco, produção de ácidos graxos de cadeia curta, modulação da resposta imune, cólon e fezes, e a modulação de enzimas que metabolizam xenobióticos (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Li *et al.* (2020), identificaram em seus estudos, que os prebióticos inulina e mucina podem enriquecer táxons bacterianos que promovem imunidade anti-tumor. Em experimentos com camundongos, demonstraram, usando tumores implantados por via subcutânea, que estes dois prebióticos induzem a imunidade antitumoral e concomitantemente controlam o crescimento do tumor, onde os efeitos prebióticos dependiam de mudanças na composição da microbiota intestinal, conforme ilustrado pela falha da mucina em induzir imunidade antitumoral em camundongos gnotobióticos, destacando portanto, a importância da microbiota intestinal na imunidade antitumoral e o potencial papel terapêutico dos prebióticos neste processo.

Probióticos

Os probióticos, também chamados de produtos bioterapêuticos vivos, são produtos que contêm organismos vivos e viáveis definidos em número suficiente para alterar a microbiota benéficamente, como bactérias, de presença natural em humanos, sendo as mais comuns pertencentes aos grupos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que promovem o equilíbrio da microbiota intestinal, devendo sobreviver às condições ácidas do estômago e da bile, ser capaz de aderir à mucosa intestinal e colonizá-la mesmo que temporariamente (SANTOS; RICCI, 2016; FDA, 2019; PEREIRA *et al.*, 2019).

Probióticos têm a reputação de exercer atividades anticancerígenas e antimutagênicas e são utilizados para manipular a microbiota intestinal. Estes podem ter um possível mecanismo molecular via microRNAs. Em um estudo feito por Heydari *et al.* (2019), foi utilizado um tipo de câncer de cólon animal, demonstrando que a administração de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13421 e *Bifidobacterium bifidum* na dose 1×10^9 UFC/g por 5 meses aumentou a expressão de miR-26b, miR-18a, APC, PU.1, bem como PTEN, reduzindo a expressão de miR135b, miR-155, KRAS. Por conta do aumento da expressão dos miRNAs supressores de tumor e diminuição do nível dos oncogenes depois do tratamento com

probióticos, se concluiu que eles podem ser considerados relevantes para o tratamento do CCR (HEYDARI *et al.*, 2019).

L. acidophilus é uma espécie de bactéria ácido-lática com atividade probiótica reconhecida. Diversos estudos têm demonstrado atividade funcional das cepas bacterianas desse gênero, com relevância de efeitos antioxidantes em doenças como o câncer colorretal. Embora os estudos sobre câncer colorretal em seres humanos feitos exclusivamente contendo esta bactéria sejam poucos, pois geralmente são associados a outros probióticos, demonstram efeitos interessantes na minimização de complicações pós-operatórias e melhora da integridade da barreira intestinal (FURTADO; FARIÑAS, 2021).

Liu *et al.* (2016), relataram que os probióticos também podem proteger com eficiência a barreira da mucosa intestinal em pacientes com CCR após procedimentos cirúrgicos; isto foi relatado em uma meta-análise de ensaios clínicos randomizados (17 estudos, $n = 1242$). A quantidade de *Bifidobacterium/Escherichia* mudou, indicando que os probióticos tiveram a capacidade de prevenir a perda de equilíbrio da microflora no pós-operatório. Alterações no nível de proteína C reativa (PCR) em níveis mais baixos nos grupos experimentais sugeriram que houve diminuição do nível de inflamação após a suplementação com os probióticos. O nível de IL-6, como uma das citocinas pró-inflamatórias, não obteve alteração após o tratamento com probióticos.

A utilização de probióticos parece ser válida após procedimentos cirúrgicos. Em uma revisão sistêmica e meta-análise de ensaios clínicos randomizados, foi afirmado que os probióticos poderiam prevenir a inflamação no cuidado pós-operatório de pacientes com CCR e que seriam benéficos para a recuperação cirúrgica. Em resumo, os probióticos podem ser utilizados como um método terapêutico para prevenção de infecções em pacientes com CCR no período pós-operatório (DE ANDRADE, 2017).

Simbióticos

Os simbióticos são resultantes da combinação dos probióticos e prebióticos sendo que seus efeitos podem ser adicionados ou sinérgicos (PEREIRA *et al.*, 2019). Dessa forma, a dieta se constitui em fator determinante das características da colonização intestinal e uma alimentação adequada deve ser estimulada para se manter o equilíbrio da flora intestinal (ARAÚJO *et al.*, 2019).

São relatados como uma combinação de bactérias probióticas e ingredientes prebióticos promotores de crescimento que atingem o “sinergismo” e têm-se usados como um tratamento de apoio para várias doenças, incluindo CCR. Um estudo de ensaio clínico duplocego randomizado, demonstrou que os simbióticos reduziram significativamente as taxas de infecção pós-operatória em pacientes com CCR. Neste estudo investigou-se em 91 participantes

divididos em dois grupos: um recebendo simbiótico *L. acidophilus* 10⁸ a 10⁹ UFC, *Lactobacillus rhamnosus* 10⁸ a 10⁹ UFC, *Lactobacillus casei* 10⁸ a 10⁹ UFC, *Bifidobacterium* sp 10⁸ a 10⁹ UFC e fruto-oligossacarídeo (FOS) 6 g por 5 dias antes do procedimento cirúrgico e 14 dias após a cirurgia com o outro grupo tratado com placebo. A infecção do sítio cirúrgico ocorreu em 2% dos pacientes que receberam o produto simbiótico e 21,4% dos participantes que consumiram placebo ($p = 0,002$) (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Kuugbee *et al.* (2016), demonstraram que a administração em ratos de um coquetel que consiste em *L. acidophilus* enriquecido com oligofrutose-maltodextrina ($6,4 \times 10^{11}$ UFC), *Bifidobacteria bifidum*, *Bifidobacteria infantum* ($1,9 \times 10^{10}$ UFC) aumentou a expressão de MUC2, ZO-1, ocludina e TRL2. Todos esses micro-organismos podem atuar em muitos métodos benéficos, como diminuição do crescimento do tumor, aumento da secreção de mucina, preservação das junções estreitas, inibição da inflamação, etc. Além disso, os níveis de expressão de TRL4, caspase 3, COX-2 e β -a catenina, que são proteínas conhecidas por aumentar a resposta pró-inflamatória, apoptose e progressão tumoral, diminuiu. Esse coquetel de pré e probióticos modulou a microbiota intestinal e reduziu o desenvolvimento de CCR.

Krebs (2016) relatou que a administração de simbióticos e o tratamento cirúrgico também foi analisada em um estudo duplo-cego randomizado. Os efeitos do tratamento prebiótico e simbiótico foram examinados antes da cirurgia colorretal com 73 pacientes programados para serem submetidos a esta operação. Estes foram subdivididos em três grupos: o primeiro recebeu prebióticos, o segundo simbióticos e o terceiro passou por limpeza pré-operatória. Nenhuma diferença na resposta inflamatória sistêmica, por exemplo, medida via níveis de PCR, IL-6, fibrinogênio, evolução pós-operatória, bem como taxa de complicações, foram observados entre os três grupos. Porém, foi observado que mais bactérias ácido-lácticas estavam presentes na mucosa do cólon no grupo simbiótico comparado ao resto dos participantes.

Em resumo, a aplicação de simbióticos no CCR parece ser útil, possivelmente devido às suas propriedades imunomoduladoras e à capacidade de reduzir as taxas de infecções pós-operatórias. A ingestão de simbióticos pode ser usada como substituta da limpeza mecânica do intestino antes dos procedimentos cirúrgicos, visto que não apenas modula a microbiota intestinal, mas também pode reduzir o desenvolvimento de carcinogênese colorretal (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Relação entre probióticos ou simbióticos na microbiota intestinal e tratamento do câncer colorretal

A microbiota intestinal bem colonizada é de suma importância, pois conferem funções antibacterianas, imunomoduladoras e metabólico-nutricionais ao organismo humano, formando

uma barreira contra os micro-organismos invasores, potencializando os mecanismos de defesa do hospedeiro contra os patógenos, melhorado a imunidade intestinais pela aderência a mucosas e estimulando as respostas imune locais, além de auxiliar na digestão, onde vários nutrientes são formados pela síntese bacteriana e ficam disponíveis para a absorção, entre eles, a vitamina K, vitamina B12, vitamina B1 e vitamina B2 (SANTOS; RICCI, 2016).

Os profissionais da saúde devem estar atentos às terapias não medicamentosas, orientando a população a respeito da suplementação através desses alimentos, que trazem diversos benefícios, prevenindo e tratando doenças, minimizando as complicações relacionadas ao trato gastrointestinal e reduzindo os índices de câncer. Uma microbiota intestinal saudável e equilibrada resulta em um desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, o que irá assegurar melhoria na qualidade de vida do indivíduo. Alguns mecanismos para a ocorrência dos efeitos probióticos e prebióticos foram elucidados, entretanto, estudos nesse sentido são cada vez mais intensos. Melhor compreensão sobre a interação entre os compostos vegetais não-digeríveis, seus metabólitos, a microbiota intestinal e o hospedeiro abrirá novas possibilidades de produzir novos ingredientes para produtos alimentícios nutricionalmente otimizados que promovam a saúde do hospedeiro, através de reações microbianas no intestino (PEREIRA *et al.*, 2019).

De forma geral, uma nutrição oral pós-operatória precoce já é considerada parte essencial na recuperação rápida após a cirurgia colorretal. A ingestão de alimentos no período pós-operatório imediato pode estimular o peristaltismo gastrointestinal atenuando o catabolismo e potencialmente diminuindo as complicações infecciosas (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Uma boa microbiota intestinal auxilia na prevenção de câncer colorretal (ZENE *et al.*, 2017). Os probióticos, prebióticos ou simbióticos estão sendo usados como uma estratégia, sendo administrados em forma de suplementos dietéticos de suporte em pacientes após colectomias por câncer. Estes podem aliviar problemas associados à síndrome do intestino irritável (SII). As excisões intestinais podem induzir a uma disfunção intestinal transitória semelhante à SII, tanto por conta de mudanças no ecossistema bacteriano do intestino, quanto devido a rupturas sensitivas e motoras dos nervos viscerais (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020).

Parece que há uma relação entre a composição da microbiota intestinal e a ocorrência CCR. Variações na microbiota intestinal são capazes de contribuir para o desenvolvimento do CCR, ainda que possam também ser atribuídas aos efeitos colaterais da terapia anticâncer. Deve-se ressaltar que a microbiota intestinal humana não é apenas constituída de bactérias, também há vírus, fungos e arqueias (KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, 2020). Alterações

qualitativas e quantitativas na microbiota intestinal são conhecidas como disbiose intestinal que faz um desequilíbrio do mesmo.

A ligação entre o desequilíbrio da microbiota intestinal humana e a carcinogênese color-retal pode envolver vários mecanismos específicos dependendo da espécie bacteriana (DAÍ *et al.*, 2019). Elevadas concentrações de *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Helicobacter hepaticus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis* e *Porphyromonas gingivalis* foram relacionadas ao desenvolvimento de câncer CRC (GAGNIÈRE, 2016). Além de exercerem patogenicidade, os micróbios são conhecidos também por também realizar carcinogenicidade. Algumas espécies bacterianas podem desencadear o desenvolvimento de CCR através de vários mecanismos. A Tabela 1 apresenta alguns micro-organismos e suas implicações no CRC.

Tabela 1. Micro-organismos que podem apresentar favorecimento ao desenvolvimento do câncer colon retal (CRC).

Isolado bacteriano	Implicações no CRC	Referências
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Associadas ao aumento e multiplicidade do tumor e recruta seletivamente células mielóides que se infiltram no tumor, promovendo sua progressão.	Gagnière et al. (2016); Wang, Wang e Jia (2019)
<i>Bacteroides fragilis</i>	Síntese dos BFTs (Toxinas de <i>Bacteroides fragilis</i>). Esta ativa STAT3 e estimula a produção de IL-17, consequentemente promovendo a ativação da via NF- κ B e Wnt levando à formação de tumor.	Chung et al. (2018); Gagnière et al. (2016)
<i>Escherichia coli</i>	CDTs (toxinas da morte celular) liberados de <i>E. coli</i> patogênica. Contribui para a proliferação excessiva de células epiteliais normais, causando danos ao DNA e mudanças no genoma.	Tsoi et al. (2017); Gagnière et al. (2016)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bactéria facultativa, anaeróbia, comensal da cavidade oral e do trato gastrointestinal. Ele destrói DNA por meio de radicais livres (ROS; RNS (espécies reativas de oxigênio; espécies reativas de nitrogênio)).	Tsoi et al. (2017); Gagnière et al. (2016)
<i>Helicobacter hepaticus</i>	Bactéria gram-negativa patogênica. Esta causa a secreção de mediadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ).	Péré-Védrenne et al. (2017)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Bactéria de cocos anaeróbicos Grampositivos. Está envolvida no mecanismo que abrange a interação com TLR2 e TLR4 (receptor toll-like), ativação da sinalização de SREBP-2 (proteína 2 de ligação ao elemento regulador de esterol) e indução de estresse oxidativo.	Tsoi et al. (2017)
<i>Helicobacter pylori</i>	Bactéria gram-negativa. A infecção por CagA + <i>Helicobacter pylori</i> promove a secreção de gastrina que pode induzir a proliferação de células da mucosa no cólon.	Papastergiou, Karatapanis, Georgopoulos (2016); Gagnière et al. (2016)
<i>Streptococcus bovis</i>	Bactéria anaeróbia gram-positiva. O antígeno de <i>Streptococcus bovis</i> extraído da parede induz a expressão de COX-2, promovendo a proliferação celular e angiogênese, bem como inibindo a apoptose.	Gagnière et al. (2016)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Anaeróbio oral gram-negativo. Pode regular a atividade do inflamassoma NLRP3 (receptor 3 semelhante a Nod), portanto, desempenha um papel na progressão da neoplasia colorretal.	Wang, Wang e Jia (2019)

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Um estudo realizado na Escola de Medicina de Atenas na Grécia, feito em pacientes com CCR, com a administração de simbióticos (*Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* e *Lactobacillus plantarum*) pós-operatórios iniciais, demonstrou ter um efeito benéfico na função gastrointestinal pós-colectomia, bem como pela melhora significativa dos sintomas de diarreia e constipação no primeiro momento de defecação, dor abdominal e

flatulência comparado com o grupo controle. O uso de probióticos após a cirurgia melhorou consideravelmente as populações microbianas intestinais (THEODOROPOULOS *et al.*, 2016).

Após a revisão de diversos artigos, Zene *et al.* (2017), perceberam que os simbióticos implicam em efeitos protetores a adenomas e carcinomas colorretais, bem como auxiliam a recuperação das respostas inflamatórias e imunológicas do organismo. Ressaltam que os mecanismos que levam os pro e prebióticos a inibir o desenvolvimento de câncer colorretal ainda é algo de investigação.

Yongzhi *et al.* (2016) em estudo duplo cego randomizado controlado por placebo, onde participaram 79 pacientes com diagnóstico de câncer colorretal esporádico, recebendo tratamento com probióticos (42) ou placebo (37) durante 12 dias consecutivos. Especificamente, os indivíduos que foram atribuídos ao grupo de probióticos, receberam os probióticos combinados: *Bifidobacterium longum* ($\geq 1,0 \times 10^7$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($\geq 1,0 \times 10^7$ UFC/g), e *Enterococcus faecalis* ($\geq 1,0 \times 10^7$ UFC/g) cinco dias antes e sete dias após a operação de ressecção. Os resultados mostraram que nos pacientes submetidos a ressecção, a administração de probióticos perioperatório influenciou significativamente na recuperação da função intestinal, e essa melhoria pode ser de importante significado clínico na redução das complicações infecciosas de curto prazo, tais como bacteremia.

Kasai *et al.* (2016) analisaram por sequenciamento a microbiota intestinal de 9 pacientes japoneses com câncer colorretal, tratados com suplementação isolada e em conjunto de pro e prebióticos. Os resultados mostraram que o uso da associação entre prebióticos e probióticos foi capaz de substituir a limpeza colônica pré-cirúrgica tradicional, auxiliando no aumento de fibrinogênio (fator ligado às cascatas de coagulação), na elevação de interleucina 6 (IL6) associada à resposta inflamatória, além de diminuir o tempo de interação nos pacientes que utilizaram apenas prebióticos isolados.

■ CONCLUSÃO

Em uma escala mundial, o câncer de cólon e reto é um dos tipos de câncer que mais se expande. Sendo que em homens é o terceiro tipo de câncer mais frequente diagnosticado e o segundo em mulheres.

O tratamento e a recuperação pós-cirúrgica ainda possuem muitas complicações, exigindo assim alternativas e opções de tratamento que reduzam estes efeitos.

A ingestão de probióticos em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos contra o CCR para a prevenção de infecções se mostrou promissor. A administração de probióticos, prebióticos ou simbióticos associada aos tratamentos pré e pós-operatórios do CCR intensificou os efeitos curativos, ainda, o uso de simbióticos obteve uma melhora no

tratamento e redução das complicações infecciosas de curto prazo, bem como uma melhor recuperação cirúrgica.

Como tratamento contra o CCR, a administração de prebióticos ou simbióticos reduz a disbiose intestinal, auxiliando na manutenção da microbiota intestinal, prevenindo e tratando doenças, minimizando as complicações relacionadas ao trato gastrointestinal e reduzindo os índices de câncer.

Uma microbiota intestinal estando saudável e equilibrada resultará em um desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, assegurando uma melhoria na qualidade de vida do indivíduo.

Apesar dos dados positivos encontrados, mais estudos são necessários sobre função dos probióticos na proteção da barreira imunológica intestinal e no tratamento pós cirúrgicos do CCR.

■ AGRADECIMENTOS

CNPq; Fundação Araucária; Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

■ REFERÊNCIAS

1. AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer facts & figures 2019. Atlanta: American Cancer Society, 2019. Disponível em <<https://www.cancer.org/content/dam/cancerorg/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2019/cancer-factsand-figures-2019.pdf>> Acesso em: 20 abr. 2021.
2. ARAÚJO, D.G.S.; VASCONCELOS, L.P.F.; LIMA, A.K.B.S.; MARTINS, A.M.; SOUSA, E.E.; VASCONCELOS, G.M.S. Alteração da microbiota intestinal e patologias associadas: importância do uso de prebióticos e probióticos no seu equilíbrio. **Temas em Saúde**. Volume 19, Número 4 ISSN 2447-2131, João Pessoa, 2019.
3. BOAS, F.B.R.V. **Obesidade e sua possível relação com a microbiota intestinal**. 2017. 19 f. TCC (Graduação em Biomedicina), Centro Universitário de Brasília - Uniceub Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Brasília, 2017.
4. BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A cancer journal for clinicians, Hoboken**, v. 68, n. 6, p. 394-424, Nov. 2018.
5. BRITO, A.S.; FERRAZ, R.R.N. Importância dos probióticos no equilíbrio da microbiota intestinal de recém-nascidos: síntese de evidências. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 11 – Ano: 2019.
6. CARDOSO, D.S.C. **Microbiota, probióticos e saúde**. Dissertação (Mestrado em Medicina), 64 f. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.
7. CHUNG, L. et al. Bacteroides fragilis toxin coordinates a pro-carcinogenic inflammatory cascade via targeting of colonic epithelial cells. **Cell Host Microbe**. 23(2):203–14.e5. 2018.

8. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Joint fao/who food standards programme codex committee on nutrition and foods for special dietary uses: proposal for new work on international prebiotic guidelines for use in foods and dietary supplements (prepared by sudan). Berlin, Germany, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-whocodexalimentarius/search/en/?-cx=018170620143701104933%3Aqq82jsfba7w&q=definition+of+prebiotics&cof=FORID%3A9>>. Acesso em: 08 abr. 21.
9. CONRADO, B.Á. et al. Disbiose intestinal em idosos e aplicabilidade dos probióticos e prebióticos. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, n. 36, p. 71-78, abr. 2018.
10. DAÍ, Z. et al. The role of microbiota in the development of colorectal cancer. **Int J Cancer**. 2019.
11. DE ANDRADE, P.R.C. et al. Probiotics as a preventive strategy for surgical infection in colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. **Transl Gastroenterol Hepatol**. 2017.
12. FDA. Food and Drug Administration. FDA developing improved methodology for determining purity of probiotic products. 2019. Disponível em: <<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/science-research-biologics/fda-developingimproved-methodology-determining-purity-probiotic-products>>. Acesso em: 08 abr. 21.
13. FURTADO, B.B.R.; FARIÑAS, L.O. *Lactobacillus acidophilus*: efeito funcional como adjuvante na terapia oncológica e prevenção ao desenvolvimento de Câncer Colorretal. **Brazilian Journal of Health Review**, 2021, ISSN: 2595-6825.
14. GAGNIÈRE, J.; et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. **World J Gastroenterol**. 2016 Jan;22(2):501–518. doi:10.3748/wjg.v22.i2.501. PMID: 26811603.
15. HEYDARI, Z. et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* probiotics on the expression of microRNAs 135b, 26b, 18a and 155, and their involving genes in mice colon cancer. **Probiotics Antimicrob Proteins**. 2019 Dec;11(4):1155–1162. doi:10.1007/s12602-018-9478-8. PMID: 30311185.
16. INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa I 2020 Incidência de Câncer no Brasil: INCA, 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-nobrasil>>. Acesso em: 20 abr. 2021.
17. KASAI, C.; SUGIMOTO, K.; MORITANI, I.; TANAKA, J.; OYA, Y.; INOUE, H. et al. Comparison of human gut microbiota in control subjects and patients with colorectal carcinoma in adenoma: terminal restriction fragment length polymorphism and nextgeneration sequencing analyses. **Oncol Rep** 2016.
18. KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA, K. Therapeutic methods of gut microbiota modification in colorectal cancer management – fecal microbiota transplantation. **Prebiotics, probiotics, and synbiotics** 11 : 6, 1518-1530, 2020.
19. KREBS, B. Prebiotic and synbiotic treatment before colorectal surgery – randomised double blind trial. *Coll Antropol*. Apr; 40(1):35–40, 2016.
20. KUUGBEE, E. et al. Structural change in microbiota by a probiotic cocktail enhances the gut barrier and reduces cancer via TLR2 signaling in a rat model of colon cancer. **Dig Dis Sci**. Oct;61(10):2908–2920, 2016.
21. LI, Y. et al. Prebiotic-induced anti-tumor immunity attenuates tumor growth. **Cell Reports**, 2020.

22. LIU, D. et al. Effects of probiotics on intestinal mucosa barrier in patients with colorectal cancer after operation: meta-analysis of randomized controlled trials. **Medicine**. 95(15):e3342, 2016.
23. PAPASTERGIOU, V.; KARATAPANIS, S.; GEORGOPOULOS, S.D. Helicobacter pylori e neoplasia colorretal: existe uma relação causal? **World J Gastroenterol**. 22 (2): 649 – 658, 2016.
24. PEREIRA, A.A.R.; LUSNE, A.P.I.; MACFADEM, H.H.L.A. Probióticos e prebióticos na prevenção e tratamentos de doenças. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S. l.], v. 22, n.3, p. 162-176, 2019.
25. PÉRÉ-VÉDRENNE, C. et al. The cytolethal distending toxin subunit CdtB of Helicobacter hepaticus promotes senescence and endoreplication in xenograft mouse models of hepatic and intestinal cell lines. **Front Cell Infect Microbiol**. Jun 30; 7:268, 2017.
26. RAMIREZ, A.V.G. A importância da microbiota no organismo humano e sua relação com a obesidade. **International Journal Of Nutrology**, v. 10, n. 4, p.153-160. São José do Rio Preto, 2017.
27. SANTOS, K.E.R.; RICCI, G.C.L. Microbiota intestinal e a obesidade. **Revista Uningá Review**, v. 26, n. 1, p.74-82. Maringá, 2016.
28. THEODOROPOULOS, G.E. et al. Synbiotics and gastrointestinal function-related quality of life after elective colorectal cancer resection. **Annals of gastroenterology** vol. 29,1 56-62, 2016.
29. TRENNEPOHL, F.T.N. et al. Prebióticos e probióticos e os estudos de nutrigenética e nutrigenômica. **Boletim Técnico-científico: IF Farroupilha**, v. 5 n. 2, 2019.
30. TSOI, H. et al. *Peptostreptococcus anaerobius* induces intracellular cholesterol biosynthesis in colon cells to induce proliferation and causes dysplasia in mice. **Gastroenterology**. May;152(6):1419–1433.e5, 2017.
31. WANG, Z.; WANG, X.; JIA, Y. Promotes colorectal cancer development by regulating NLRP3 inflammasome signaling. **AACR Annu Meet**. Jul; 79 (13): 2358, 2019.
32. YONGZHI, Y.; YANG, X.; HONGQI, C.; LEIMING, H.; JUNLAN, F.; JUN, Y. et al. The effect of perioperative probiotics treatment for colorectal cancer: short term outcomes of a randomized controlled trial. **Journal List Oncotarget**, Shanghai, 2016.
33. ZENE, K.L. et al. Ação de prebióticos e próbióticos em indivíduos com câncer colorretal: revisão integrativa. **Revista Uningá Review**, [S.l.], v. 29, n. 3, mar. 2017.

Qualidade microbiológica da água para fins de aquicultura no estado do Maranhão: levantamento das análises realizadas em laboratório de controle da qualidade no período de 2015 a 2021

| **Liliane do Socorro Almeida Alves**
UEMA

| **Luciana da Silva Bastos**
UEMA

| **Luciana Barros Oliveira**
UEMA

| **Danilo Cutrim Bezerra**
UEMA

| **Kelly Fernanda de Sousa Santos**
UEMA

| **Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra**
UEMA

| **Greiciene dos Santos de Jesus**
UEMA

| **Selma Patrícia Diniz Cantanhede**
UEMA

| **Glaudhevan Aguilheira Pereira de Sousa**
UEMA

| **Nancyleni Pinto Chaves Bezerra**
UEMA

RESUMO

A aquicultura é uma atividade que tem crescido de forma acelerada nos últimos anos. Considerando esse crescimento é importante avaliar a qualidade sanitária do processo produtivo, bem como possíveis impactos da aquicultura no ambiente. **Objetivo:** Nesse sentido, realizou-se o presente estudo, com o objetivo de fazer um levantamento sobre a qualidade microbiológica de águas para fins de aquicultura do estado do Maranhão, no período de 2015 a 2021, utilizando os laudos do laboratório de microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão. **Método:** Durante o período do levantamento, foram analisadas 49 amostras de águas com fins de aquicultura, sendo 94,88% (n = 46) destas oriundas de pisciculturas do estado. **Resultados:** Do total de amostras analisadas, 79,60% (n = 39) estavam em desconformidade com a legislação brasileira para o parâmetro coliformes termo tolerantes. Foram identificados coliformes totais e bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em 89,80% (n = 44) das amostras. **Conclusão:** Conclui-se que as águas avaliadas no período de 2015 a 2021 e utilizadas para fins de aquicultura no estado do Maranhão estão impactadas nos parâmetros microbiológicos. Logo, para que os organismos cultivados consigam expressar suas características produtivas ao máximo, atenção especial deve ser dada a qualidade da água em que esses são mantidos, já que parâmetros microbiológicos são importantes indicadores de poluição e contaminação e afetam atividades fisiológicas fundamentais das espécies.

Palavras-chave: Recursos Hídricos, Piscicultura, Coliformes, Contaminação.

■ INTRODUÇÃO

O Brasil possui potencial para se tornar um dos maiores produtores mundiais de organismos aquáticos já que apresenta características favoráveis como: abundância em recursos hídricos, maior reserva de água doce do planeta Terra, além de uma costa litorânea com extensão de mais de oito mil quilômetros, dimensão proporcional ao tamanho da Amazônia. Com todo este potencial inexplorado, o Brasil é um dos poucos países que tem condições de atender à crescente demanda mundial por pescado, sobretudo, oriunda da aquicultura (SIDONIO *et al.*, 2012; VALENTI *et al.*, 2021; XIMENES, 2021).

No ano de 2019, a produção pesqueira no Brasil foi superior a 800 mil toneladas e a expectativa, de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), é de crescimento da aquicultura brasileira em cerca de 32% até o ano de 2030 (FAO, 2020; VALENTI *et al.*, 2021).

O Nordeste brasileiro, que ocupa a segunda posição no cenário nacional na produção de peixes, atrás apenas da região Sul, possui condições adequadas para a produção de organismos aquáticos em cativeiro. No Brasil, a produção desses organismos acontece, principalmente em viveiros, açudes ou tanques rede e, a região Nordeste além de todo potencial dulcícola (açudes e reservatórios), ainda apresenta vasta extensão litorânea, características que favorecem não apenas o desenvolvimento da piscicultura em água doce, como também marinha (VIDAL, 2016; OLIVEIRA; PEDROZA-FILHO, 2020; PEDROZA-FILHO; FERREIRA-FILHO; PENA-JÚNIOR, 2020).

Mesmo se recuperando de estiagens que se prolongaram até o ano de 2017, a aquicultura nordestina apresentou grande desenvolvimento nos últimos anos, principalmente a piscicultura com o cultivo da tilápia que se não fossem os prejuízos causados pela intempérie natural, a Região poderia ter se tornado a maior produtora nacional nesse ramo da aquicultura. Nesse interim, destaca-se também a carcinicultura com a produção do *Litopenaeus vannamei* (camarão marinho) predominante nesta área do Brasil (VIDAL, 2016; PEDROZA-FILHO; FERREIRA-FILHO; PENA-JÚNIOR, 2020; XIMENES, 2021).

O estado do Maranhão é o quarto maior produtor de peixes nativos do Brasil, com produção estimada em 23.850 toneladas, o que corresponde a 95% de sua capacidade produtiva, segundo relatório da Associação Brasileira de Piscicultura do ano de 2018. Estratégias bem construídas e medidas de apoio à atividade pesqueira convergiram para a consolidação do estado como um dos principais estados produtores de peixes cultivados da região Nordeste. As principais espécies cultivadas são tambaqui, tambatinga, curimatã, piau e pacu (todos peixes nativos), além da tilápia. Essa última representa 51,7% da produção nacional (MARANHÃO, 2019).

Mas, para que a aquicultura se desenvolva de forma rentável, sanitariamente correta e com a maximização de seu potencial produtivo, a qualidade da água figura como um desafio a ser enfrentado; para isso, o monitoramento adequado e constante dos parâmetros de qualidade (físico, químicos e microbiológicos) devem se constituir em atividades rotineiras e possuir continuidade (LEIRA *et al.*, 2017; SOUZA; SOARES, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2021).

A má qualidade da água pode comprometer completamente a produção, favorecer a ocorrência de agentes infecciosos e parasitários e mortalidade dos organismos cultivados. Agentes de doenças infecciosas e parasitárias podem também afetar os humanos, já que determinados contaminantes e patógenos podem ser transferidos através dos níveis tróficos (LEIRA *et al.*, 2017; LEBEL; LEBEL; CHUAH, 2019; HLORDZI *et al.*, 2020).

As condições físicas, químicas e microbiológicas da água utilizadas na aquicultura devem ser ideais para a finalidade produtiva. Portanto, controlar a qualidade do ambiente de cultivo é indispensável para o sucesso da aquicultura, considerando que o monitoramento constante dos parâmetros da água ajuda a prevenir tantos danos a produção quanto impactos ao meio ambiente (LEIRA *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2019; SATIRO; PAULA, 2020). Nesse sentido, objetivou-se com o estudo realizar o levantamento da qualidade microbiológica de amostras de água para fins de aquicultura executadas em laboratório de controle de qualidade, no período de 2015 a 2021.

■ MATERIAL E MÉTODOS

Levantamento de Dados

No presente estudo foram avaliados os laudos microbiológicos fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, referentes à análise de rotina, desenvolvidas nos últimos sete anos (janeiro de 2015 a dezembro de 2021). Os dados obtidos foram organizados em planilha com a utilização do *Microsoft Excel*® (2010).

A análise retrospectiva avaliou informações referentes ao Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes em amostras de água analisadas pela técnica dos tubos múltiplos, além da enumeração de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas pela técnica do plaqueamento em profundidade de 1 mL das diluições decimais (10^{-1} a 10^{-3}) utilizando Ágar Padrão para Contagem (PCA).

Análise dos Dados

As informações levantadas foram armazenadas em um banco de dados utilizando o programa *Microsoft Access*®. Os resultados microbiológicos foram confrontados com os padrões estabelecidos na Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357, de 2005 (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, estabelecendo limites individuais aos parâmetros microbiológicos analisados. Utilizou-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa para expressar os dados levantados nesse estudo.

Autorizações Técnicas e Governamentais

O presente estudo teve permissões especiais da UEMA por meio da Chefia do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água. Nenhuma informação que pudesse violar a privacidade dos responsáveis pelas criações e amostras analisadas foi acessada.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo, foram avaliados 49 laudos microbiológicos nos sete anos de levantamento. A Tabela 1 sumariza o total de amostras avaliadas por ano e o ramo da aquicultura de origem das amostras.

Tabela 1. Amostras de água para fins de aquicultura do estado do Maranhão analisadas no período de 2015 a 2021.

Ano	Ramo da Aquicultura			Total
	Carcinicultura	Ostreicultura	Piscicultura	
	Amostras de Água			
N	N	N		
2015	01	00	01	02
2016	00	00	03	03
2017	00	01	05	06
2018	01	00	04	05
2019	00	00	23	23
2020	00	00	05	05
2021	00	00	05	05
Total	02	01	46	49

Onde: N= número de amostras de água

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

De maneira geral, pode-se inferir que o total de amostras de água para fins de aquicultura analisadas por ano se manteve praticamente constante, sem grandes variações, à exceção do ano de 2019 onde foram analisadas 23 amostras, representando 46,94% do total de amostras analisadas no período do levantamento. O maior quantitativo analisado nesse

ano pode estar relacionado à investimentos na expansão da aquicultura no Maranhão nos últimos anos. Porém, a redução na quantidade de amostras analisadas, nos anos subsequentes, pode estar associada à pandemia do Sars-Cov-2 (novo coronavírus) que instaurou uma crise sem precedentes mudando fortemente cenários e formas de produção, comercialização e distribuição de produtos.

Nos sete anos de levantamento, o maior número de amostras de água analisadas envolveu a piscicultura, totalizando 94,88% (n = 46) das amostras (Tabela 1), associado possivelmente, ao fato de ser o ramo da aquicultura mais desenvolvido e com maior número de produtores rurais. De acordo com informações disponíveis do governo do estado do Maranhão, a aquicultura é uma das dez cadeias produtivas prioritárias do Programa “Mais Produção” (MARANHÃO, 2017). O estado do Maranhão ocupa a quinta posição no *ranking* nacional entre os 10 estados mais produtivos no cultivo de peixes em 2020, atingindo um quantitativo de 47.700 toneladas, que alocou o estado na 1ª posição da região Nordeste evidenciando crescimento expressivo de 6% quando comparado ao ano anterior (PEIXES BR, 2021).

No tocante à discussão de parâmetros de qualidade da água, a Resolução CONAMA 357/2005 estabelece para coliformes termotolerantes que em 80% ou mais de pelo menos seis amostras coletadas durante um ano, não deverá ser excedido o limite de 1.000 NMP/100 mL. Apesar dos dados obtidos não constituírem o plano de amostragem estabelecido nesse ato normativo, por se tratar de um levantamento retrospectivo, os resultados microbiológicos evidenciam valores médios desse grupo de micro-organismos acima do limite estipulado em 79,60% (n = 39) das amostras analisadas. Destas, 94,87% (n = 37/39) eram oriundas de piscicultura, 2,56% (n = 01/39) de carcinicultura e 2,56% (n = 01/39) da ostreicultura.

Tabela 2. Parâmetros microbiológicos de 49 amostras de água para fins de aquicultura do estado do Maranhão analisadas no período de 2015 a 2021.

Ano	Amostras	Parâmetros Microbiológicos					
		Coliformes a Totais		Coliformes Termotolerantes		Heterotróficas Aeróbias Mesófilas	
		N	%	N	%	N	%
2015	02	02	100	02	100	02	100
2016	03	02	67	01	33	02	67
2017	06	06	100	06	100	06	100
2018	05	04	80	02	40	04	80
2019	05	05	100	02	40	05	100
2020	23	23	100	21	91	23	100
2021	05	05	100	05	100	05	100

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Os micro-organismos do grupo coliformes termotolerantes são indicadores de possível contaminação de origem fecal, ou seja, contaminação por organismos que ocorrem em

grande número na microbiota intestinal humana e em animais homeotérmicos. Apesar de alguns trabalhos relatarem a presença de coliformes no trato intestinal de peixes, estes não integram o microbioma intestinal dessa classe de vertebrados (SOUZA *et al.*, 2011), o que permite a utilização deste parâmetro microbiológico para a avaliação das condições higiênico-sanitárias da água onde o peixe se encontra. Vasconcellos, Iganci e Ribeiro (2006) e Santos *et al.* (2020) destacam que águas com concentração de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação não devem ser utilizadas para a aquicultura e outras atividades, como a irrigação de frutas e hortaliças que se desenvolvem rente ao solo, que não sejam removidas a casca ou película protetora.

Bactérias do grupo coliformes ocorrem em grande número na microbiota intestinal humana e de animais homeotérmicos e a água funciona como um veículo de disseminação e contaminação, fortemente associado às características locais (ALVES *et al.*, 2021).

Quanto ao parâmetro de coliformes totais, 89,80% (n = 44) das amostras apresentaram altas concentrações desse grupo de micro-organismos, com populações bacterianas que ultrapassaram 2.419,6 NMP/100 mL. De acordo com El-Shafai, Nasr e El-Gohary (2004) e Lorenzon *et al.* (2021), a composição microbiológica da água de cultivo reflete na variedade de bactérias presentes nas diferentes partes do peixe (exemplo: pele, brânquias, fluido intestinal etc.), mas não indica diretamente a presença de patógenos. No entanto Liuson (2003) e Alves *et al.* (2018) relatam que a quantificação dos coliformes totais serve como indicativo da qualidade higiênica e informa sobre o grau de poluição microbiana a que estão expostos os peixes ao longo da cadeia produtiva.

Para Souza *et al.* (2011) e Sá e Bandeira (2020), os indicadores higiênicos ao longo de todo o processo na produtivo de peixes (criação, engorda e manipulação) são úteis para mostrar a existência de falhas sanitárias no próprio processo como nos tratamentos que visam eliminar os micro-organismos existentes.

A enumeração de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em grande quantidade das amostras analisadas (89,80%; n = 44) reflete a qualidade sanitária das águas utilizadas nos cultivos. Para Souza *et al.* (2011) e Araújo e Lima (2020), esse grupo de micro-organismos pode ser utilizado no monitoramento operacional como um indicador de tratamento, desinfecção e qualidade microbiológica da água, visto que sua ocorrência em grandes quantidades, está ligada ao não tratamento ou tratamento inadequado da água e também a ambientes eutrofizados.

Tundisi e Tundisi (2008) e Sousa e Soares (2020) relataram que a aquicultura pode chegar, em determinados casos, a tornar-se um sério fator poluidor do meio ambiente. Tudo que entra nas unidades de cultivo (ração, fertilizantes, medicamentos, entre outros.) retorna de alguma forma ao meio-ambiente. O aporte desordenado desses insumos pode resultar

na má qualidade da água prejudicando não só a flora e a fauna aquática, como a população que vive do abastecimento.

Em uma análise comparativa entre os parâmetros: coliformes termotolerantes, coliformes totais e bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, verifica-se que 100% das amostras com quantificação de coliformes termotolerantes acima do estabelecido na legislação brasileira, também apresentavam populações bacterianas elevadas para os outros dois outros parâmetros microbiológicos. Portanto, esses resultados sugerem a inexistência de um controle rígido de higiene durante o manejo e a manipulação dos produtos originados dessa atividade, com a possibilidade de transferência de bactérias da água para o peixe e seus derivados.

Penha *et al.* (2018) e Lorenzon *et al.* (2021) ressaltam que existem poucas informações sobre como é realizado o manejo nas estações de piscicultura e suas consequências para a qualidade da água e sanidade dos peixes cultivados e destinados ao consumo. Essa falta de informação e formação de mão-de-obra qualificada sinaliza para a necessidade de estudos que possam assegurar a sustentabilidade da atividade.

Apesar da importância do monitoramento da qualidade microbiológica da água percebe-se pouca procura dos aquicultores maranhenses por análises microbiológicas de rotinas que pode estar associada a diferentes situações, mas, que o objeto e metodologia utilizadas neste estudo não permitem fazer inferências. Porém, ressalta-se a necessidade de conscientização dos proprietários e funcionários do ramo da aquicultura no estado do Maranhão, bem como o acompanhamento por profissionais para avaliar a qualidade microbiológica da água ao longo da cadeia produtiva. Essa ação conjunta é indispensável para que a aquicultura não se torne um problema ambiental e de saúde pública no estado do Maranhão.

■ CONCLUSÕES

Conclui-se que as águas avaliadas no período de 2015 a 2021 e utilizadas para fins de aquicultura no estado do Maranhão estão impactadas nos parâmetros microbiológicos. Logo, para que os organismos cultivados consigam expressar suas características produtivas ao máximo, é necessária atenção especial ao monitoramento da água em que esses organismos são cultivados, já que parâmetros microbiológicos da água são importantes indicadores de poluição e contaminação e afetam o desenvolvimento morfológico e fisiológico, fundamentais das espécies em sistema de cultivo aquícola.

■ REFERÊNCIAS

1. ALVES, R. I.; MACHADO, C. S.; BEDA, C. F.; FREGONESI, B. M.; NADAL, M.; SIERRA, J.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Water quality assessment of the Pardo River Basin, Brazil: A multivariate approach using limnological parameters, metal concentrations and indicator bacteria. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, n. 2, p. 199-212, 2018.
2. ALVES, M. H. D.; MONTEIRO, G. C.; JUNIOR, P. M. S.; JUNIOR, L. C. M. M.; PEREIRA, S. F. P.; COSTA, A. R. S.; FAIAL, K. C. F.; SANTOS, L. P.; TEIXEIRA, O. M. M.; GONÇALVES, A. C. S.; ROCHA, R. M. Saneamento e qualidade da água de consumo: Comunidade do Segredinho, Amazônia, Pará. **Nature and Conservation**, v. 14, n. 2, p. 100-110, 2021.
3. ARAÚJO, R. L.; LIMA, J. P. Qualidade microbiológica da água em sistemas de cultivo de tambaqui na região metropolitana de manaus e sua relação com as práticas de manejo. **REVISTA IGAPÓ-Revista de Educação Ciência e Tecnologia do IFAM**, v. 14, n. 1, 2020.
4. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 18 Mar. 2005. Seção Resoluções, p. 19, 2005.
5. EL-SHAFAI, S. A.; NASR, F. A.; EL-GOHARY, F. A. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environmental Research**, v. 95, p. 231-238, 2004.
6. FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Aquicultura. **Coleções Estatísticas da Pesca**. Produção Global de Aquicultura, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>. Acesso em: 07 de janeiro de 2022.
7. HLORDZI, V.; KUEBUTORNYE, F. K; AFRIYIE, G.; ABARIKE, E. D.; LU, Y.; CHI, S.; ANOKYEWAA, M. A. The use of *Bacillus species* in maintenance of water quality in aquaculture: a review. **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 1-12, 2020.
8. LEBEL, L.; LEBEL, P.; CHUAH, C. J. Governance of aquaculture water use. **International Journal of Water Resources Development**, v. 35, p. 659-681, 2019.
9. LEIRA, M. H.; CUNHA, L. T.; BRAZ, M. S.; MELO, C. C. V.; BOTELHO, H. A.; REGHIM, L. S. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **PUBVET**, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2017.
10. LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella spp.* em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. 2003. 93 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses). Universidade de São Paulo, 2003.
11. LORENZON, C. S.; JUNIOR, P. G.; NUNES, A. P.; PINTO, F. R.; SCHOLTEN, C.; HONDA, S. N.; AMARAL, L. A. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 617-624, 2021.
12. MARANHÃO. **Produção de pescados recebe incentivo no Maranhão**. 2007. Disponível em: <https://jornalpequeno.com.br/2017/04/14/producao-de-pescados-recebe-incentivos-no-maranhao/>. Acesso em: 07 de janeiro de 2022.

13. MARANHÃO. **Maranhão é um dos maiores produtores de peixe do Nordeste**. 2019. Disponível em: <http://www.ma.gov.br/agenciadenoticias/desenvolvimento/maranhao-e-um-dos-maiores-produtores-de-peixe-do-nordeste>. Acesso em: 27 jan. de 2022.
14. NASCIMENTO, I. T. V. S.; PEREIRA, N. J.; MARTINS, R. S.; MELO, T. A.; SANTOS, D. M. S.; SERRA, I. M. R. S. Quality of water from fish farms and histopathological analysis of tilapia (*Oreochromis* sp.) in São José de Ribamar and Paço do Lumiar, state of Maranhão, Brazil. **Aquaculture Research**, v. 52, p.4217-4226, 2021.
15. OLIVEIRA, B.; PEDROZA-FILHO, M. X. Perspectivas para o desenvolvimento da cadeia produtiva da piscicultura no Tocantins. **Revista Humanidades e Inovação**, v. 7, n. 14, p. 8-17, 2020.
16. PEIXE-BR. Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário PeixeBR da Piscicultura**. 2021. Edição Texto Comunicação Corporativa.
17. PENHA, I. C. S.; SILVA, H. M. L.; MENDES, K. F. M.; SILVA, F. B. A.; ASSIS, A. S. Piscicultura de água doce, utilizando o tambaqui (*Colossoma macropomu*, Cuvier, 1818), como espécie principal (Belém-PA). **Revista Valore**, v. 3, p. 9-19, 2018.
18. PEDROZA-FILHO, M. X.; FERREIRA-FILHO, J. B. S.; PENA-JÚNIOR, M. A. G. Impactos socioeconômicos da aquicultura no Brasil: análise a partir da matriz de contabilidade social. **Revista Economia do Nordeste**, Fortaleza, v. 51, n. 4, p. 159-176, 2020.
19. SÁ, L. P.; BANDEIRA, M. G. A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos de artesanato comercializados em três municípios da região Tocantina do Maranhão. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 35881-35897, 2020.
20. SANTOS, E. J. R.; GALENO, L. S.; BASTOS, L. S.; COSTA, T. F.; CARVALHO, I. A.; COSTA, F. N. Qualidade higiênico-sanitária de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís - MA. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, 2019.
21. SANTOS, T. L.; CUNHA, C. V.; CAMPOS, A. C. V.; SANTOS, S. C. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em comunidades ribeirinhas de Itupiranga-PA, Brasil. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 9005-9020, 2020.
22. SATIRO, T. M.; PAULA, D. A. J. Limnologia aplicada a piscicultura para pequenos produtores da zona da mata mineira: uma integração de saberes. **Revista Científica Rural**, v. 22, n. 1, p. 54-68, 2020.
23. SOUZA, G. M. D. DE.; RICIETO, A. P. S.; VILAS-BÔAS, G. T.; GIORDANO, L. G. P.; VILAS-BÔAS, L. A. Análise da qualidade microbiológica da água, ao longo da cadeia produtiva de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), na região norte do estado do paraná. In: VII Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar **Anais...**2011.
24. SOUZA, F. C.; SOARES, J. L. F. Análise da qualidade da água de uma piscicultura tradicional da comunidade do guajará no município de Cametá-PA. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 3964-3976, 2020.
25. SOUZA, J. P.; SPOSITO, J. C. V.; CRISPIM, B. A.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA, K. M. P.; KUMMROW, F.; NASCIMENTO, V. A.; MONTAGNER, C. C.; VIANA, L. F.; SOLÓRZANO, J. C. J.; BARUFATTI, A. From collection to discharge: physical, chemical, and biological analyses for fish farm water quality monitoring. **Ecotoxicology**, v. 28, p. 13-25, 2019.

26. SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES-JÚNIOR, A. J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, 35, p. 421-463, 2012.
27. TUNDISI J. G.; TUNDISI, T. M. Limnologia. **Oficina de Textos**, 2008. 632 p.
28. VASCONCELLOS, F. C. da S., IGANCI, J. R.V., RIBEIRO, G. A. Qualidade microbiológica da água do rio são Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 177-181, 2006.
29. VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; VALENTI, P. M.; BUENO, G. W.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 1-18, 2021.
30. VIDAL, M. F. Panorama da piscicultura no Nordeste. **Caderno Setorial ETENE**. Fortaleza: Banco do Nordeste, ano 1, n. 3, p.13-17, 2016.
31. XIMENES, L. F. Produção de pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro. **Caderno Setorial ETENE**. Fortaleza: Banco do Nordeste, ano 5, n. 150, p. 1-16, 2021.

Qualidade microbiológica de queijos produzidos com leite de cabra

| **Verônica Schmidt**
UFRGS

| **Andrea Polidori Celia**
UPF

| **Juliana Velasco**
UFRGS

RESUMO

Objetivo: identificar a qualidade microbiológica de queijos com diferentes processos de produção elaborados com leite de cabra. **Metodologia:** Oito queijos, produzidos em um laticínio do Rio Grande do Sul, foram analisados de acordo com a legislação vigente para pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. e quantificação de coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos totais e *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP). **Resultados:** Determinou-se ausência de coliformes termotolerantes, salmonelas e *Listeria* spp. em todos os produtos analisados. Verificou-se a presença de SCP (2×10^2 a $4,2 \times 10^3$ UFC.g⁻¹) em seis amostras, coliformes totais ($2,0 \times 10^3$ NMP.g⁻¹) em apenas uma amostra e micro-organismos mesófilos aeróbios ($8,8 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹) nas oito amostras. **Conclusões:** Seis amostras foram consideradas impróprias para consumo pela elevada contagem de SCP, sendo este o agente mais frequentemente associado à contaminação de queijos.

Palavras-chave: *Staphylococcus*, Queijo Frescal, Queijo Boursin.

■ INTRODUÇÃO

O consumo dos produtos oriundos do leite caprino vem crescendo nos últimos anos, pois este é um alimento de excelente valor nutritivo e alta digestibilidade (SILVA *et al.*, 2007).

O queijo é o produto de maior interesse tecnológico e econômico produzido com leite de cabra, sendo que grande parte da produção mundial do leite desta espécie é destinada à fabricação de queijos. Na França, 80% da produção de leite desta espécie é transformada em queijos de diferentes tipos (SANTOS, 2011).

No Brasil, a fabricação de queijos de leite de cabra é recente e os queijos mais conhecidos são o tipo frescal, o tipo *boursin*, o *quark* e o *petit suisse* (MONTINGELLI, 2005).

Entre os parâmetros de qualidade dos queijos, encontram-se os indicadores microbiológicos. O controle da contaminação microbiana tem início na matéria-prima, ou seja, na produção do leite desde a ordenha, o ambiente, os equipamentos e as pessoas, pelo atendimento às Boas Práticas de produção (LANGE; BRITTO, 2003). Por outro lado, a recontaminação ou contaminação cruzada durante o processamento pode ser um fator importante na qualidade final do produto, principalmente em queijos tipo frescal, nos quais não existe uma etapa de maturação. Dessa forma, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanitização durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade (PICOLI *et al.*, 2006).

Os micro-organismos indicadores podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida útil ou à inocuidade, devido à presença de patógenos alimentares (JAY, 2005). Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi determinar a qualidade microbiológica de queijos elaborados com leite de cabra produzidos em um laticínio de agrofamiliar no Rio Grande do Sul e comercializados em uma feira de produtores.

■ MATERIAL E MÉTODOS

Em um laticínio com pequena escala de produção (beneficiamento de 150 litros de leite, concentrada em um dia na semana) adquiriram-se oito amostras de queijos. Os produtos foram identificados como: 1 – queijo tipo *boursin* com shanklish; 2 – tipo *boursin* com adobo; 3 – tipo *quark*; 4 – tipo *boursin* com alho e orégano; 5 - tipo *boursin* com ervas finas; 6 – tipo frescal; 7 – tipo Le Pavé; 8 - tipo Tomme de Chèvre. Os produtos eram comercializados em uma feira agroecológica, sendo os queijos tipo *boursin*, frescal e tipo *quark* em peças inteiras e os queijos tipo Le pavê e Tomme de chèvre, em cunhas e embaladas à vácuo no próprio laticínio.

Realizou-se a pesquisa de *Salmonella* e *Listeria* e a quantificação de coliformes, mesófilos totais e *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) de acordo com a IN 62/2003 (BRASIL,

2003). As contagens microbiológicas foram expressas como \log_{10} UFC.g⁻¹ e a pesquisa de *Salmonella* e *Listeria* expressa em presença ou ausência em 25 g. Os resultados foram avaliados através de estatística descritiva e, para interpretação dos resultados, seguiu-se a RDC 331/2019 (BRASIL, 2019a) e IN 60/2019 (BRASIL, 2019b).

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras analisadas, verificou-se ausência de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e *Listeria* spp.

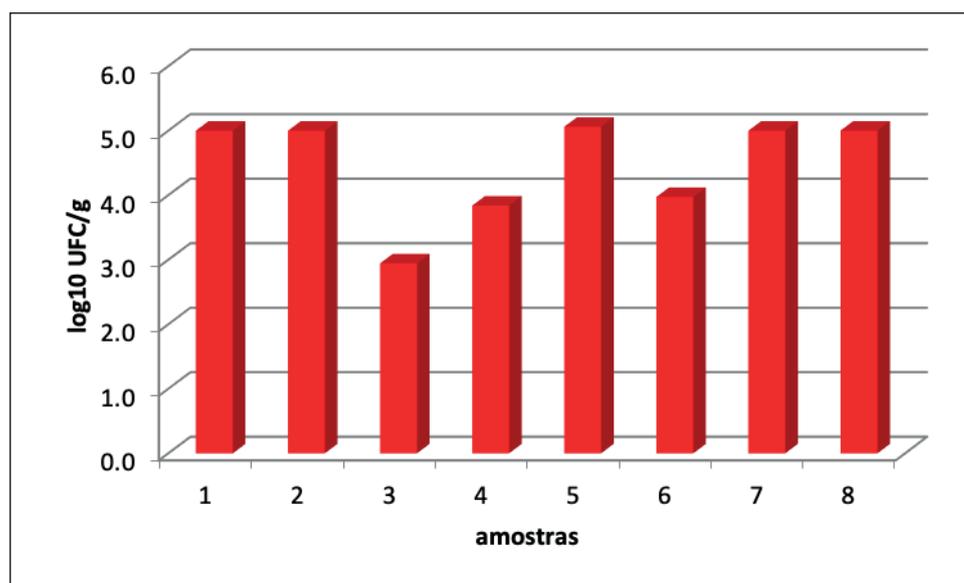
O leite e seus derivados podem ser veículos propícios para o crescimento de micro-organismos, inclusive os patogênicos (JAY, 2005). Surtos envolvendo queijos têm sido relatados com frequência como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (ZOTTOLA; SMITH, 1991). Dentre os surtos causados por produtos lácteos, os queijos frescais são considerados os de maior risco e já foram envolvidos em vários surtos (BORGES *et al.*, 2009). Nos derivados de leite de cabra, a presença de *Listeria* spp. (RAMOS; COSTA, 2003; DUARTE *et al.*, 2005) e *Salmonella* spp. (DUARTE *et al.*, 2005) já foram relatadas em queijo coalho. Apesar disso, não há relatos de ocorrências de DTA por salmonelas veiculadas por produtos lácteos (GOTTARDI *et al.*, 2006; NADVORNY *et al.*, 2004).

Micro-organismos do grupo coliformes, especialmente os termotolerantes, são indicadores de qualidade insatisfatória de alimentos (PICOLI *et al.*, 2006). De acordo com a IN 62/2003 (BRASIL, 2003), a ausência de *Listeria* spp. *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes são indicadores de um produto inócuo.

Identificou-se a presença de coliformes totais ($2,0 \times 10^3$ NMP.g⁻¹) apenas no queijo tipo frescal e em contagem superior à estabelecida na legislação brasileira (máximo 10^2 NMP.g⁻¹) (BRASIL, 2019b). Contagens elevadas de coliformes totais, frequentemente descritas em queijo minas frescal, podem reduzir a vida útil pela deterioração do produto e são indicativos de falhas nos procedimentos de higiene (FERREIRA *et al.*, 2011b). Nos produtos derivados de leite de cabra, este grupo de micro-organismos foi descrito em queijo coalho (EUTHIER *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2011).

Verificou-se grande variabilidade nas contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios ($9,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹) nos queijos analisados (Figura 1).

Figura 1. Contagens (Log_{10} UFC.g⁻¹) de micro-organismos mesófilos aeróbios em oito amostras de queijos produzidos com leite de cabra.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

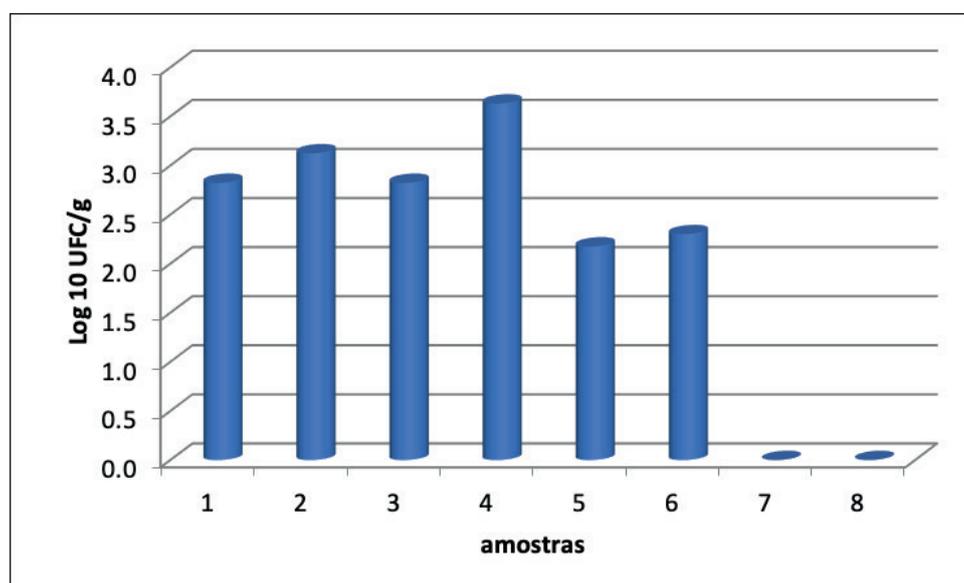
Embora contagens elevadas desses micro-organismos tenham sido relatadas em queijos elaborados com leite de cabra tipo coalho (EUTHIER *et al.*, 1998; SOUSA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2011) e tipo frescal (QUEIROGA *et al.*, 2009), o fato de a cultura láctica utilizada na fermentação do leite para produção de queijos ter características de micro-organismos mesófilos, pode ter contribuído para as contagens elevadas nos queijos analisados (CAVALCANTE *et al.*, 2007). No leite de cabra cru são permitidos até 5×10^5 UFC.mL⁻¹ de micro-organismos mesófilos (BRASIL, 2000) entretanto, não há indicação de contagens deste grupo de micro-organismos para queijos, na legislação vigente. Ainda assim, o número de micro-organismos mesófilos aeróbios em alimentos é apontado como um dos indicadores de qualidade higiênico-sanitária (FRANCO; LANDGRAF, 1996), mais comumente utilizado para avaliação dos processos de higienização e desinfecção, na produção, transporte e armazenamento dos alimentos.

Embora a grande quantidade destes micro-organismos não indique potencial risco de agravos à saúde, sua presença tem importância sobre a vida útil dos alimentos. A alta contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios verificada nos queijos analisados poderia comprometer a sua aptidão ao consumo, do ponto de vista sensorial.

Em seis amostras identificou-se a presença de SCP ($1,5 \times 10^2$ a $4,2 \times 10^3$ UFC.g⁻¹) e, em duas, este micro-organismo não foi detectado (Figura 2). Embora o processo de pasteurização do leite auxilie na eliminação da maior parte das bactérias no leite, este processo não elimina as toxinas que, por sua vez, podem causar intoxicações alimentares nos consumidores (FOX, 1993), como é o caso das toxinas produzidas pelos SCP. SCP tem sido observado

em queijos não maturados produzidos com leite cru, como é o caso do queijo coalho natural (VIEIRA *et al.*, 2009) ou com condimentos (QUEIROGA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2011).

Figura 2. Contagens (Log_{10} UFC.g⁻¹) de *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) em oito amostras de queijos produzidos com leite de cabra.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos – Anexo II (BRASIL, 1996) – que estabelece que para queijos de média a alta umidade os valores máximos permitidos para estes micro-organismos deverão ser de 10^3 UFC.g⁻¹, os queijos identificados de 1 a 6 foram considerados impróprios para o consumo. Destes, quatro eram do tipo *boursin*, um tipo *quark* e um tipo frescal.

O queijo *boursin* é um queijo de origem francesa, classificado como fresco (consumo imediato), pastoso e ou semi-cremoso podendo ser adicionado de especiarias, frutas, geleias (QUEIJOS, 2012). É um queijo de coagulação ácida, em que o processo de coagulação é mais demorado e decorrente da ação de bactérias lácticas adicionadas, que provocam a diminuição do pH devido à intensa produção de ácido, principalmente láctico. Este processo produz um coágulo de característica própria, friável e de alta acidez. Tendo em vista seu processo produtivo, é caracterizado como queijo fresco, devendo ser consumido em curto espaço de tempo. Deve-se considerar, entretanto, que os condimentos e ervas são misturados à massa antes da enformagem, aumentando a manipulação do produto e favorecendo a contaminação cruzada, além de os próprios temperos se constituírem em fonte de contaminação microbiana decorrente do processo de higienização destes.

Para Queiroga *et al.* (2009), as variações encontradas nas contagens de micro-organismos observada em queijo tipo frescal temperado poderiam, possivelmente, estar relacionadas com a qualidade microbiológica dos condimentos adicionados, visto que tal aspecto

não é monitorado, bem como não há uma padronização de qualidade dos condimentos, enquanto matéria-prima.

De acordo com Rapini *et al.* (2005), a presença de cepas de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas a partir de diferentes sítios dos manipuladores, sugere a possibilidade de sua veiculação para os queijos de cabra, com risco à saúde pública.

O queijo Minas frescal encontra-se entre os queijos mais consumidos no Brasil. Apresenta massa crua, coloração esbranquiçada, consistência mole e textura fechada. É classificado como queijo fresco de muito alta umidade (55 a 58%), por ser processado em temperaturas de 32-35 °C, não ser submetido à cura e apresentar baixa percentagem de sal (SILVA, 2005; VISOTTO *et al.*, 2011). Este é um queijo obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997). A presença de contagens elevadas de SCP em Queijo frescal tem sido amplamente relatada no Brasil (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2000; BORGES *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2011a; SENGER; BIZANI, 2011).

O queijo tipo *quark* – que significa coalhada (TIMBERLEY; NORMAN, 1997) faz parte do grupo de queijos de massa fresca, que consiste em produtos lácticos acidificados, não maturados, consumidos logo após a fabricação e conservados, obrigatoriamente, sob refrigeração. No Brasil não existe, até o momento, um regulamento de identidade para esse produto e o processo de produção é semelhante ao queijo tipo *petit-suisse*, com características físico-químicas correspondentes aos queijos de muita alta umidade (AZEVEDO *et al.*, 2010; GONÇALVES, 2009). O queijo *petit-suisse* pode ser produzido a partir de uma massa-base de queijo *quark*, um produto originário do Leste e Centro da Europa, obtido tradicionalmente pela coagulação mista do leite por meio da adição de fermento iniciador (starter) e coagulante (coalho) (VIEIRA *et al.*, 2014). O queijo tipo *quark* elaborado com leite caprino, é um queijo cremoso comercializado em potes de 220 gramas.

Os queijos frescos (sem casca, com alto teor de umidade) estão prontos para comer em poucos dias ou até horas após serem produzidos. Queijos brancos de consistência macia (casca branca aveludada, interior cremoso) são considerados maduros a partir de 21 dias de maturação, conforme tamanho. Os queijos duros (de média ou baixa umidade, casca áspera ou lustrosa, friável a quebradiço) são considerados maduros a partir de algumas semanas até três anos após a fabricação. Os queijos temperados (cascas coloridas e exóticas, picantes ou doces) são combinados com frutas, especiarias ou ervas (HARBUTT, 2010).

Apenas os dois queijos, classificados como de média umidade encontravam-se aptos para consumo. O queijo *Tomme de Chèvre* é classificado como queijo branco duro (HARBUTT, 2010), produzido por coagulação enzimática (com coagulante) e uma dose de fermento láctico e maturação de 15 dias, com 44 a 46% umidade (QUEIJOS, 2012). Nos

queijos de coagulação enzimática, como tipo *Le Pavé* e tipo *Tomme de Chèvre* (amostras 7 e 8, respectivamente), em que o processo de coagulação é rápido e feito pelas enzimas do coalho, a massa é doce e compacta (TIBURCIO, 2012) o que dificulta a multiplicação de patógenos.

Pavé é um termo francês que, no contexto culinário, refere-se a um pedaço quadrado ou retangular. O queijo tipo *pavé* é um queijo fresco, macio casca levemente acinzentado, forma quadrada e sabor azedo, de massa semi-dura e maturação de quatro meses. O queijo tipo *Tomme de Chèvre*, de origem francesa, é um queijo maturado por seis a sete semanas (QUEIJOS, 2012).

■ CONCLUSÃO

O presente trabalho permitiu concluir que SCP é o agente mais frequentemente associado à contaminação de queijos elaborados com leite de cabra, podendo resultar em produto impróprio para alimentação humana. Os queijos maturados apresentam-se mais adequados ao consumo, embora possa haver prejuízos no que se refere ao tempo de vida útil devido a presença de bactérias mesófilas.

■ REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA FILHO, E.S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. **Rev Saúde Pública**, v.34, n.6, p.578-80, 2000.
2. AZEVEDO, V.M. et al. Caracterização química de queijo tipo *Quark*. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19, Lavras/MG, 2010. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/lavras/resumos/1926.pdf>>. Acesso em: nov. 2015.
3. BORGES, M.F. et al. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 31p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 119).
4. BORGES, M.F. et al. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas toxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo coalho. **Ciênc Rural**, v.38, n.5, p.1431-1438, 2008.
5. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 146**, de 7 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: out. 2016.
6. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 352**, de 04 de setembro 1997. Aprova o Regulamento Técnico Para Fixação e Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br>. Acesso em: mar. 2010.

7. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **IN nº 37**, de 31 de outubro de 2000. Institui o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=-consultarLegis_lacaoFederal>. Acesso em: jul. 2015.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 4**, de 1 de março de 2004. Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: out. 2012.
9. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **RDC Nº 331**, de 23 de dezembro de 2019a. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>>. Acesso em: nov. 2021.
10. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa Nº60**, de 23 de dezembro de 2019b. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: von. 2021.
11. CAVALCANTE, J.F.M. et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.27, n.01, p.205-214, 2007.
12. DUARTE, D.A.M. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arq Inst Biológico**, v.72, n.3, p.297-302, jul/set, 2005.
13. EUTHIER, S.M.F. et al. Condições higiênico-sanitárias do queijo de leite de cabra “tipo coalho”, artesanal elaborado no Carimataú Paraibano. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.18, n.2, p.176-178, 1998.
14. FERREIRA, R.M. et al. Pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET (on line)**, v.5, n.5, Art.1021, 2011a.
15. FERREIRA, R.M. et al. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET (on line)**, v.5, n.5, Art.1022, 2011b.
16. FOX, P.F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. London: Chapman & Hall, 1993. 463 p.
17. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 181 p.
18. GONÇALVES, M.M. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico**. 2009. 76f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
19. GOTTARDI, C.P.T. et al. Surtos de toxinfecção alimentar no município de Porto Alegre/RS, no período de 1995 a 2002. **Rev Hig Alimentar**, v.20, n.143, p.50-55, 2006.
20. HARBUTT, J. (org.) **O livro do queijo**. São Paulo: Globo, 2010. 352p.
21. JAY, J.M. **Microbiologia dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

22. LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, JRF; PORTUGAL, JA. (Eds.) **Diagnóstico da Qualidade do leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de Antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa, 2003. p.117-138.
23. MONTINGELLI, N.M.M. **Pré-disposição do leite de cabra para a fabricação de queijos**. 2005. 47f. Monografia (Especialização) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
24. NADVORNY, A. et al. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul, em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1, p.47-51, 2004.
25. OLIVEIRA, J.S. et al. Qualidade microbiológica de queijo tipo coalho comercializado na cidade de Sobral – CE. In: IV CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, Belém, PA, 2009. Disponível em: <http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/55_3587_1538.pdf>. Acesso em: out. 2012.
26. PICOLI, S.U. et al. Quantificação de Coliformes, *Staphylococcus aureus* e Mesófilos Presentes em diferentes etapas da produção de Queijo Frescal de leite de cabra em laticínios. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.26, n.1, p.64-69, 2006.
27. QUEIJOS NO BRASIL. Juiz de Fora. Disponível em: <<http://www.queijosnobrasil.com.br/queijo-boursin.html>>. Acessado em: 09/2012.
28. QUEIROGA, R.C.R.E. et al. Elaboração e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de queijo “tipo minas frescal” de leite de cabra condimentado. **Rev Ciênc Agronômicas**, v.40, n.3, p.363-372, 2009.
29. RAMOS, S.N.M.; COSTA, C.A. Ocorrência de *Listeria monocytigenes* em queijo artesanal tipo coalho comercializado na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazônica**, v.33, n.4, p.613-618, 2003.
30. RAPINI, L.S. et al. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.57, n.6, p.825-829, 2005.
31. SANTOS, T.D.R. **Avaliação de queijos “boursin” de leite de cabras das raças Saanen e Parda Alpina submetidas a diferentes dietas**. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado) Universidade estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.
32. SENGER, A.E.V.; BIZANI, D. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijos minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializados na cidade de Canoas/RS, Brasil. **Rev Ciênc Ambientais**, v.5, n.2; p.25-42, 2011.
33. SILVA, F.T. **Queijo Minas Frescal**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2005. 50 p.
34. SILVA, A.A. et al. Estudos do polimorfismo genético da s1-caseína em cabra, no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, p.255-259, 2007.
35. SOUSA, F.G.C. et al. **Parâmetros microbiológicos de queijo caprino tipo coalho produzido em pequenas propriedades do Rio Grande do Norte**. In: Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte, 4, 2009. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/576378/1/AACParametrosmicrobiologicosdequeijocaprinotipocoalho produzido empequenas.pdf>>. Acesso em: ago. 2015.

36. SOUZA, E.L. et al. Qualidade do queijo de leite de cabra tipo Coalho condimentado com cumaru (*Amburana cearenses* A.C. Smith). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.14, n.3, p.220-225, 2011.
37. TIBURCIO, P. **Produção de queijo de cabra: aprenda a fazer o queijo boursin**. Viçosa: CPT, 2012. Disponível em: <<http://www.tecnologiaetreinamento.com.br/agroindustrias/laticios-agroindustrias/producao-de-queijos-de-cabra-aprenda-a-fazer-o-queijo-boursin/>>. Acesso em: set. 2012.
38. TIMBERLEY, C.; NORMAN, C. **O livro de queijos**. São Paulo: Manole, 1997.120p.
39. VIEIRA, A.D.S. et al. Processamento artesanal de queijo caprino simbiótico tipo *petit-suisse*. **Comunicado Técnico**, n.114, junho de 2014. Embrapa, Sobral, CE. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/115392/1/COT-141.pdf>>. Acesso em: nov. 2015.
40. VIEIRA, A.D.S. et al. Determinação de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo coalho não maturados comercializados na cidade de Sobral-CE. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 2., 2009, Belo Horizonte. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/534487>>. Acesso em: out. 2012.
41. VISOTTO, R.G. et al. Queijo Minas Frescal: perfil higiênico-sanitário e avaliação de rotulagem. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p.8-15, 2011.
42. ZOTTOLA, E.A.; SMITH, L.B. Pathogens in cheese. **Journal of Food Microbiology**, v.8, p.171-182, 1991.

Remoção de aflatoxina B1 por nanopartículas de prata sintetizadas em meio fermentado do cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*

| **Francine Kerstner**
FURG

| **Karen Vanessa Marimón Sibaja**
FURG

| **Andressa Fernandes Pivato**
FURG

| **Lucielen Oliveira Santos**
FURG

| **Allana Arcos Comitre**
FURG

| **Jaqueline Garda-Bufferon**
FURG

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi sintetizar nanopartículas de prata (AgNP) utilizando subprodutos do cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754 induzido por campos magnéticos (CM), visando sua aplicação na remoção de aflatoxina B₁ (AFB₁).

Métodos: As condições para síntese das AgNP foram avaliadas utilizando planejamento fatorial fracionado 2⁴⁻¹. A indução por CM foi feita no cultivo da levedura e na etapa de síntese das AgNP. A capacidade de remoção de AFB₁ pelas AgNP biossintetizadas foi verificada em meio contendo esta micotoxina e quantificadas por HPLC-FL.

Resultados: As melhores condições de síntese de AgNP foram 25 °C, pH 6, 100 rpm e 1 mmol L⁻¹ de AgNO₃, em 12 h de cultivo. A aplicação do CM reduziu em 50% o tempo de síntese das AgNP. As AgNP reduziram em 66% a concentração de AFB₁.

Conclusão: As AgNP sintetizadas a partir do cultivo de *S. cerevisiae* mostraram-se promissoras para aplicação na remoção de micotoxinas.

Palavras-chave: Biossíntese, *Saccharomyces Cerevisiae*, Aflatoxina B1.

■ INTRODUÇÃO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem sido reportada por diferentes estudos (BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016; KORBEBKANDI *et al.*, 2014; NIKNEJAD *et al.*, 2015) como capaz de sintetizar AgNP, tanto intra quanto extracelular. Dessa forma, medidas que visem alterações na produção de subprodutos da levedura, tais como a aplicação de campos magnéticos (CM), podem ser promissoras também para a síntese de AgNP.

O CM é o local de atuação de forças magnéticas (BURNS; MacDOLNALD, 1975) e seu emprego em bioprocessos vem trazendo boas perspectivas para aumento da concentração de biomassa de micro-organismos (DEAMICI; SANTOS; COSTA, 2019; SHAO *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2019), aumento da atividade enzimática (FRAGA *et al.*, 2019), síntese de antioxidantes (BAUER *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2010) e síntese de lipídios (CHU *et al.*, 2020). O mecanismo de funcionamento do CM ainda não está totalmente elucidado (BUBANJA *et al.*, 2019). No entanto, sabe-se que ele pode causar alterações no metabolismo de micro-organismos (KTHIRI *et al.*, 2019), resultando em interações entre o CM e determinado micro-organismo (LEI; BERG, 1998) e/ou produtos formados a partir deste metabolismo, tal como as nanopartículas.

As nanopartículas de prata (AgNP) são partículas com pelo menos uma de suas dimensões de ordem nanométrica (NAITO *et al.*, 2018), geralmente inferiores a 100 nm, e possuem entre 20 e 15000 átomos de prata (CHEN; SCHLUESENER, 2008). A síntese de AgNP pode ser feita empregando métodos químicos, físicos ou biológicos (NARAYANAN; SAKTHIVEL, 2010). Embora métodos químicos e físicos sejam os mais comuns, o uso de produtos químicos tóxicos limita as aplicações das AgNP sintetizadas, devido a toxicidade dos reagentes empregados (LI *et al.*, 2011). Algumas das potenciais aplicações das nanopartículas se devem ao fato de apresentarem capacidade de adsorção de moléculas (ANASTOPOULOS *et al.*, 2017), tais como micotoxinas (MAGRO *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2020).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por algumas espécies de fungos filamentosos (BENNETT; KLICH, 2003), dentre elas, a aflatoxina B₁ (AFB₁) é a mais comumente encontrada em matrizes alimentícias (BIEHL; BUCK, 1987), sendo classificada como carcinogênica a humanos (IARC, 2012). Dessa forma, medidas que visem a remoção dessa micotoxina de meios contaminados se fazem necessárias.

Assim, o objetivo deste estudo foi sintetizar nanopartículas de prata utilizando subprodutos do cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754 induzida por campos magnéticos, visando sua aplicação na remoção de aflatoxina B₁ (AFB₁).

■ MÉTODO

Microrganismo, Meio de Cultivo e Inóculo

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754 foi mantida em cultura estoque a 4 °C em ágar *Yeast Malt* (YM) com composição (g L⁻¹): 20 ágar, 10 glicose, 5 peptona, 3 extrato de malte e 3 extrato de levedura. O meio de cultivo foi previamente esterilizado a 121 °C, 1,1 atm por 15 min. A glicose foi esterilizada separadamente nas mesmas condições e homogeneizada com os outros componentes do meio antes da inoculação.

O inóculo foi preparado pela transferência da cultura estoque para frasco de 250 mL, contendo 100 mL de caldo YM e incubada a 30 °C em agitador rotatório a 150 rpm.

Biossíntese de Nanopartículas de Prata

O cultivo de *S. cerevisiae* para biossíntese de AgNP foi feito em frascos tipo Erlenmeyer contendo 100 mL de caldo YM e 5% de inóculo (v v⁻¹). Um planejamento fatorial fracionado 2⁴⁻¹ foi feito a fim de avaliar as melhores condições de cultivo e síntese de AgNP. Dessa forma, os parâmetros avaliados no delineamento foram temperatura (20, 25 e 30 °C) (BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016; KORBKANDI *et al.*, 2014), concentração de AgNO₃ (0, 1 e 2 mmol L⁻¹), agitação orbital (0, 100 e 200 rpm) (BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016; NIKNEJAD *et al.*, 2015) e pH 4, 6 e 8 (BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016), como descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Matriz dos ensaios gerada pelo delineamento fatorial fracionado 2⁴⁻¹ com seus níveis codificados e reais (entre parênteses).

Ensaio	Temperatura (°C)	pH	Agitação (rpm)	Concentração de AgNO ₃ (mmol L ⁻¹)
1	-1 (20)	-1 (4)	-1 (0)	-1 (0)
2	+1(30)	-1 (4)	-1 (0)	+1 (2)
3	-1 (20)	+1 (8)	-1 (0)	+1 (2)
4	+1(30)	+1 (8)	-1 (0)	-1 (0)
5	-1 (20)	-1 (4)	+1 (200)	+1 (2)
6	+1(30)	-1 (4)	+1 (200)	-1 (0)
7	-1 (20)	+1 (8)	+1 (200)	-1 (0)
8	+1(30)	+1 (8)	+1 (200)	+1 (2)
9	0 (25)	0 (6)	0 (100)	0 (1)
10	0 (25)	0 (6)	0 (100)	0 (1)
11	0 (25)	0 (6)	0 (100)	0 (1)

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

As amostragens foram feitas a cada 2 h, durante 30 h de cultivo. As amostras foram centrifugadas (5 min a 20126 x g) e ao sobrenadante separado foi adicionado o AgNO₃ para a síntese das AgNP. Esta solução foi mantida nas mesmas condições de temperatura e agitação do respectivo cultivo, conforme descrito pelo planejamento experimental (Tabela 1), em

ambiente escuro, durante 24 h (ALTINSOY, KARATOPRAK, OCSOY, 2018, BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016; NIKNEJAD *et al.*, 2015). As amostragens foram feitas em triplicata para as diferentes condições de cultivo.

Aplicação de Campo Magnético

Os ensaios do delineamento experimental definiram as melhores condições de cultivo para a síntese de AgNP, sendo empregadas nos cultivos com aplicação do CM (25 °C, 100 rpm, pH 6 e 1 mmol L⁻¹ de AgNO₃) a fim de avaliar a sua influência tanto no cultivo da levedura quanto na síntese de AgNP.

A aplicação de ímãs foi feita durante 14 h em dois sistemas: (CM1) durante o cultivo das leveduras e (CM2) na etapa de formação das AgNP. O ímã empregado apresentava intensidade média de 51,7 mT e a aplicação foi feita por contato direto com o fundo do biorreator (CM1) ou tubo de ensaio (CM2). No sistema CM2 os ímãs foram dispostos no tubo de ensaio contendo o sobrenadante do meio de cultivo e o AgNO₃. Os ensaios CM1 e CM2 foram feitos em triplicata, concomitante ao cultivo controle ao qual não foi aplicado o CM.

Aplicação das Nanopartículas de Prata na Remoção de Micotoxina

A capacidade de remoção da AFB₁ foi avaliada utilizando o sobrenadante do meio de cultivo contendo as AgNP. A solução padrão de AFB₁ (1 µg L⁻¹) foi adicionada em frasco e o solvente foi evaporado por corrente de nitrogênio. O sobrenadante do meio de cultivo contendo as AgNP foi adicionado ao frasco e agitado em vórtex (30 s) seguido de banho ultrassônico (3 min) para solubilização da micotoxina. O sistema foi mantido sob agitação orbital de 150 rpm, a 35 °C overnight (14 h).

Após, a concentração de AFB₁ remanescente no sobrenadante foi determinada conforme descrito por Sibaja e colaboradores (2019). O ensaio controle foi feito empregando o meio de cultivo sem a síntese de AgNP.

Todos os experimentos foram feitos e analisados em quaduplicata. A porcentagem de remoção (%R) foi determinada conforme a Equação 1, onde AFB_{1 inicial}: concentração inicial de AFB₁ (µg L⁻¹) e AFB_{1 final}: concentração final de AFB₁ (µg L⁻¹), obtida pela diferença entre a concentração inicial e a concentração residual da micotoxina.

$$\%R = 100 - \left(\left(\frac{AFB_{1 \text{ final}}}{AFB_{1 \text{ inicial}}} \right) \cdot 100 \right) \quad (1)$$

■ DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Concentração de Biomassa

A concentração de biomassa dos cultivos foi determinada pela medida da turbidimetria em espectrofotômetro a 600 nm empregando uma curva padrão obtida relacionando a massa seca e absorvância em diferentes diluições.

Caracterização da Síntese de Nanopartículas de Prata

A concentração de AgNP foi feita pela leitura em espectrofotômetro a 420 nm e estimada considerando que 0,001 na variação da absorvância nesse comprimento de onda equivale a 1 unidade de AgNP (UAgNP).

As AgNP sintetizadas nas melhores condições definidas pelo planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} foram submetidas a varredura no intervalo de comprimento de onda de 400 a 750 nm em espectrofotômetro com detector UV-Vis utilizado para confirmar a síntese dessas nanopartículas (BADHUSHA; MOHIDEEN, 2016).

Determinação de Micotoxinas

A determinação da AFB₁ no meio YPD foi de acordo com o procedimento descrito por Sibaja *et al.* (2019) empregando o método de partição líquido-líquido para extração a AFB₁ do sistema obtido após 14 h de interação para remoção da micotoxina pelas AgNP. A extração foi realizada por 3 partições líquido-líquido de 1 mL de clorofórmio (CH₃Cl), mantido sob agitação em vórtex (30 s) e banho ultrassônico (3 min) e evaporada sob corrente de nitrogênio.

O extrato seco foi diluído em fase móvel e quantificado em cromatógrafo líquido acoplado a detector de fluorescência (HPLC-FL) e processado no software LC Solution. Para essa análise, a fase móvel foi composta por água:acetonitrila:metanol, na proporção de 60:15:25 (v v⁻¹), com modo de eluição isocrática. A análise cromatográfica foi realizada em coluna Kromasil C₁₈ (5 µm, 15 cm x 4,6 mmol L⁻¹), com vazão de fase móvel de 1 mL min⁻¹ e temperatura do forno de 40 °C, empregando o comprimento de onda de 370 a 410 nm e volume de injeção da amostra de 20 µL (SIBAJA *et al.* 2019). O tempo de análise cromatográfica foi 12 min e os compostos foram identificados baseados em seu tempo de retenção relacionados ao padrão. A concentração da micotoxina foi determinada relacionando a área do pico obtido com a curva de calibração.

Análise Estatística

Os resultados para síntese de AgNP obtidos pelo planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) e, pela relação entre as médias e do coeficiente de variação, com intervalo de confiança de 90%.

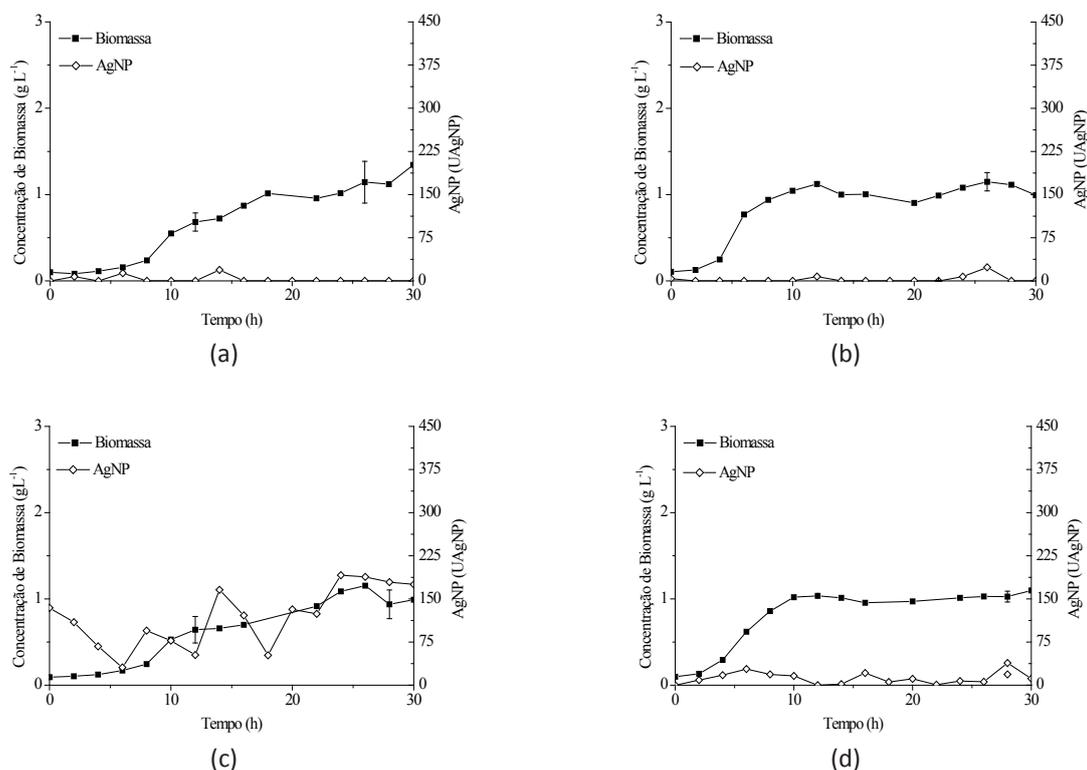
Os resultados de síntese de AgNP, bem como concentração de biomassa obtidos pelos ensaios CM1 e CM2, foram avaliados utilizando teste de Tukey. Ambos resultados foram avaliados e elaborados utilizando o software “Statistica” (versão 7.0, StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

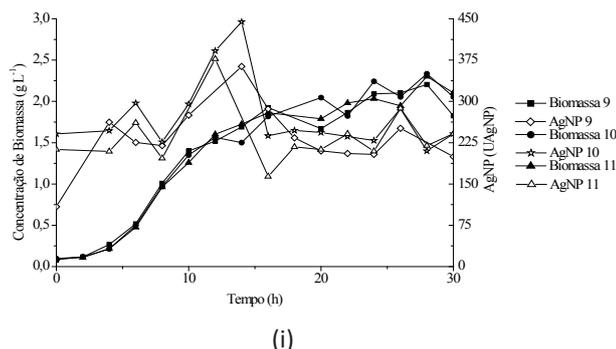
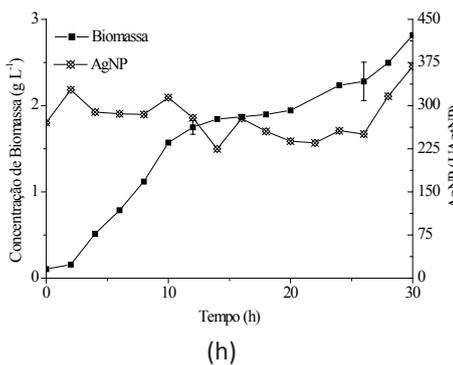
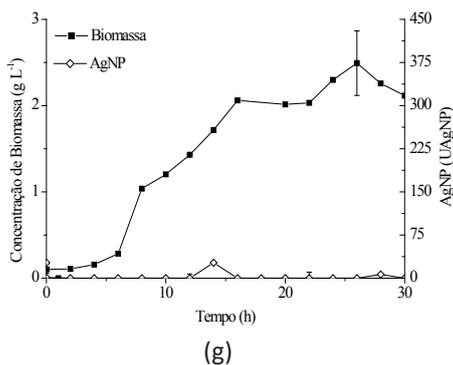
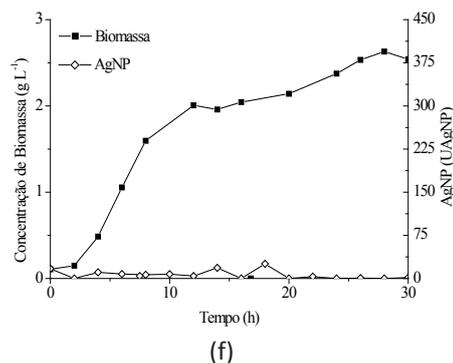
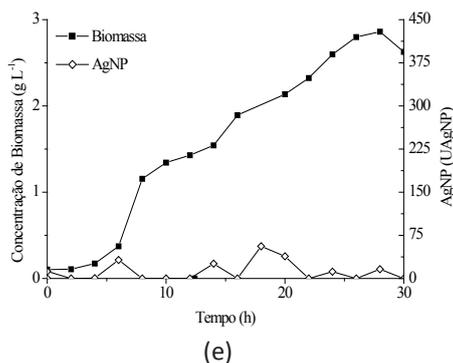
■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese de AgNP por *S. cerevisiae*

A Figura 1 mostra que as maiores produções de AgNP foram nos Ensaios 9 a 11 (Figura 1-i), com produção de 384,6 UAgNP em 12 h de cultivo para o Ensaio 9 e em 14 h de cultivo para os Ensaios 10 e 11, com produção de 444,4 e 403,9 UAgNP, respectivamente. Dessa forma, as condições usadas nesses ensaios (100 rpm, 25 °C, pH 6 e 1 mmol L⁻¹ de AgNO₃) foram definidas como melhores para a síntese de AgNP por subprodutos da *S. cerevisiae*.

Figura 1. Concentração de biomassa e síntese de AgNP em cultivo (30 h) sob condições descritas pelo planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} : (a) Ensaio 1, (b) Ensaio 2, (c) Ensaio 3, (d) Ensaio 4, (e) Ensaio 5, (f) Ensaio 6, (g) Ensaio 7, (h) Ensaio 8, (i) Ensaios 9, 10 e 11.





Fonte: elaborada pelos autores (2021).

A análise estatística dos efeitos da produção de AgNP foi feita para todos os tempos de amostragem. As variáveis que apresentaram significância para produção de AgNP em 12 h foram temperatura, pH, agitação e concentração de AgNO_3 . A maior produção de AgNP foi obtida nos maiores pH avaliados (6 e 8). Segundo Badhusha e Mohideen (2016), esse fato pode ser explicado devido a maior concentração de hidroxilas (OH^-), o que facilita a redução dos íons Ag^+ no meio devido a afinidade entre os íons. Além disso, o pH do meio no qual ocorre a síntese de AgNP também afeta o tamanho e forma desses nanomateriais, sendo que os pH mais elevados favorecem a formação de partículas menores.

Nos Ensaios 1, 4, 6 e 7 (Figura 1-a, d, f e g, respectivamente) não foi observada a síntese de AgNP, pois nestes não ocorreu a adição de AgNO_3 (fonte de íon prata). A ausência da síntese das AgNP também foi observada nas Figuras 1-b e 1-e (Ensaios 2 e 5) mesmo quando

adicionado 2 mM de AgNO_3 . Esse último pode ser explicado pelo pH desses ensaios (pH 4), demonstrando a intensa influência que esse parâmetro exerce sobre a síntese das AgNP.

A agitação foi outro parâmetro que se mostrou importante para o aumento da síntese de AgNP. Embora a síntese de AgNP tenha sido notada no Ensaio 3 (sem agitação), quando comparado ao Ensaio 8 (submetido a agitação de 200 rpm) observa-se que a agitação possibilita a maior concentração dessas nanopartículas. Esse resultado pode ser explicado pela maior disponibilidade que os subprodutos da levedura possuem em contato com o íon metálico adicionado ao meio, favorecendo assim a síntese de AgNP.

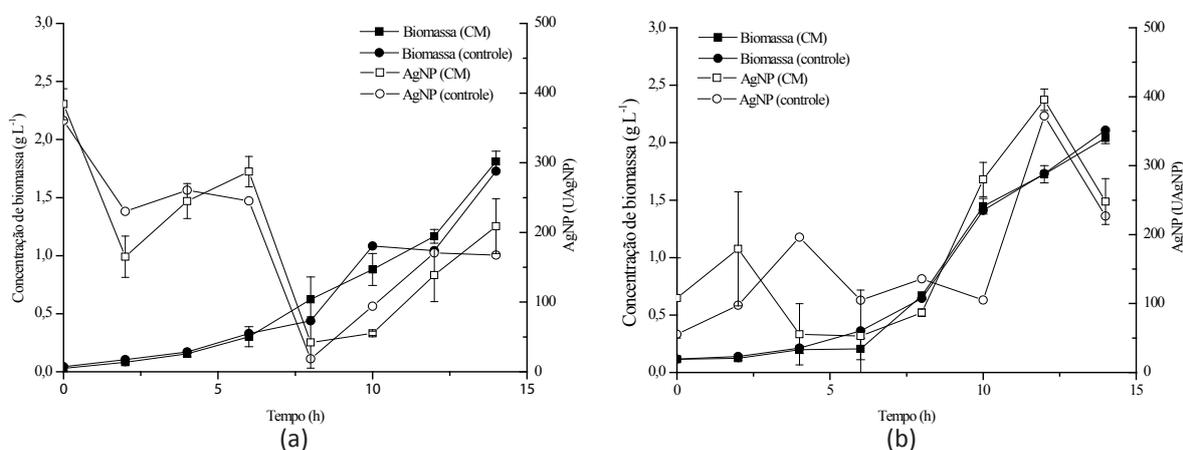
O crescimento da levedura foi observado em todos os ensaios. Entretanto, as maiores concentrações de biomassa foram obtidas nos ensaios com agitação (Figuras 1-e-i). Contudo, não foi possível observar uma relação direta entre a concentração de biomassa e a síntese de AgNP, o que sugere que outros fatores como pH e adição de AgNO_3 possuem maior influência para a síntese de AgNP em sobrenadante do cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*.

CM como Indutor da Síntese de AgNP

As melhores condições para síntese de AgNP por *S. cerevisiae* definidas foram empregadas no cultivo da levedura sob CM (CM1) e durante a etapa de síntese das AgNP (CM2) (Figura 2).

Quando aplicado durante o cultivo da levedura, o CM não aumentou a concentração de biomassa. Apesar disso, a aplicação do CM durante o cultivo induziu a síntese das AgNP em menor tempo, quando comparado ao cultivo controle. Esse fato pode ser observado na Figura 2 (a), quando foram sintetizadas 287,3 UAgNP em 6 h. Essa diminuição de 50% no tempo para a formação das AgNP é uma vantagem econômica para a aplicação final das nanopartículas.

Figura 2. Concentração de biomassa e síntese de AgNP (a) aplicando CM durante o cultivo das células – CM1 e (b) na etapa de formação das AgNP – CM2.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Apesar do mecanismo de ação do CM não ser completamente elucidado, o estudo realizado por Binninger e Ungvichian (1997) mostrou que a aplicação de CM pode induzir alterações na síntese do DNA, RNA, proteínas e enzimas envolvidas nesse processo. Assim, pode-se sugerir que essas alterações são responsáveis pela síntese de AgNP em tempo inferior quando aplicado o CM.

Na Figura 2 (b), quando aplicado o CM durante a etapa de síntese das AgNP, pode-se observar o pico de síntese em 12 h, com 372,0 UAgNP. Esse resultado observado é similar ao observado nas melhores condições de síntese definidas no planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . Nesses experimentos, nota-se que a indução com CM não afetou a síntese de AgNP, mostrando que sua melhor aplicação é durante o cultivo da levedura.

Caracterização das AgNP

As AgNP sintetizadas nas condições definidas pelo planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} (100 rpm, 25 °C, pH 6 e 1 mmol L⁻¹ de AgNO₃) foram caracterizadas quanto a absorção no espectro de luz visível. Segundo Badhusha e Morideen (2016), o primeiro indício para a formação das AgNP é a mudança de coloração no meio onde foram sintetizadas, bem como a leitura da absorbância em espectro visível. Assim, a Figura 3 apresenta os ensaios controle (sem adição de AgNO₃) e com adição de AgNO₃.

Antes da adição de AgNO₃, o meio encontrava-se com coloração amarelo clara. Após a adição e sob as melhores condições de cultivo para síntese de AgNP, a coloração apresentou-se caramelo. Desse modo, pode-se constatar que houve indícios da formação de AgNP no meio que continha o AgNO₃.

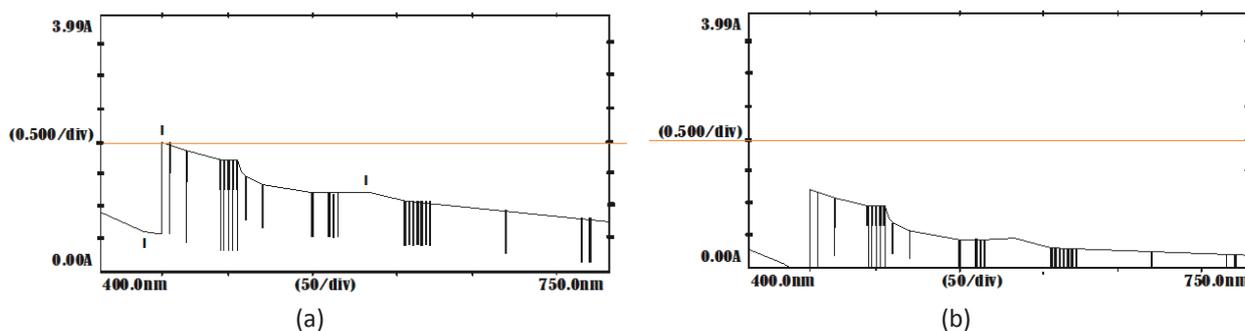
Figura 3. Sobrenadante do meio de cultivo obtido nas melhores condições para síntese de AgNP (a) sem adição de AgNO₃ e (b) com adição de AgNO₃.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

A Figura 4 apresenta o espectro visível de varredura da amostra controle e com adição de AgNO_3 . Na Figura 4 (a), é possível observar pico de absorção em 460 nm com absorvância igual a 1,2, o que segundo Badhusha e Morideen (2016) confirma a produção de AgNP com tamanhos entre 10 e 40 nm. Neste estudo foi utilizado 420 nm e devido ao fato de a prata absorver luz entre 400 e 500 nm, garante-se que o produto quantificado foi AgNP.

Figura 4. Espectro de varredura das amostras mantidas nas melhores condições para síntese de AgNP (a) com adição de AgNO_3 e (b) sem adição de AgNO_3 .



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

No cultivo controle (Figura 4-b), também pode ser observado pico em 460 nm. No entanto, com amplitude menor que o observado quando houve adição de AgNO_3 , com absorvância igual a 0,8. Estudos anteriores observaram o pico de síntese de AgNP por *S. cerevisiae* em diferentes comprimentos de onda, quando submetidas ao espectro UV-Vis de varredura. Badhusha e Mohideen (2016) observaram que a absorção foi em 420 nm quando utilizado pH 6 e 460 nm quando utilizado pH 4. Quando Korbekandi *et al.* (2014) estudaram a biossíntese com *S. cerevisiae* comercial, a absorção de AgNP ocorreu em 430 nm para o tempo de 72 h. No estudo conduzido por Niknejad *et al.* (2015), a análise do cultivo após 24 h mostrou a absorção máxima em 450 nm. Altinsoy, Karatoprak e Ocsoy (2018) utilizando o sobrenadante do cultivo da levedura *S. cerevisiae* e verificaram a maior absorção em 415 nm. Dessa forma, pode-se concluir que o valor máximo de absorção das AgNP é dependente das condições de cultivo, principalmente o pH do meio.

Estima-se que as AgNP biossintetizadas tenham sido reduzidas por enzimas, proteínas e peptídeos do meio de cultivo da levedura e que além disso, as proteínas possam ter formado o revestimento das nanopartículas estabilizando-as em relação ao meio conforme explicado por Sowbarnika, Anhuradha e Preetha (2018). As proteínas são as biomoléculas que mais apresentam capacidade de ligar-se à Ag^+ , devido a presença de grupos livres de amida em sua composição, outra vantagem da síntese de AgNP pela *S. cerevisiae*.

Aplicação das AgNP na remoção de micotoxina

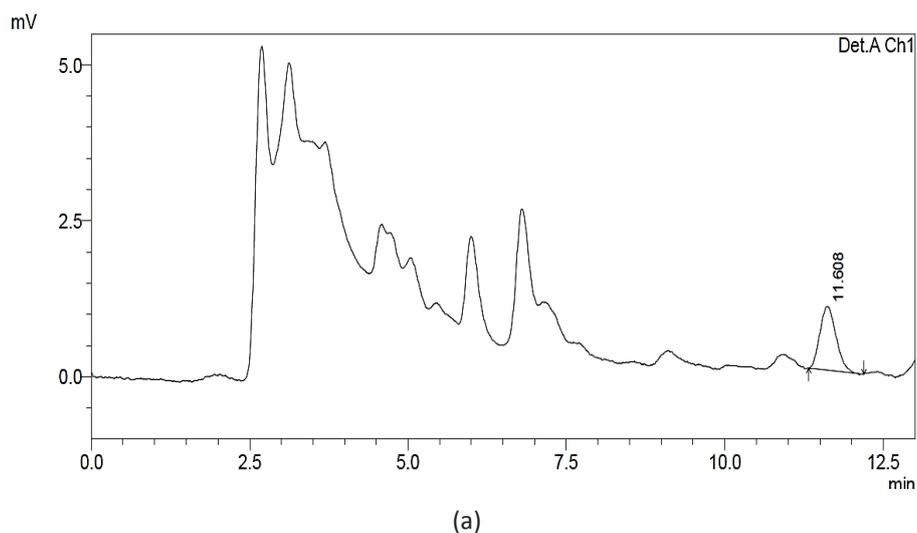
As AgNP biossintetizadas pela *S. cerevisiae* nas melhores condições definidas pelo planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} foram avaliadas quanto a capacidade de remoção da aflatoxina B₁ do meio YM. Assim, a Figura 5 apresenta os cromatogramas obtidos no ensaio de remoção de micotoxinas empregando AgNP após 14 h de interação.

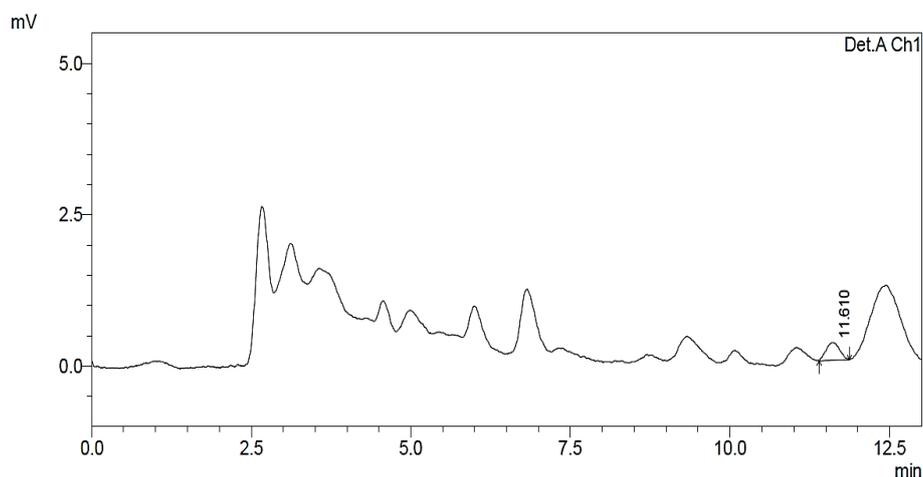
Na Figura 5-a observa-se que o pico integrado da retenção da AFB₁ entre 11 e 12 min de corrida, sendo que neste ensaio há apenas o sobrenadante do meio de cultivo juntamente com a micotoxina. Na Figura 4 (b) nota-se a maior área de pico relativo ao ensaio controle correspondendo a concentração de 1 µg/L e a redução da área obtida no mesmo tempo de retenção quando empregadas as AgNP, resultando assim em $66\% \pm 16,7$ de remoção da concentração de AFB₁. Isso pode ter ocorrido devido a interação entre as AgNP e a AFB₁, tornando a micotoxina indisponível para quantificação.

A remoção de micotoxinas por nanopartículas magnéticas já foi estudada por Magro e colaboradores (2016). Os autores simularam a remoção da micotoxina citrinina do meio de cultivo do *Monascus* (fungo filamentosos produtor de pigmentos vermelhos) usando nanopartículas magnéticas sintetizadas quimicamente. Para isso, a suspensão fúngica foi contaminada com citrinina e colocada em contato com as nanopartículas sintetizadas, e a remoção foi 70%.

A utilização de AgNP sintetizadas a partir do cultivo de *S. cerevisiae* para a remoção de micotoxinas mostrou-se como bioprocesso promissor, pois reduziu os níveis de AFB₁ presentes no meio YM. Assim, esse estudo apresenta-se como alternativa para a síntese sustentável e de baixo custo de AgNP, possível de atuar na remoção de AFB₁.

Figura 5. Cromatogramas dos ensaios de remoção de micotoxina (a) micotoxina e sobrenadante do meio de cultivo e (b) micotoxina e AgNP.





(b)

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

■ CONCLUSÃO

As melhores condições para a síntese de AgNP utilizando a levedura *S. cerevisiae* ATCC 7754 foram 25 °C, pH 6, 100 rpm e 1 mmol L⁻¹ de AgNO₃ e o tempo de cultivo 12 h. A aplicação do CM durante o cultivo da levedura modificou os subprodutos produzidos e induziu a maior de síntese das AgNP em 6 h. A produção das AgNP foi confirmada com pico de absorção em 460 nm. As AgNP apresentaram capacidade de remoção de micotoxinas, com percentual médio de 66%, mostrando o potencial desses nanomateriais realizarem a redução dos níveis de aflatoxina B₁.

■ AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

■ REFERÊNCIAS

1. ALTINSOY, B. D.; KARATOPRAK, G. Ş.; OCSOY, I. Extracellular directed ag NPs formation and investigation of their antimicrobial and cytotoxic properties. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 1, p. 9-16, 2018.
2. ANASTOPOULOS, I.; HOSSEINI-BANDEGHARAEI, A.; FU, J.; MITROPOULOS, A. C. KY-ZAS, G. Z. Use of nanoparticles to dye adsorption: Review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 39, n. 6, p. 836-847, 2017.
3. BADHUSHA, M. S. M. B.; MOHIDEEN, M. M. A. K. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* with different pH and study of antimicrobial activity against bacterial pathogens. **Chemical Science Transactions**, v. 5, n. 4, p. 906-911, 2016.

4. BAUER, L. M.; COSTA, J. A. V.; DA ROSA, A. P. C.; SANTOS, L. O. Growth stimulation and synthesis of lipids, pigments and antioxidants with magnetic fields in *Chlorella kessleri* cultivations. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1425-1432, 2017.
5. BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.
6. BIEHL, M. L.; BUCK, W. Chemical contaminants: Their metabolism and their residues. **Journal of Food Protection**, v. 50, n. 12, p. 1058-1073, 1987.
7. BINNINGER, D. M.; UNGVICHIAN, V. Effects of 60 Hz AC magnetic fields on gene expression following exposure over multiple cell generations using *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 43, n. 1, p. 83-89, 1997.
8. BONOW, F. **Produção de glutatona por *Saccharomyces cerevisiae* utilizando coproduto industrial e sob ação de campos magnéticos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2016.
9. BUBANJA, I. N.; LONCAREVIC, B.; LJESEVIC, M.; BESKOSKI, V.; GOJGIC-CVIJOVIC, G.; VELIKIC, Z.; STANISAVLJEV, D. The influence of low-frequency magnetic field regions on the *Saccharomyces cerevisiae* respiration and growth. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 143, p. 107593, 2019.
10. BURNS, D; MacDONALD, S. **Physics for biology and pre-medical students**. 2ª ed. Filipinas: Addison-wesley publishers limited, p.462-466, 1975.
11. CHEN, X.; SCHLUESENER, H. J. Nanosilver: A nanoparticle in medical application. **Toxicology Letters**, v. 176, p. 1-12, 2008.
12. CHU, F. J.; WAN, T. J.; PAI, T. Y.; LIN, H. W.; LIU, S. H.; HUANG, C. F. Use of magnetic fields and nitrate concentration to optimize the growth and lipid yield of *Nannochloropsis oculata*. **Journal of Environmental Management**, v. 253, p. 109680, 2020.
13. DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Use of static magnetic fields to increase CO₂ biofixation by the microalga *Chlorella fusca*. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 103-109, 2019.
14. FOLOGEA, D.; VASSU-DIMOV, T.; STOICA, I.; CSUTAK, O.; RADU, M. Increase of *Saccharomyces cerevisiae* plating efficiency after treatment with bipolar electric pulses. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 46, n. 2, p. 285-287, 1998.
15. FRAGA, F. C.; VALÉRIO, A.; OLIVEIRA, V. A.; LUCCIO, M. D.; OLIVEIRA, D. Effect of magnetic field on the Eversa® Transform 2.0 enzyme: Enzymatic activity and structural conformation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 122, p. 653-658, 2019.
16. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: chemical agents and related occupations. IARC Scientific Publication, Lyon, France, v. 100, p. 224–248, 2012.
17. KORBKANDI, H.; MOHSENI, S.; JOUNE, G. R. M.; POURHOSSEIN, M.; IRAVANI, S. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 235-239, 2014.
18. KTHIRI, A.; HIDOURI, S.; WIEM, T.; JERIDI, R.; SHEEHAN, D.; LANDOULS, A. Biochemical and biomolecular effects induced by a static magnetic field in *Saccharomyces cerevisiae*: Evidence for oxidative stress. **PloS one**, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2019.

19. LEI, C.; BERG, H. Electromagnetic window effects on proliferation rate of *Corynebacterium glutamicum*. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 45, n. 2, p. 261-265, 1998.
20. LI, X.; XU, H.; CHEN, Z. S.; CHEN, G. **Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications**. *Journal of Nanomaterials*, v. 2011, 2011.
21. MAGRO, M.; MORITZ, D. E.; BONAIUTO, E.; BARATELLA, D.; TERZO, M.; JAKUBEC, P.; MALINA, O.; CÉPE, K.; ARAGÃO, G. M. F.; ZBORIL, R.; VIANELLO, F. Citrinin mycotoxin recognition and removal by naked magnetic nanoparticles. **Food chemistry**, v. 203, p. 505-512, 2016.
22. MITTENZWEY, R.; SÜBMUTH, R.; MEI, W. Effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on bacteria - the question of a co-stressing factor. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 40, n. 1, p. 21-27, 1996.
23. NAITO, M.; YOKOYAMA, T.; HOSOKAWA, K.; NOGI, K. **Nanoparticle technology handbook**. 3 ed. Elsevier, 2018. 703 p.
24. NARAYANAN, K. B.; SAKTHIVEL, N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 156, p. 1-13, 2010.
25. NIKNEJAD, F.; NABILI, M.; DAIE GHAZVINI, R.; MOAZENI, M. Green synthesis of silver nanoparticles: advantages of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* model. **Current medical mycology**, v. 1, n. 3, p. 17, 2015.
26. SANTOS, L. O.; ALEGRE, R. M.; GARCIA-DIEGO, C.; CUELLAR, J. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 1362-1367, 2010.
27. SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 145, p. 83-96, 2009.
28. SHAO, W.; EBAID, R.; ABOMOHRRA, A. E.F.; SHAHEN, M. Enhancement of *Spirulina* biomass production and cadmium biosorption using combined static magnetic field. , **Bioresource Technology**, v. 265, p. 163-169, 2018.
29. SIBAJA, K. V. M.; GARCIA, S. O.; FELTRIN, A. C. P.; REMEDI, R. D.; CERQUEIRA, M. R.; BADIALE-FURLONG, E.; GARDA-BUFFON, J. Aflatoxin biotransformation by commercial peroxidase and its application in contaminated food. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 94, n. 4, p. 1187-1194, 2019.
30. SOWBARNIKA, R.; ANHURADHA, S.; PREETHA, B. Enhanced antimicrobial effect of yeast mediated silver nanoparticles synthesized from baker's yeast. **International Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 33-42, 2018.
31. SUN, Z.; XU, J.; WANG, G.; SONG, A.; LI, C.; ZHENG, S. Hydrothermal fabrication of rectorite based biocomposite modified by chitosan derived carbon nanoparticles as efficient mycotoxins adsorbents. **Applied Clay Science**, v. 184, p. 105373, 2020.
32. TANG, H.; WANG, P.; WANG, H.; FANG, Z.; YANG, Q.; NI, W.; SUN, X.; LIU, H.; WANG, L.; ZHAO, G.; ZHENG, Z. Effect of static magnetic field on morphology and growth metabolism of *Flavobacterium* sp. m1-14. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, p. 1923-1933, 2019.

33. ZAHRAN, M. K.; MOHAMED, A. A.; MOHAMED, F. M.; EL-RAFIE, M. M. Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles by some yeast fungi. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 56, p. 91-110, 2013.

Simulações de binômios e perfis de tempo e temperatura de pasteurização equivalentes aos binômios estabelecidos na legislação

| **Amanda Estevão Gomes**
UFPR

| **Daniel Angelo Longhi**
UFPR

RESUMO

Objetivo: Simular binômios e perfis de tempo e temperatura de pasteurização que apresentem equivalência aos binômios definidos na legislação. **Método:** Binômios e perfis de tempo e temperatura foram propostos e simulados com os modelos matemáticos primário log-linear e secundário do tempo de morte térmica. Diferentes taxas de aquecimento, temperatura de manutenção e taxas de resfriamento do leite foram simuladas. As soluções das simulações da inativação microbiana foram obtidas com o método de Runge-Kutta de quarta ordem. **Resultados:** Aumentos de 1 °C e 5 °C da temperatura média do binômio de pasteurização lenta (63 °C a 65 °C por 30 minutos) resultaram em reduções de 41,0% e 79,7% no tempo de pasteurização, respectivamente. No processo de pasteurização com parâmetros precaucionários (definidos pelo *Codex Alimentarius*), reduções de 5 ciclos logarítmicos de *Coxiella burnetii* são atingidas, enquanto com parâmetros experimentais da literatura, reduções em torno de 8 ciclos logarítmicos podem ser atingidas. Para os perfis de tempo e temperatura simulados, aumentos de potência por unidade de massa e da temperatura de pasteurização resultaram em grandes reduções do tempo de inativação microbiana (de 29,55 min até 2,15 min). **Conclusão:** Aumentos da temperatura do processo de pasteurização, seja em novos binômios ou perfis de tempo e temperatura, podem acarretar maior rapidez do processo e possível economia de custos. Para pequenas indústrias de fabricação de leite e seus derivados, como queijarias, a diminuição do tempo do processo pode resultar em uma redução importante do consumo de energia, aumentando a rentabilidade da empresa.

Palavras-chave: Tratamento térmico, *Coxiella burnetii*, Inativação microbiana, Processos industriais, Leite.

■ INTRODUÇÃO

Um dos principais alimentos consumidos no mundo é o leite de vaca, sendo que seu consumo médio estimado é de cerca de 220 litros por pessoa no ano. Considerado um dos alimentos mais completos nutricionalmente, contém em sua composição proteínas, vitaminas, sais minerais, e cálcio, sendo amplamente recomendável para crianças e idosos (HIGIENE ALIMENTAR, 2020). A legislação brasileira estabelece que o leite cru refrigerado deve conter teores mínimos de gordura de 3,0 g/100 g, de proteína total de 2,9 g/100 g, e de lactose de 4,3 g/100 g (BRASIL, 2018).

De acordo com o artigo 235 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017). O Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite, atrás apenas dos EUA, da Índia e da China. Os estados brasileiros que mais produzem leite são Minas Gerais (26,40%), Paraná (12,50%) e Rio Grande do Sul (12,50%) (SNA, 2020). O faturamento anual associado ao leite chegou a 50 bilhões de reais, ficando atrás apenas da carne bovina e da soja (PERALTA, 2021).

Sendo indispensável para a fabricação de produtos lácteos, a pasteurização é definida no artigo 255 do RIISPOA como o tratamento térmico aplicado ao leite, com o principal objetivo de evitar danos à saúde pública decorrentes de micro-organismos patogênicos (BRASIL, 2017). O RIISPOA estabelece ainda que:

1°. Permitem-se os seguintes processos de pasteurização do leite:

I - pasteurização lenta (LTLT), que consiste no aquecimento indireto do leite entre 63 °C (sessenta e três graus Celsius) e 65 °C (sessenta e cinco graus Celsius) pelo período de trinta minutos, mantendo o leite sob agitação mecânica, lenta, em aparelhagem própria; e

II - pasteurização rápida (HTST), que consiste no aquecimento do leite em camada laminar entre 72 °C (setenta e dois graus Celsius) e 75 °C (setenta e cinco graus Celsius) pelo período de quinze a vinte segundos, em aparelhagem própria (BRASIL, 2017).

Neste contexto, na indústria de alimentos, os principais fatores a serem controlados para que ocorra a pasteurização são o tempo de retenção e a temperatura de operação. O processo de pasteurização é uma das operações mais utilizadas na indústria de alimentos e foi proposto pelo químico Louis Pasteur por volta de 1863, por isso, o processo tem alusão ao seu sobrenome. Nos seus experimentos, Pasteur pautou destruir os micro-organismos patogênicos presentes nos alimentos (REVISTA INSUMOS, 2021).

Em meados do século XX, houve uma evolução nos estudos da pasteurização do leite, pois bactérias causadoras da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) e da febre Q (*Coxiella burnetii*) foram identificadas como espécies resistentes aos tratamentos térmicos, exigindo assim que os binômios tempos e temperatura fossem reformulados. A bactéria *C. burnetii* se alastrou na Austrália e provocou cerca de 600 casos de febre Q em 1935. Em 1957, pesquisadores dos Estados Unidos padronizaram os estudos de pasteurização do leite e verificaram experimentalmente que uma redução de cinco ciclos logarítmicos (5D) de *C. burnetii* podia ser obtido a 62,8 °C por 30 min (pasteurização lenta) ou a 71,7 °C por 15 segundos (pasteurização rápida) (ENRIGHT *et al.*, 1957). Esses binômios foram efetivos para a eliminação dos patógenos, além de minimizar as perdas das propriedades nutricionais do alimento. Os binômios atuais apresentados em legislações são baseados nesses experimentos realizados há mais de 60 anos.

Na indústria de laticínios, a Instrução Normativa (IN) N° 76 estabelece os parâmetros físico-químicos e microbiológicos que o leite cru e o leite pasteurizado devem apresentar (BRASIL, 2018). Um dos parâmetros mais importantes é a fosfatase alcalina, que apresenta resistência térmica muito parecida com a *C. burnetii*, sensível a pasteurização e encontrada apenas no leite cru, indicando assim a eficácia do processo. A peroxidase, por sua vez, é termorresistente, sendo destruída em temperaturas elevadas, como acima de 75 °C. O parágrafo 7 do artigo 255 do RIISPOA estabelece que, imediatamente após a pasteurização, o produto processado deve estar negativo para a enzima fosfatase e positivo para a enzima peroxidase, como forma de garantir que a temperatura e o tempo de pasteurização recomendados tenham sido alcançados (BRASIL, 2017).

O parágrafo segundo do artigo 255 do RIISPOA estabelece que podem ser aceitos pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal outros binômios de tempo e temperatura, desde que comprovada a equivalência aos processos estabelecidos no § 1° (BRASIL, 2017). Sabe-se que o processo mais utilizado pelas agroindústrias é de baixa temperatura e tempo longo (do inglês *Low Temperature Long Time* – LTLT), porém este processo implica diretamente em alto custo, por ter baixa eficiência energética, ser demorado e descontínuo. Dessa forma, outros binômios “estáticos” de tempo e temperatura equivalentes podem ser propostos, ou seja, binômios em que os intervalos de temperatura e tempo não variam. O processo de alta temperatura e tempo curto (do inglês *High Temperature Short Time* – HTST), por mais que seja o binômio mais utilizado em empresas de porte grande, por apresentar vantagens no processo contínuo, maior eficiência e rapidez, menor área para instalação, menos perdas por evaporação, maior eliminação de termófilos e economia de mão-de-obra, apresenta desvantagens como alto custo de aquisição e manutenção dos equipamentos, além de dificuldade em atingir a temperatura alta (LEITE *et al.*, 2006). A aplicabilidade deste

trabalho é considerada principalmente para pequenas empresas, como agroindústrias de fabricação de queijos, que usam tanques encamisados para pasteurização com o binômio LTLT. Deste modo, ao realizar o processo com um novo binômio, como os propostos neste trabalho, com temperaturas maiores que o binômio LTLT, a empresa poderá realizar a pasteurização em menos tempo.

Existem outras tecnologias substitutas ou adicionais que podem ser aplicadas para a pasteurização do leite, como a microfiltração, que remove micro-organismos através de um filtro com poros microscópicos, reduzindo a concentração de esporos, células somáticas e gorduras residuais, e em sequência ocorre o processo de pasteurização. Outro tratamento térmico muito aplicado ao leite é de ultra alta temperatura (do inglês *Ultra High Temperature* – UHT), que varia de 130 °C a 150 °C por 2 a 4 segundos (BRASIL, 2017). Apesar deste não ser um processo de pasteurização e sim esterilização, é muito utilizado nas indústrias para produção de leite popularmente chamado de longa vida. Entre as suas desvantagens é possível citar que o produto pode apresentar características sensoriais de cozido, trazendo rejeição de muitos consumidores (ANTUNES, 2014).

Neste contexto, perfis de tempo e temperatura “dinâmicos”, com variações de temperatura ao longo do tempo de pasteurização, que equivalem aos binômios “estáticos” de tempo e temperatura podem ser propostos. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi simular binômios e perfis de tempo e temperatura de pasteurização que apresentam equivalência aos binômios definidos na legislação.

■ MÉTODO

O modelo matemático utilizado para descrever a inativação dos micro-organismos do leite é o log-linear, que é caracterizado na microbiologia preditiva como um modelo primário (WHITING; BUCHANAN, 1993), como apresentado na Equação (1). A inativação de micro-organismos respeita as leis da cinética química, com isso o modelo log-linear é classificado como uma reação de primeira ordem (FRAVET, 2006). Este modelo permite a avaliação da variação da concentração microbiana (N , em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de leite, UFC/mL) em função do tempo (t , em min), em que a temperatura do processo de pasteurização afeta a velocidade específica de inativação (k , 1/min) (RAMOS, 2017).

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad (1)$$

Para condições constantes de processo, é possível resolver a equação diferencial ordinária de 1ª ordem da Equação (1) por separação de variáveis, resultando na Equação

(2), em que N_0 (UFC/mL) é a concentração inicial de micro-organismos antes do processo de pasteurização.

$$\ln N = \ln N_0 - kt \quad (2)$$

A Equação (2) pode ser transformada da forma logarítmica natural para logarítmica decimal, como apresentada na Equação (3).

$$\text{Log } N = \log N_0 - \frac{kt}{\ln 10} \quad (3)$$

Em termobacteriologia, o tempo de redução decimal (D , min) é o tempo necessário para reduzir a concentração microbiana em 90% a uma dada temperatura constante, ou seja, redução de um ciclo logaritmo (FRAVET, 2006; RAMOS, 2017). Portanto, é possível relacionar D e k pela Equação (4).

$$D = \frac{\ln 10}{k} \quad (4)$$

Substituindo a Equação (4) na Equação (3), tem-se a Equação (5), que apresenta uma relação explícita entre o logaritmo decimal da concentração microbiana e o tempo de processo, tendo D com parâmetro ajustável do modelo.

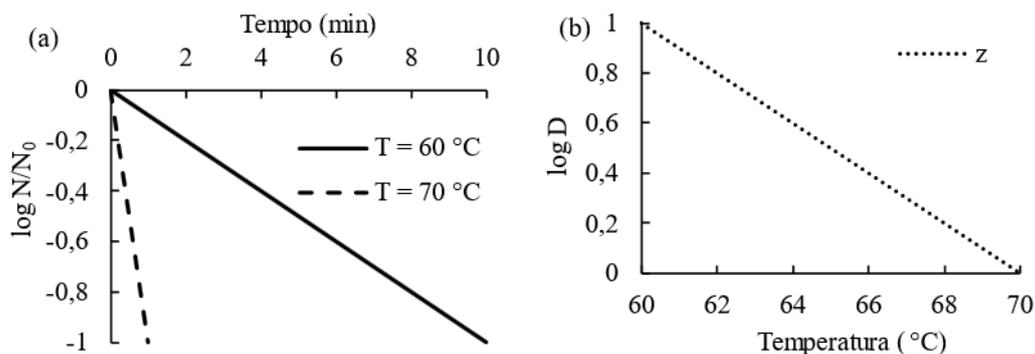
$$\text{Log} \left(\frac{N}{N_0} \right) = - \frac{t}{D} \quad (5)$$

Os valores de D de um micro-organismo são determinados em função da temperatura do processo (T , °C), sendo que o valor de D diminui com o aumento da temperatura, ou seja, a elevação da temperatura faz com que a inativação de micro-organismos seja mais rápida. Assim, é possível estabelecer uma relação entre D e T por um modelo secundário (WHITING, BUCHANAN, 1993), como apresentado na Equação (6), em que o valor de z (°C) é o aumento da temperatura necessária para que ocorra a redução de 90% do valor de D , ou seja, é o aumento da temperatura que garante um ciclo logarítmico de redução do valor de D , e D_{ref} (min) é o tempo de redução decimal a uma dada temperatura de referência (T_{ref} , °C) (FRAVET, 2006).

$$\text{Log} \left(\frac{D}{D_{ref}} \right) = \frac{T_{ref} - T}{z} \quad (6)$$

Simulações com exemplos hipotéticos que ilustram as respostas dadas pelas Equações (5) e (6) são apresentadas na Figura 1. Os exemplos mostram que o aumento da temperatura de pasteurização em 10 °C (valor z) reduz o valor de D em 90% (9 min), observando assim uma economia de tempo no processo de pasteurização pelo aumento da temperatura.

Figura 1. (a) Exemplos hipotéticos dos tempos necessários para uma redução decimal nas concentrações microbianas a 60 °C ($D = 10$ min) e 70 °C ($D = 1$ min); (b) Exemplo hipotético do aumento de temperatura necessário para uma redução decimal em D ($z = 10$ °C).



Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Os parâmetros para os cálculos dos binômios de tempo e temperatura dos processos de pasteurização do leite apresentados no *Codex Alimentarius* (2011) e os propostos por Enright *et al.* (1957), bem como as informações complementares apresentadas por Cerf e Condron (2006), os quais são alguns dos principais estudos da resistência do patógeno *C. burnetii*, foram utilizados como materiais básicos para as simulações deste trabalho. Assim, os valores de $D_{ref} = 6,00$ min à $T_{ref} = 63,0$ °C, apresentados no *Codex Alimentarius*, foram utilizados como parâmetros de referência dos processos de pasteurização simulados, chamados de precaucionários, bem como o valor de $z = 4,33$ °C. Os valores de $D_{ref} = 4,14$ min à $T_{ref} = 62,8$ °C, obtidos experimentalmente por Enright *et al.* (1957), foram utilizados como parâmetros comparativos para as simulações, chamados de experimentais, bem como o valor de $z = 4,34$ °C.

Outros binômios de tempo e temperatura foram propostos para aumentos de 1 °C entre as temperaturas mínimas dos processos LTLT (63 °C) e HTST (72 °C), mantendo as faixas de temperatura estabelecidas na legislação (2 °C para temperaturas menores, a partir de 63 °C, e 3 °C para temperaturas maiores, a partir de 69 °C). O tempo ou a faixa de tempo equivalente de cada processo de pasteurização nas diferentes faixas de temperaturas foram determinados utilizando as equações (5) e (6) com os parâmetros precaucionários apresentados no *Codex Alimentarius*. Tais binômios estáticos tem o propósito de mostrar a dimensão da diminuição do tempo do processo de pasteurização ao elevar somente em 1 °C a faixa de temperatura do processo, mantendo a equivalência na redução de micro-organismos conforme a legislação vigente (5 ciclos logarítmicos).

Simulações de perfis de tempo e temperatura de pasteurização foram realizadas para processos com diferentes condições de aquecimento, temperatura de manutenção e resfriamento do leite. O aquecimento e o resfriamento foram calculados com base no fornecimento de potência (P , em W) por unidade de massa de leite (m , em kg), conforme a Equação (7), em que o calor específico do leite ($c_{p,leite}$, em kJ/(kg°C)) foi calculado com as Equações (8) a (13), de acordo com Ashrae (2006). As frações mássicas médias de cada componente (x_i) que foram consideradas para o leite foram $x_{umidade}=87,5\%$, $x_{proteína}=3,5\%$, $x_{gordura}=3,5\%$, $x_{carboidrato}=4,8\%$ e $x_{cinzas}=0,7\%$.

$$\frac{dT}{dt} = \frac{P}{c_{p,leite}m} \quad (7)$$

$$c_{p,proteína} = 2008,2 + 1,2089T - (1,3129 \times 10^{-3})T^2 \quad (8)$$

$$c_{p,gordura} = 1984,2 + 1,4733T - (4,8008 \times 10^{-3})T^2 \quad (9)$$

$$c_{p,carboidrato} = 1548,8 + 1,9625T - (5,9399 \times 10^{-3})T^2 \quad (10)$$

$$c_{p,cinzas} = 1092,6 + 1,8896T - (3,6817 \times 10^{-3})T^2 \quad (11)$$

$$c_{p,umidade} = 4176,2 - (9,0864 \times 10^{-2})T + (5,4731 \times 10^{-3})T^2 \quad (12)$$

$$c_{p,leite} = \sum c_{p,i}x_i \quad (13)$$

Os perfis foram simulados partindo da temperatura de armazenamento do leite cru (4 °C), iniciando com o aquecimento com valores de P/m de 50 W/kg, 250 W/kg e 750 W/kg até atingirem as temperaturas de pasteurização de 63,0 °C, 63,5 °C, 64,0 °C, 64,5 °C e 65,0 °C, seguidos de resfriamento nos mesmos valores de P/m até atingirem a temperatura inicial da fabricação de queijos (34 °C) (BYLUND *et al.*, 2015; COBO, 2013; BRIGUIET, 2021). Esses perfis dinâmicos têm por objetivo mostrar o efeito da temperatura ao longo do tempo no processo de pasteurização, desde o aquecimento até o resfriamento do leite, aplicando diferentes potências por unidade de massa a fim de observar a economia de tempo com o aumento dos valores de T e P/m .

Os cálculos e simulações da inativação microbiana no leite foram realizados no aplicativo *Microsoft Excel (Microsoft Office 365® Education)*. As resoluções das equações diferenciais de primeira ordem foram realizadas com o método de Runge-Kutta de quarta ordem.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados binômios de tempo e temperatura simulados a partir das equações (5) e (6) e dos parâmetros de resistência térmica de *C. burnetii* em

leite apresentadas no *Codex Alimentarius* (parâmetros precaucionários: $D_{ref} = 6,00$ min à $T_{ref} = 63,0$ °C, $z = 4,33$ °C). Os binômios calculados apresentam equivalência aos processos estabelecidos na legislação (LTLT e HTST), apresentando o mesmo número mínimo de reduções decimais (5 ciclos logarítmicos).

Apesar de o *Codex Alimentarius* (2011) preconizar que a pasteurização é um processo que deve atingir uma redução de 5 ciclos logarítmicos, a aplicação dos binômios de tempo e temperatura sugeridos atingem maior número de reduções. Considerando os parâmetros de resistência térmica de *C. burnetii* obtidos experimentalmente por Enright *et al.* (1957), as reduções mínimas atingidas são de, aproximadamente, 8 ciclos logarítmicos. Esta redução adicional é chamada de princípio da precaução (CERF; CONDRON, 2006).

Os binômios apresentados na Tabela 1 são equivalentes aos estabelecidos pela legislação e, deste modo, podem ser validados para serem utilizados em processos reais de pasteurização. Desta forma, ao aumentar a temperatura média em apenas 1 °C, observa-se uma grande redução no tempo de pasteurização. Por exemplo, na comparação entre os binômios LTLT e 64-66, a redução do tempo chega a 12 min e 22 s (41% de redução no tempo). Isso mostra que o aumento da temperatura média do processo de pasteurização em apenas 1 °C pode acarretar maior rapidez do processo e possível economia de custos. Outro exemplo é a comparação entre os binômios LTLT e 66-68, em que a redução do tempo de pasteurização chega a 23 min e 55 s (79,7% de redução no tempo). Deste modo, quanto maior é o aumento da temperatura de pasteurização, menor é o tempo de processo.

Tabela 1. Faixas de temperaturas e tempos do processo equivalentes aos binômios estabelecidos na legislação (LTLT e HTST) propostos a partir de simulações com os parâmetros precaucionários apresentados no *Codex Alimentarius*.

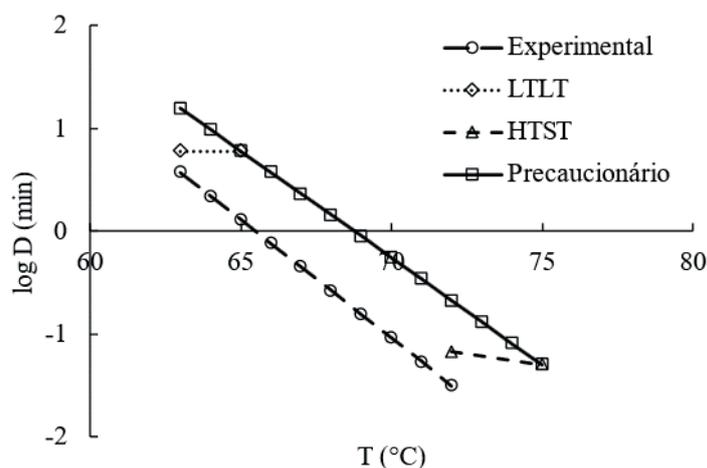
Nome	Faixas de temperaturas	Tempo do processo	Reduções decimais
LTLT	63 °C a 65 °C	30 min	5,00
64-66	64 °C a 66 °C	17 min 38 s	5,00
65-67	65 °C a 67 °C	10 min 22 s	5,00
66-68	66 °C a 68 °C	6 min 5 s	5,00
67-69	67 °C a 69 °C	3 min 35 s a 4 min 46 s	5,00
68-70	68 °C a 70 °C	2 min 6 s a 2 min 48 s	5,00
69-72	69 °C a 72 °C	1 min 14 s a 1 min 39 s	5,00
70-73	70 °C a 73 °C	44 s a 58 s	5,00
71-74	71 °C a 74 °C	26 s a 34 s	5,00
HTST	72 °C a 75 °C	15 s a 20 s	5,00

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

A Figura 2 apresenta as relações entre o logaritmo do tempo de redução decimal ($\log D$, D em min) e a temperatura (T , em °C) obtidas para os processos precaucionário (com base no *Codex Alimentarius*), experimental (com base nos resultados de Enright *et al.* (1957)) e os estabelecidos pela legislação (LTLT e HTST).

De acordo com a Figura 2, o processo precaucionário sugerido pelo *Codex Alimentarius* (2011) apresenta maiores tempos de redução decimal que o processo experimental à mesma temperatura, ou seja, o tempo do processo precaucionário será mais longo para a redução de 90% da concentração de micro-organismos em comparação com o experimental.

Figura 2. Relações entre o logaritmo do tempo de redução decimal ($\log D$) e a temperatura (T) obtidas para os processos LTLT (\diamond), HTST (Δ), com parâmetros precaucionários (\square) e experimentais (\circ).



Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Considerando as informações da Tabela 1 e da Figura 2, enquanto o processo precaucionário sugere que será atingida uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *C. burnetii* na pasteurização do leite, no processo experimental podem ser atingidas reduções em torno de 8 ciclos logarítmicos. Os binômios de tempo e temperatura foram estabelecidos com base em condições de higiene observadas há mais de 60 anos, em que a pasteurização era efetiva como medida de segurança (CODEX ALIMENTARIUS, 2011). A elevação do estado de higiene dos rebanhos ao longo do tempo permitiria que fossem aplicadas medidas de controle de menor intensidade; porém, as indústrias têm como ganho a extensão da vida útil do produto (CODEX ALIMENTARIUS, 2011).

A Tabela 2 apresenta os tempos de aquecimento, inativação, resfriamento e total, bem como as reduções decimais com parâmetros conservativos e experimentais, para processos de pasteurização do leite com diferentes perfis de temperatura resultantes de diferentes valores de potência por unidade de massa e temperatura de manutenção.

Na Tabela 2 é possível observar que o aumento da temperatura de pasteurização do leite (de 63,0 °C até 65,0 °C) resultaram em grande redução do tempo total do processo de pasteurização (de 142,54 min a 63 °C para 50 W/kg até 10,44 min a 65 °C para 750 W/kg). O aumento dos valores de potência por unidade de massa (de 50 W/kg até 750 W/kg) também resultaram em grande redução do tempo de aquecimento (de 78,71 min até 5,08 min). Deste modo, observa-se que pequenos aumentos de potência por unidade de massa e

de temperatura de pasteurização resultam em grandes reduções do tempo de inativação microbiana (de 29,55 min até 2,15 min). Para pequenas indústrias de fabricação de leite e seus derivados (como, por exemplo, queijarias), a diminuição do tempo deste processo resultará na redução importante do custo de energia, resultando em rentabilidade para a empresa.

Tabela 2. Tempos de aquecimento (t_{aqu}), inativação (t_{ina}), resfriamento (t_{res}) e total (t_{tot}) e reduções decimais com parâmetros conservativos ($\Delta \log Cb_{con}$) e experimentais ($\Delta \log Cb_{exp}$) para processos de pasteurização do leite com diferentes perfis de temperatura (T) resultantes de diferentes potências por unidade de massa (P/m).

P/m (W/kg)	T (°C)	t_{tot} (min)	t_{aqu} (min)	t_{ina} (min)	t_{res} (min)	$\Delta \log Cb_{con}$	$\Delta \log Cb_{exp}$
50	63,0	142,54	76,13	28,94	37,47	-5,18	-10,58
50	63,5	130,10	76,77	15,21	38,12	-5,33	-10,84
50	64,0	123,94	77,43	7,76	38,76	-5,60	-11,34
50	64,5	121,20	78,06	3,72	39,41	-6,10	-12,25
50	65,0	120,30	78,71	1,54	40,05	-7,05	-13,98
250	63,0	52,51	15,23	29,79	7,49	-5,04	-10,32
250	63,5	39,03	15,35	16,05	7,62	-5,07	-10,36
250	64,0	31,84	15,48	8,60	7,75	-5,12	-10,45
250	64,5	28,06	15,62	4,57	7,88	-5,22	-10,62
250	65,0	26,13	15,74	2,38	8,01	-5,41	-10,95
750	63,0	37,50	5,08	29,93	2,50	-5,01	-10,27
750	63,5	23,85	5,12	16,19	2,54	-5,02	-10,28
750	64,0	16,49	5,16	8,74	2,58	-5,04	-10,30
750	64,5	12,54	5,21	4,71	2,63	-5,07	-10,35
750	65,0	10,44	5,25	2,52	2,67	-5,14	-10,45

Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Analisando comparativamente os resultados para um único valor de potência por unidade de massa, nota-se que o aumento da temperatura de pasteurização leva a um aumento nos tempos de aquecimento e resfriamento, bem como ao aumento das reduções decimais com parâmetros conservativos e experimentais. Isso pode ser explicado pela inativação de micro-organismos que continua acontecendo, especialmente durante o resfriamento. Desse modo, conforme aumenta o tempo de resfriamento, as reduções decimais também aumentam.

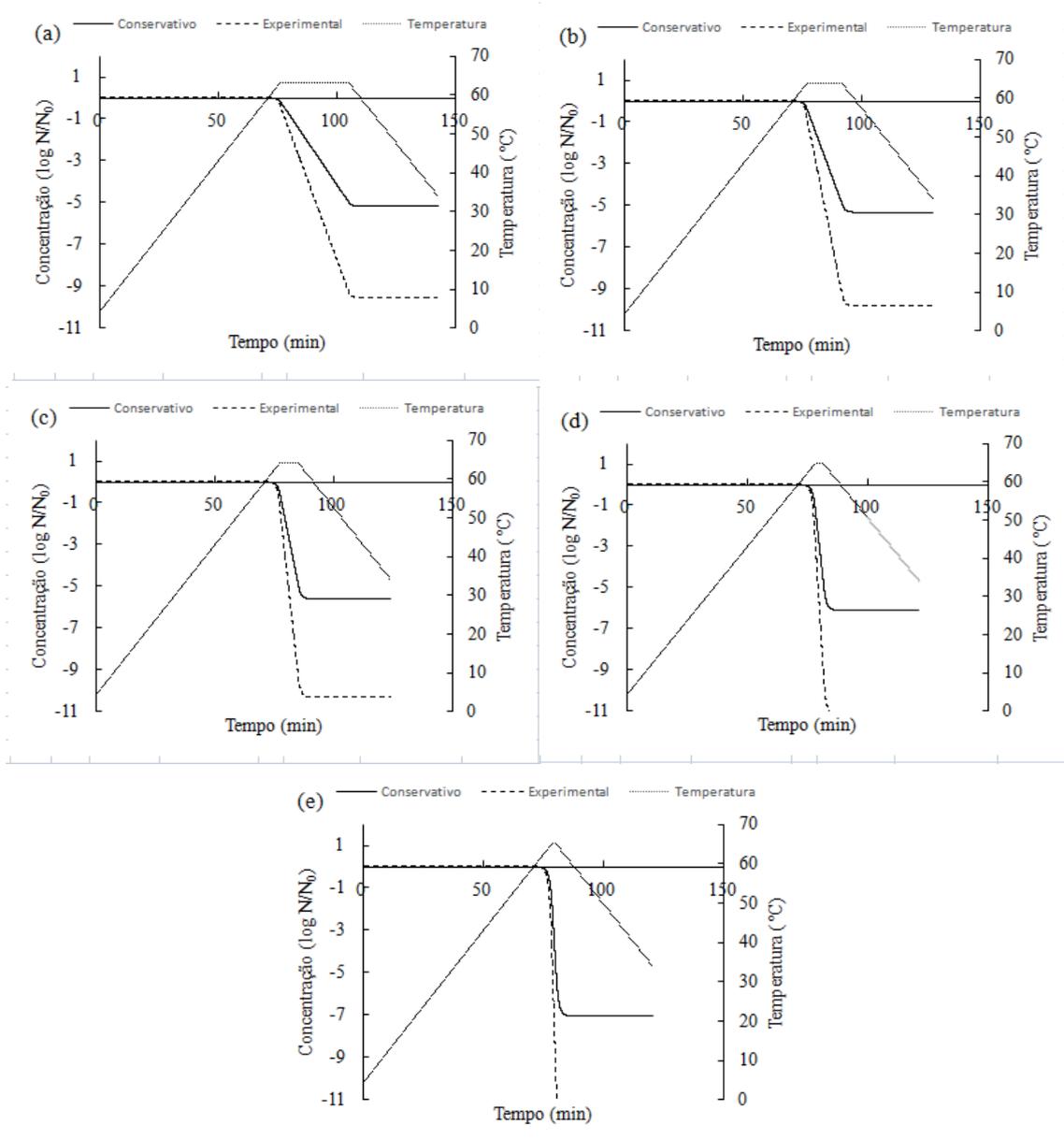
As Figuras 3, 4 e 5 apresentam simulações com a comparação da inativação microbiana com parâmetros conservativos e experimentais para diferentes perfis de tempo e temperatura com P/m de 50 W/kg, 250 W/kg e 750 W/kg, respectivamente. As simulações permitem observar que, quando a potência por unidade de massa de 50 W/kg é aplicada, o tempo de aquecimento até a temperatura de pasteurização é de, aproximadamente, 77 min, conforme apresentado na Figura 3. O aumento da potência para 750 W/kg proporciona uma redução drástica no tempo de aquecimento para, aproximadamente, 5 min, conforme apresentado na Figura 5.

Com o aumento da temperatura do processo de pasteurização (de 63,0 °C até 65,0 °C), o tempo de inativação também é reduzido drasticamente, obtendo o mesmo número de ciclos

logarítmicos de redução da concentração de *C. burnetii* no leite, como pode ser visto nas Figuras 3, 4 e 5. Nota-se também que, com o aumento da potência por unidade de massa, há aumento do tempo de inativação em uma mesma temperatura, devido à diminuição do tempo de aquecimento. Desse modo, como a inativação de micro-organismos inicia durante o aquecimento, o tempo de inativação é maior para maiores potências por unidade de massa até que seja atingida a redução de 5 ciclos logaritmos para parâmetros conservativos e, conseqüentemente, mais de 8 ciclos logarítmicos para parâmetros experimentais. Por fim, durante o resfriamento, há uma inativação adicional que ocorre conforme a temperatura diminui. Em resfriamentos lentos, como a 50 W/kg, a redução adicional pode chegar a 2,05 ciclos logarítmicos, totalizado 7,05 reduções decimais com parâmetros conservativos. Em resfriamentos rápidos, como a 750 W/kg, o número de reduções decimais é pouco maior que 5,00, conforme o objetivo do processo; ou seja, a eliminação de micro-organismos chega a 5 ciclos logarítmicos ao fim da etapa de inativação, e esse valor aumenta durante a etapa de resfriamento devido a eliminação continuar.

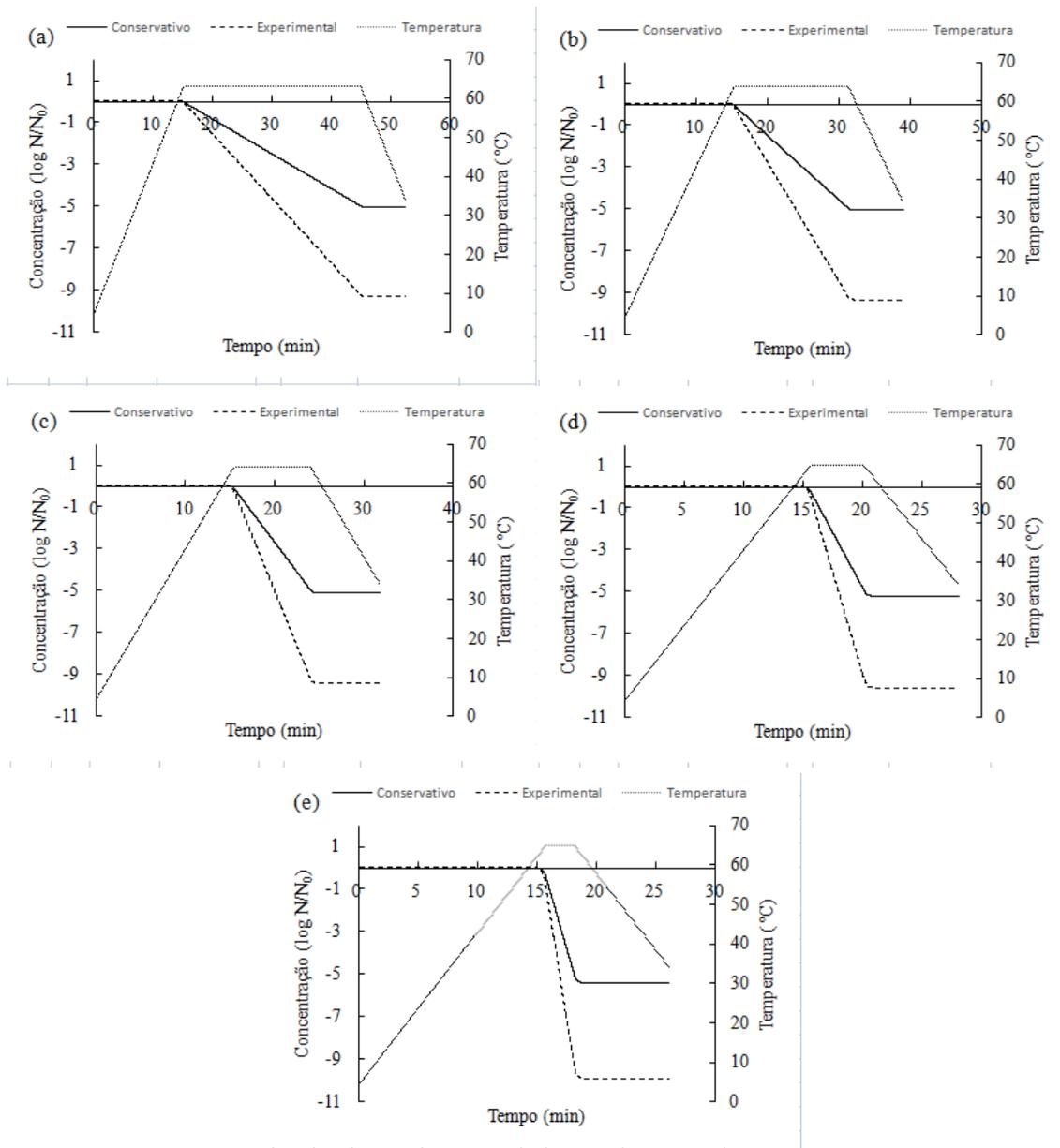
Assim como a *C. burnetii*, que é o micro-organismo alvo do processo de pasteurização, outros micro-organismos patogênicos que podem estar presentes no leite cru causam preocupação do ponto de vista da segurança de alimentos, entre eles estão as enterobactérias. Esses normalmente constam nas legislações entre os requisitos microbiológicos a serem atingidos após o processo de pasteurização relacionados à higiene do processo. Na Instrução Normativa (IN) N° 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2011), revogada pela IN N° 77/2018 do MAPA (BRASIL, 2018), contagens de micro-organismos como *Salmonella* spp., coliformes totais e termotolerantes constavam como requisitos do processo de pasteurização. Atualmente, a IN N° 76/2018 do MAPA (BRASIL, 2018) apresenta como único critério microbiológico a contagem de *Enterobacteriaceae*.

Figura 3. Comparação da inativação microbiana com parâmetros dos modelos conservativo e experimental para diferentes perfis de tempo e temperatura com $P/m = 50 \text{ W/kg}$: (a) até $63,0 \text{ }^\circ\text{C}$; (b) até $63,5 \text{ }^\circ\text{C}$; (c) até $64,0 \text{ }^\circ\text{C}$; (d) até $64,5 \text{ }^\circ\text{C}$; (e) até $65,0 \text{ }^\circ\text{C}$.



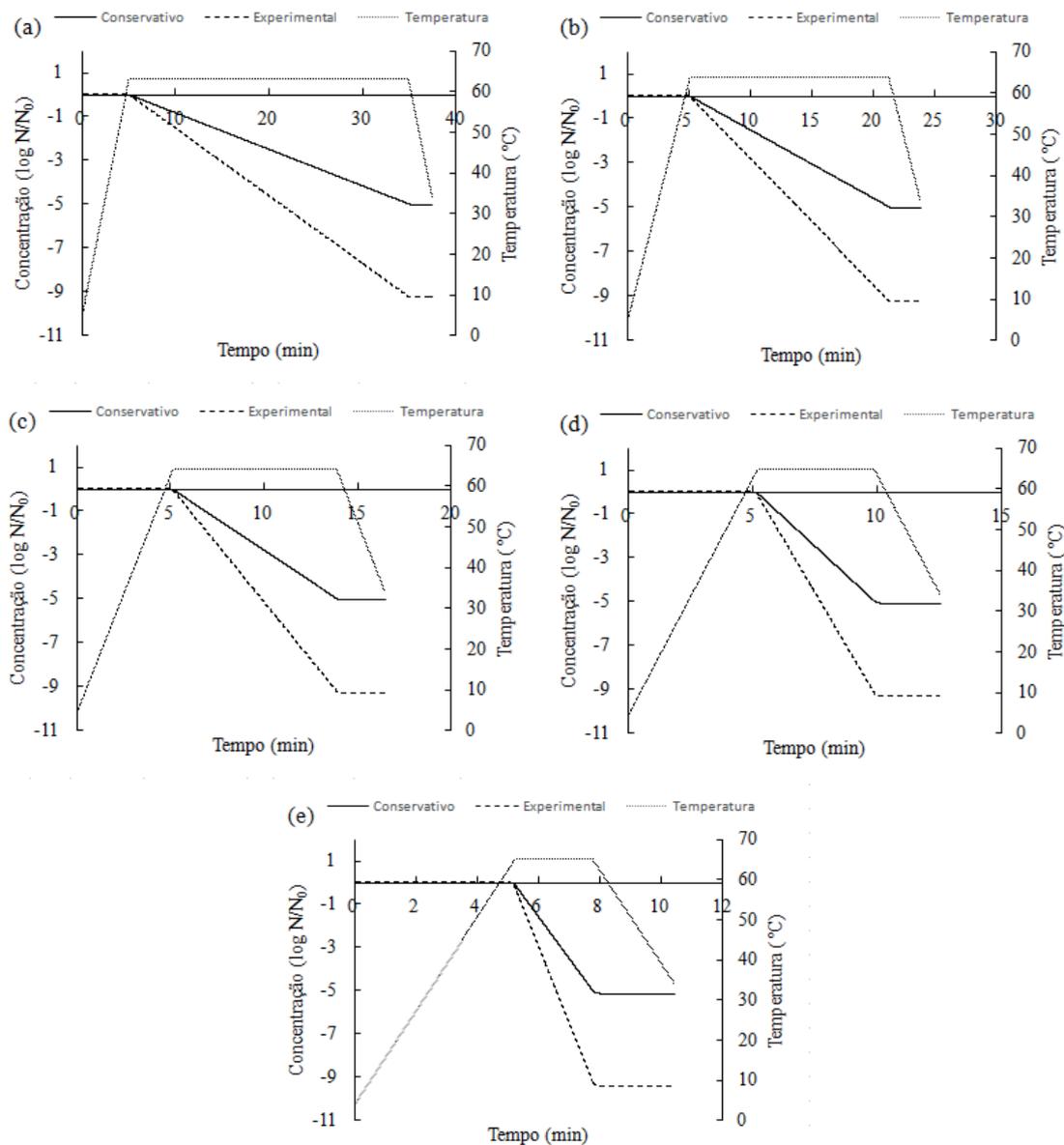
Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Figura 4. Comparação da inativação microbiana com parâmetros dos modelos conservativo e experimental para diferentes perfis de tempo e temperatura com $P/m = 250 \text{ W/kg}$: (a) até 63,0 °C; (b) até 63,5 °C; (c) até 64,0 °C; (d) até 64,5 °C; (e) até 65,0 °C.



Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Figura 5. Comparação da inativação microbiana com parâmetros dos modelos conservativo e experimental para diferentes perfis de tempo e temperatura com $P/m = 750 \text{ W/kg}$: (a) até 63,0 °C; (b) até 63,5 °C; (c) até 64,0 °C; (d) até 64,5 °C; (e) até 65,0 °C.



Fonte: elaborada pelos autores (2022).

De acordo com Juffs (2007), *Enterobacter sakazakii* está entre as enterobactérias mais termotolerantes desse grupo, a qual pode causar uma doença grave em crianças, a meningite. A contaminação do leite já pasteurizado pode ocorrer por contaminação cruzada na embalagem. Para evitar a presença de *E. sakazakii*, o controle está diretamente focando no processo de pós-pasteurização, que é um ponto sensível onde ocorre a contaminação.

A Tabela 3, gerada a partir dos estudos de Nazaro-White e Farber (1997), com dados de *E. sakazakii* calculada por Breeuwer *et al.* (2003), com os dados do primeiro autor, apresenta os tempos de redução decimal na temperatura de referência de 72 °C de micro-organismos que podem estar presentes no leite cru.

Tabela 3. Tempos de redução decimal (D) na temperatura de 72 °C de outros micro-organismos que podem estar presentes no leite cru.

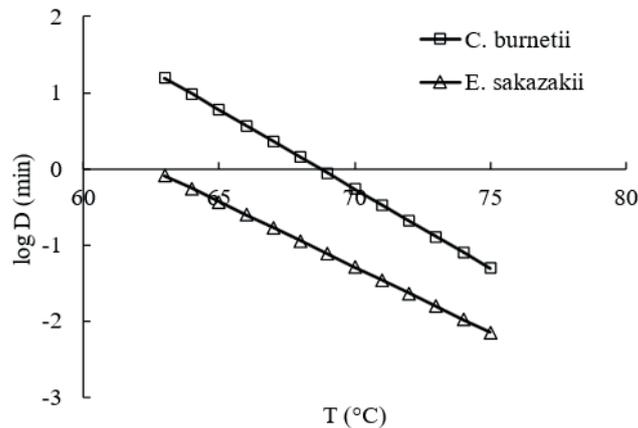
Micro-organismo	$D_{72\text{ }^{\circ}\text{C}}$ (s)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,01476
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,07033
<i>Escherichia coli</i>	0,15669
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1,30088
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00008
<i>Salmonella Muenster</i>	0,07214
<i>Salmonella Seftenberg</i>	0,08417
<i>Salmonella Typhimurium</i>	0,22000
<i>Shigella dysenteria</i>	0,13045
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,91208

Fonte: adaptado de Nazaro-White e Farber (1997) e Breeuwer et al. (2003).

Utilizando a Equação (6) com os parâmetros experimentais obtidos por Enright *et al* (1957), o micro-organismo *C. burnetii* apresenta um valor $D_{72\text{ }^{\circ}\text{C}}$ de 1,89 s, que é maior em relação a todos os outros micro-organismos apresentados na Tabela 3. O micro-organismo com resistência térmica mais próxima é *E. sakazakii*, que apresenta um valor $D_{72\text{ }^{\circ}\text{C}}$ de 1,30 s e um valor de z de 5,82 °C (JUFFS, 2007). Desse modo, o processo de pasteurização, que tem como objetivo a inativação da *C. burnetii* por ser o micro-organismo mais resistente, elimina também os outros micro-organismos patogênicos que podem estar presentes no leite. A Figura 6 mostra as relações entre o logaritmo do tempo de redução decimal ($\log D$, D em min) e a temperatura (T , em °C) para os micro-organismos *C. burnetii* e *E. sakazakii*.

Nos estudos de Iversen *et al.* (2004), um processo térmico na temperatura de 62 °C por 15 segundos levou a inativação de 21 ciclos logarítmicos de *E. sakazakii*. Os dados de Breeuwer *et al.* (2003) sugerem que o processo térmico na mesma temperatura (62 °C) por 15 segundos resultaria em uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *E. sakazakii*. Portanto, é possível observar que estudos diferentes podem apresentar diferenças em relação a resistência térmica dos micro-organismos, que podem estar relacionados a diferentes fatores, como a cepa microbiana, a composição do leite, a concentração de micro-organismos no estudo, entre outros.

Figura 6. Relações entre $\log D$ e a temperatura de pasteurização para *C. burnetii* e *E. sakazakii*.



Fonte: elaborada pelos autores (2022).

Nota-se que o micro-organismo *E. sakazakii* apresenta menor tempo de redução decimal que *C. burnetii* em toda a faixa de temperaturas de pasteurização prevista na legislação (63 °C a 75 °C), sendo que os tempos são mais próximos em temperaturas mais altas. Em temperaturas mais baixas, na pasteurização lenta, como as simulações realizadas neste estudo, as diferenças são maiores.

Os registros dos perfis de temperatura são tradicionalmente considerados nos cálculos dos processos de esterilização de alimentos em autoclaves (PISTOLESI *et al.*, 2019), já que variações significativas de temperatura podem ocorrer ao longo do processo térmico e devem ser consideradas. No presente trabalho é possível constatar que os registros dos perfis de temperatura podem ser importantes também no processo de pasteurização lenta, pois a inativação ocorre durante o aquecimento e o resfriamento, e por isso deveriam ser considerados. Além disso, nos equipamentos de pequenas indústrias, normalmente tanque encamisados de pequena escala, o controle de temperatura é escasso e a temperatura pode variar, sendo que esse fator também deve ser levado em consideração. Portanto, considerar os registros das temperaturas ao longo do tempo seriam recomendáveis para o cálculo do processo de pasteurização e, assim, reduzir o tempo e, conseqüentemente, o custo do processo.

■ CONCLUSÃO

Os perfis teóricos de tempo e temperatura propostos neste trabalho para o tratamento térmico do leite apresentaram maior eficiência em relação aos binômios estabelecidos pela legislação, mantendo a eficácia de redução do micro-organismo alvo. Binômios equivalentes de tempo e temperatura, alternativos aos estabelecidos na legislação, também foram apresentados. Para empresas de pequeno porte, a aplicação de novos binômios de tempo

e temperatura ou de perfis de tempo e temperatura que levem em consideração o aquecimento e o resfriamento do leite, como os propostos neste trabalho, podem ser viáveis, desde que o devido controle de temperatura seja realizado. Essas soluções podem acarretar uma grande redução do tempo de pasteurização, fazendo com que a empresa possa produzir em menor tempo, o que pode acarretar aumento de produtividade com menores custos de produção, devido à possível economia de energia nesse processo. É importante destacar que os binômios e perfis teóricos foram baseados no *Codex Alimentarius*, com parâmetros conservativos, apresentando um maior número de reduções decimais do que os simulados com parâmetros experimentais da literatura. Desse modo, se os cálculos fossem baseados nos parâmetros experimentais para a validação e implementação do processo de pasteurização, este seria ainda mais eficiente, com maior redução de tempo, podendo assim aumentar a produtividade desse processo.

■ REFERÊNCIAS

1. ANTUNES, V.C. Uso de microfiltração para melhoria da qualidade e extensão da vida de prateleira de leite pasteurizado. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, v. 17, n. 1, p. 75-86, 2014.
2. ASHRAE, American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers *et al.* **Refrigeration**. 2. ed. [S. l.]: Amer Society of Heating, 2006.
3. BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. [S. l.], 31 mar. 2017.
4. BRASIL. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 230, 30 nov. 2018. Seção 1, p. 9.
5. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011**. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 dez. 2011.
6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018**. Ficam estabelecidos os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial, na forma desta Instrução Normativa e do seu Anexo. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 230, 30 nov. 2018. Seção 1, p.10.
7. BREEUWER P., LARDEAU A., PETERZ M. and JOSTEN H.M. (2003). Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. J. Appl. Microbiol. 95, 967-973.

8. BRIGUIET, G. Calorimetria. [S. l.], 24 jun. 2021. Disponível em: <https://querobolsa.com.br/enem/fisica/calorimetria>. Acesso em: 8 nov. 2021.
9. BYLUND, G. **Dairy Processing Handbook**. 3. ed. rev. [S. l.]: Embalagem longa-vida, 2015. Disponível em: <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/primary-production-milk>. Acesso em: 9 nov. 2021.
10. CERF, O.; CONDRON, R. Coxiella burnetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle?. *Epidemiol. Infect.*, [s. l.], v. 134, n. 5, p. 946-951, 22 fev. 2006.
11. COBO, C. Determinación de calor específico de alimentos. [S. l.], 15 jul. 2013. Disponível em: <https://pt.slideshare.net/carloscobo1/determinacin-de-calor-especifico-de-alimentos/5>. Acesso em: 8 nov. 2021.
12. CODEX ALIMENTARIUS. Milk and Milk Products. **Organização Mundial da Saúde e Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas**, Rome, Italy, 2011.
13. ENRIGHT, J.B. et al. Pasteurization of Milk Containing the Organism of Q Fever. *American Journal of Public Health*, Atlantic City, p. 695-700, 1957.
14. FRAVET, F.F.M.F. **Modelagem e simulação do processo de esterilização térmica em batelada de vegetais em conserva**. 2006. 191 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.
15. HIGIENE ALIMENTAR, Revista. Dia mundial do leite, o alimento mais consumido do mundo. [S. l.], 1 jun. 2020. Disponível em: <https://higienealimentar.com.br/dia-mundial-do-leite-o-alimento-mais-consumido-do-mundo/>. Acesso em: 3 out. 2021.
16. IVERSEN C., LANE M. and FORSTYHE S.J. (2004). The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 38, 378-382.
17. JUFFS, H. Scientific Evaluation of Pasteurisation for Pathogen Reduction in Milk and Milk Products. **Food Standards**, Austrália, 2007.
18. LEITE, Z. T. C.; VAITSMAN, D. S.; DUTRA, P. B.; GUEDES, A. Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 876- 880, 2006.
19. NAZARO-WHITE M. and FARBER J.M. (1997). Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried infant formula. *Lett. Appl. Microbiol.* 24, 9-13.
20. PERALTA, L. Leite é o quarto maior faturamento no ranking do agronegócio. [S. l.], 14 jun. 2021. Disponível em: <https://agronews.tv.br/leite-e-o-quarto-maior-faturamento-no-ranking-do-agronegocio/>. Acesso em: 4 out. 2021.
21. RAMOS, L.V. **Inativação de Weissella viridescens in vitro por radiação ultravioleta**. 2017. 43 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
22. PISTOLESI, D.; MASCHERPA, V. Fo nota técnica, o que significa; como calculá-lo; como usá-lo para ajuste, controle e validação do processo de esterilização por calor úmido. **Fedegari Group, Departamento P&D**, Itália., 2018.
23. REVISTA INSUMOS: Pasteur, Pasteurização e Pasteurizador. Disponível em: http://www.insumos.com.br/sorvetes_e_casquinhas/materias/77.pdf. Acesso em: 24 set. 2021.

24. SNA, Sociedade Nacional de Agricultura. Dia Mundial do Leite e os desafios da cadeia. [S. l.], 1 jun. 2020. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/dia-mundial-do-leite-e-os-desafios-da-cadeia/>. Acesso em: 3 out. 2021.
25. WHITING, R.C.; BUCHANAN, R.L. A classification of models for predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 10, p. 175-177, 1993.

Uso de aditivos químicos em calda de conservas de cebola branca: aspectos microbiológicos e físico-químicos

| **Beatriz Campara**
UTFPR - Francisco Beltrão

| **Patricia Dall Agnol**
UTFPR - Francisco Beltrão

| **Ana Paula de Oliveira Schmitz**
UTFPR - Francisco Beltrão

| **Luciano Lucchetta**
UTFPR - Francisco Beltrão

RESUMO

As conservas vegetais acidificadas são uma das formas mais antigas de conservação de alimentos. Embora a tecnologia padrão para esse tipo de agroindustrialização já esteja estabelecida, ainda restam melhorias e inovações em andamento. As conservas de cebola branca estão entre os produtos industrializados que ainda sofrem dificuldades de adequação do processo para manutenção da qualidade do produto em prateleira. Dessa forma, é comum encontrarmos nas gôndolas de supermercados, conservas de cebola branca, com escurecimento e formação de precipitado na calda, o que influencia negativamente na aceitação do consumidor. Essas alterações estão ligadas a composição do alimento e sua interação com os ingredientes adicionados na conserva (calda de cobertura ou salmoura). Para superarmos esses problemas, estudos têm demonstrado que os ingredientes ou aditivos químicos com diferentes funções tecnológicas podem garantir a melhoria da estabilidade das conservas de cebola branca. Os aditivos químicos sorbato de potássio, benzoato de sódio, ácido cítrico e metabissulfito de sódio, utilizados em conjunto na formulação da calda de cobertura de conservas podem ser uma alternativa viável. De fato, caldas contendo ácido cítrico (1 mg/L) combinadas com adição de metabissulfito de sódio e sorbato de potássio apresentam os melhores resultados na manutenção de coloração e inibição de aparecimento de precipitados. A presença dos aditivos químicos sorbato de potássio, benzoato de sódio e metabissulfito de sódio inibem a formação de precipitados, atribuídos à presença de bolores e leveduras.

Palavras-chave: Cebolas, Salmoura, Micro-Organismo, Escurecimento, Ácido Cítrico.

■ INTRODUÇÃO

A cebola (*Allium cepa* L.) é uma olerícola cultivada em cerca de 175 países, sendo um dos principais condimentos em pratos das cozinhas do mundo. O mercado consumidor absorve com facilidade as cebolas de tamanho médio e grande. As cebolas menores, “caixa 1”, são rejeitadas nas cozinhas domésticas e/ou restaurantes. Desse modo, essas cebolas menores têm baixo valor e podem ser encaminhadas a utilização de outras formas como pastas, desidratadas, flocos ou para produção de conservas (BOTREL; OLIVEIRA, 2012). Esse aproveitamento das cebolas de tamanho reduzido torna-se interessante do ponto de vista comercial e contribui para a redução de desperdícios de produtos agrícolas e agregação de valor para o produtor e indústria.

A produção de conserva de cebola é um alimento acidificado com o uso de líquidos ácidos à base de vinagre, mantendo-se um pH em torno de 4,5 (SILVA *et al.*, 2010). Além do ácido acético, adiciona-se na calda de cobertura cloreto de sódio, açúcar cristal e ingredientes que auxiliam a cebola branca em conserva na manutenção da coloração adequada e estabilidade. São os agentes químicos como sorbato de potássio, benzoato de sódio, metabissulfito de sódio e ácido cítrico, que atuam como conservantes contra deteriorações por micro-organismos (JAY *et al.*, 2005) e também para inibir atividade de enzimas causadoras de escurecimento enzimático como as polifenoloxidasas (PPOs) (MOON *et al.*, 2020).

De todos os fatores de qualidade, a aparência visual das conservas de cebola é o determinante na escolha para compra ou consumo, sendo utilizada como medida de qualidade e valor econômico e indicador de degradação biológica ou físico-química, dentre outras características de qualidade. Dentre os problemas ligados ao aspecto visual, relata-se interações negativas entre os conservantes e a presença de contaminações por fungos (bolores e leveduras) através da matéria-prima. Também estão envolvidas reações de escurecimento em função dos compostos fenólicos e PPOs, levando à formação de pigmentos escuros (GORINSTEIN *et al.*, 2009).

Nesse sentido, as estratégias já estudadas, de maneira geral, utilizam em suas formulações sorbato de potássio ($C_6H_7KO_2$), benzoato de sódio ($C_7H_5NaO_2$) e metabissulfito de sódio ($Na_2S_2O_5$) além dos aditivos condimentares vinagre, cloreto de sódio e açúcar. Também, já testou-se a interação entre os aditivos sorbato de potássio, benzoato de sódio, metabissulfito de sódio e ácido cítrico (CAMPARA *et al.*, 2021).

Este capítulo descreverá detalhadamente os aspectos gerais das conservas de cebola, assim como os avanços na melhoria da estabilidade durante o armazenamento, considerando as características físico-químicas e microbiológicas de fungos (bolores e leveduras).

■ DESENVOLVIMENTO

INDUSTRIALIZAÇÃO DE VEGETAIS

A indústria de conservas vegetais agrupa um conjunto de atividades onde insere produção e distribuição de insumos rurais, a produção dos agricultores, o armazenamento e o processamento dos produtos rurais e seus subprodutos (SILVA; DA SILVA; FONTOURA, 2018). A relação é estreita com o agronegócio, mas também com as demais indústrias de transformação, distribuição, indústrias de embalagens, máquinas e equipamentos. Por fim, tem impacto na geração de empregos e produto interno bruto (PIB) do país (VIANA, 2016). Nas últimas duas décadas, a indústria de conservas de legumes e outros vegetais teve um grande crescimento puxado pelo aumento de demanda e busca de produtos mais saudáveis. A produção de olerícolas tem sido o mais expressivo tanto para consumo in natura como para a industrialização.

Os vegetais em conservas contribuem para tenhamos rentabilidade econômica para os produtores, agregação de valor, redução de perdas, e possibilidade de distribuição mais ampla no território nacional e internacional (FURTADO; SILVA, 2005). Além da conservação pós-colheita, o processo de beneficiamento proporciona praticidade, abastecimento de oferta, maior estabilidade dos preços e aproveitamento dos alimentos de diferentes formas (JUNQUEIRA; LUENGO, 2000).

CEBOLA

A cebola (*Allium cepa* L.) é um dos vegetais mais cultivados e utilizados no mundo, principalmente condimento nas cozinhas. O bulbo é sua parte comestível, conjunto de folhas modificadas intumescidas, denominadas catafilos. Suas propriedades também são reconhecidas como planta medicinal (BAUDOIN *et al.*, 2015). Sendo assim, a utilização da cebola na culinária oferece seu aroma, sabor e propriedades como atividade antibacteriana, anticancerígena, hipoglicêmica e antioxidante (BERETTA *et al.*, 2017; NILE *et al.*, 2018).

A China, Índia, Estados Unidos e Turquia são os principais produtores. O Brasil ocupa a nona posição (EPAGRI, 2013), destacando-se os estados de Santa Catarina, Bahia e Minas Gerais (IBGE, 2021). A diversidade climática do Brasil permite uma boa distribuição de safras com o plantio de diferentes cultivares nas diversas regiões, concentrada principalmente nos pequenos produtores.

A cebola é classificada em classes ou calibres de acordo com o diâmetro transversal do bulbo (Tabela 1).

Tabela 1. Classes das cebolas de acordo com o diâmetro transversal do bulbo.

Classes ou calibres	Maior diâmetro transversal do bulbo (mm)
1	maior que 15 até 35
2	maior que 35 até 50
3	maior que 50 até 70
4	maior que 70 até 90
5	maior que 90

Fonte: Basil (2019).

Também, ocorre a classificação quanto aos defeitos graves (talo grosso, brotado, podridão, mancha negra e mofado) e os defeitos leves (colo mal formado, deformado, falta de catáfilas externas, flacidez, descoloração e dano mecânico (BRASIL, 2017).

Composição centesimal e fitoquímicos da cebola

Os gêneros *Allium* destacam-se por conter compostos organossulfurados como os principais responsáveis pelos benefícios à saúde, podendo agir sinergicamente com os fitoquímicos. Os estudos até o momento tem destacado esses compostos e suas influências na saúde e processamento industrial (SALGADO, 2017). As cebolas são ricas em compostos de enxofre que são responsáveis por odor e sabor e também são agentes antimicrobianos ativos (LIGUORI *et al.*, 2017). Possuem em sua composição vários ácidos orgânicos e açúcares que fazem parte do perfil sensorial das cebolas (BREWSTER, 2008; LIGUORI *et al.*, 2017). Por outro lado, são pouco calóricas com grande conteúdo de água, em média 89% e presença de vitaminas e minerais (Tabela 2).

Tabela 2. Composição nutricional da cebola média (148 g) e porcentagem (%) do valor diário para uma dieta de 2000 kcal.

Composição nutricional da cebola	Dosagem	Porcentagem do valor diário (%)
Calorias	64 cal	3
Carboidratos totais	11g	4
Gordura total	0 g	0
Colesterol	0 g	0
Fibra Alimentar	3 g	12
Açúcares	9 g	**
Proteínas	1,6 g	3
Vitaminas		
Vitamina A	3 IU	0
Vitamina C	11,8 mg	20
Vitamina B6	0,2 mg	9
Folato	28,5 mcg	7
Minerais		
Cálcio	3,8 mg	4
Ferro	0,3 mg	2
Magnésio	15 mg	4
Fósforo	43,5 mg	4
Potássio	190 mg	5

Composição nutricional da cebola	Dosagem	Porcentagem do valor diário (%)
Sódio	5,0 mg	0
Zinco	0,3 mcg	2
Cobre	0,1 mg	3
Manganês	0,2 mcg	10
Selênio	0,7 mcg	1
Fluoreto	1,8 mg	**

** Valor diário não estabelecido. Fonte: FDA (2021).

A cebola contém altos índices de compostos fenólicos, sendo os flavonoides m dos tipos predominantes (LIGUORI *et al.*, 2017). Esses compostos envolvem reações de escurecimento enzimático durante o processamento (GORINSTEIN *et al.*, 2009; HAN *et al.*, 2016; OETTERER; REGINATO- D' ARCE; SPOTO, 2006). O escurecimento não enzimático também pode ocorrer (HONG; KIM, 2001). O escurecimento ou qualquer alteração da cor impacta diretamente na aceitabilidade e na qualidade dos alimentos.

Os flavonoides são os principais pigmentos dos vegetais (SELLAPPAN; AKOH, 2002). A estrutura básica de desses compostos compreende dois anéis de benzeno conectados por um heterociclo, o que baseia a classificação. A maioria desses pigmentos é amarela (latim, *flavus*), exceto as antocianinas, que possui tons de vermelho e azul (MACDOUGALL, 2002). As cebolas possuem esses diferentes flavonóides, responsáveis pela cor vermelha/roxo de algumas variedades, e flavonóis, como a quercetina, responsáveis pelo sabor amargo e pela cor amarela e marrom da pele/casca (GRIFFITHS *et al.*, 2002). Na comercialização, as cebolas são classificadas pela cor de sua casca em brancas, amarela, vermelha (pinhão ou bahia) e roxa. As cebolas brancas são as mais utilizadas para produção de conservas.

Conservas de cebola

O princípio básico de conservação de conservas vegetais é o calor (pasteurização ou esterilização), associado a outros agentes, como embalagens e aditivos, que garantam esse estado de inocuidade e estabilidade durante um determinado tempo. Esses processos são importantes frente aos causadores de deterioração dos alimentos, como micro-organismos, reações químicas e/ou enzimáticas. As alterações causadas por esses agentes podem ocorrer em função de características do alimento, sua composição e em decorrência de fatores externos (FURTADO; SILVA, 2005; KLUGE *et al.*, 2015).

As alterações de cor pela ação das enzimas PPO necessitam de controle garantindo a estabilidade dos produtos processados. No momento do processo, o contato entre as PPOs e os substratos fenólicos necessitam de inibição ou inativação por meio dos tratamentos durante o processo (QUEIROZ *et al.*, 2008). Normalmente, lança-se mão de tratamento térmico, acidificação ou redução usando antioxidantes, agentes quelantes ou extratos naturais (GUIAMBA; SVANBERG, 2016; MOON *et al.*, 2020). Além de serem condimentos, alguns dos

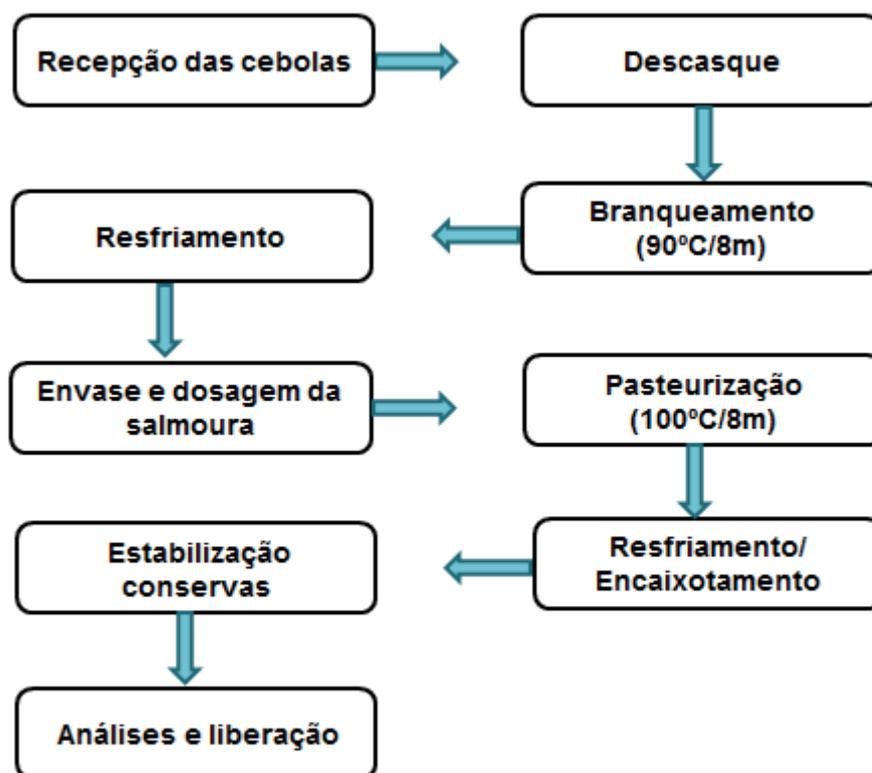
aditivos também auxiliam na estabilidade como o açúcar, sal, álcool, ácido acético (vinagre), ácidos orgânicos, mostarda e cravo. Também, os aditivos químicos não condimentares e agentes antimicrobianos, como o benzoato de sódio, ácido sórbico, ácido bórico, anidrido sulfuroso e tocoferóis (BORZANI *et al.*, 2011).

O ácido acético se destaca por ser o conservante culinário mais utilizado. Possui função como sequestrantes, acidulantes, agentes flavorizantes e estabilizador da acidez dos alimentos em conserva em proporções de 2 a 3%, garantindo também o ajuste do pH (MATOS *et al.*, 2019).

O branqueamento é uma das etapas mais importantes do processamento de conservas, pois tem função de inativar as enzimas que podem causar escurecimento, manter a consistência firme e as propriedades organolépticas e eliminar o ar presente nos interstícios celulares, responsáveis pela ocorrência de oxidações indesejáveis (OETTERER; REGINATO- D' ARCE; SPOTO, 2006). Já a pasteurização de conservas vegetais ácidas, é o tratamento térmico que elimina micro-organismos patogênicos ou deterioradores relativamente sensíveis ao calor.

No caso da cebola em conserva, os aspectos supramencionados merecem destaque, pois é utilizado ácido acético (vinagre) e embalagens de vidro transparentes. O mercado consumidor exige cebolas brancas sem aparência de escurecimento ou precipitados, portanto a estabilidade da cor deve ser garantida durante todo o período de validade da conserva. Além desse desafio, as indústrias trabalham principalmente com o excedente da produção de cebola destinada para comércio in natura, limitando seleção de variedades e tamanho (COSTA; ANDREOTTI, 2002). As alterações de coloração e formação de precipitados tem sido observado como aspecto de desafio para melhoria na produção de conservas de cebola branca (CAMPARA, 2021). As diversas etapas que compõem o processamento, que se inicia na colheita é realizado de forma padronizada (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma para produção de cebolas em conserva.



Fonte: Campara (2021).

Para a obtenção de uma conserva dentro dos padrões de qualidade exigidos pelo consumidor (sabor, aroma, calda transparente, sem escurecimento da calda ou de bulbos, sem precipitações na calda), já no início do processo faz-se a seleção das cebolas quanto a presença de defeitos e sujidades. Outra etapa de destaque é o branqueamento, normalmente realizado por imersão em água aquecida a 90 °C por 8 minutos.

Mesmo que se faça o tratamento térmico (pasteurização), a composição da salmoura ou calda de cobertura, tem sido motivo de estudos para que mantenham as condições de qualidade esperada das conservas de cebola. Assim, em trabalhos recentes de Campara *et al.* (2021), testaram-se algumas formulações, buscando identificar e otimizar aditivos e estudar suas interações. A estabilidade buscada e/ou níveis de qualidade visam impedir a rejeição de cebolas em conserva que não seguem padrões visuais desejáveis decorrentes de forma irregular, peças lesionadas, tamanhos não comerciais, bem como problemas de coloração no produto.

Aditivos químicos

Neste capítulo, pretendem-se destacar o trabalho realizado na otimização de uma formulação de calda que atenda esses padrões de qualidades desejáveis. Os aditivos químicos utilizados são já conhecidos pelas agroindústrias, porém, são utilizados de forma,

quantidades e combinações diferentes em entre as conservas vegetais. A Portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece as características básicas dos aditivos, como substância conservadora que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por micro-organismos ou enzimas (BRASIL, 2017). De acordo com seus mecanismos de ação, os inibidores químicos podem ser categorizados como antioxidantes, agentes redutores, agentes quelantes, acidulantes e/ou inibidores de PPO de tipo misto (MOON *et al.*, 2020).

Os sorbatos são muito versáteis, inibindo um longo espectro de micro-organismos, protegem o frescor de grande variedade de produtos e apresentam efeito quase nulo sobre o sabor dos alimentos. A aplicação do sorbato de potássio ($C_6H_7KO_2$) é eficaz na maioria dos alimentos em concentrações entre 0,05 e 0,3% (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2011), inibindo bolores e leveduras, embora também sejam ativos contra bactérias (SÁNCHEZ *et al.*, 2013).

O benzoato de sódio ($C_7H_5NaO_2$) possui atividade antimicrobiana relacionada ao pH e é maior em valores de pH reduzidos, com ação inibidora de leveduras e mofos. Em pH em torno de 5,0 a 6,0 cerca de 100 a 500 mg/L são necessários para inibir as leveduras, enquanto para os mofos são suficientes de 30 a 300 mg/L (JAY *et al.*, 2005).

Metabissulfito de Sódio ($Na_2S_2O_5$) é utilizado em uma gama extensa da industrialização de alimentos, durante os processos como no produto final. Possui ação de prevenir o escurecimento enzimático e não enzimático, ação antimicrobiana e atuar como agente antioxidante, redutor e clarificante. As leveduras e mofos possuem sensibilidade intermediária ao SO_2 . No entanto, concentrações de 0,2 a 20 mg L⁻¹ de ácido sulfuroso são eficientes contra algumas leveduras, incluindo os gêneros *Saccharomyces*, *Pichia* e *Candida*, ao passo que a espécie *Zygosaccharomyces bailii* necessita de até 230 mg/L para sua inibição em certas bebidas de frutas com pH 3,1 (JAY *et al.*, 2005). A utilização de sulfitos se mostra eficaz em filmes produzidos a base de polímero celulósico, que inibiu o escurecimento de maçãs, como inibidor de escurecimento enzimático em cogumelos *Agaricus bisporus* congelados durante 8 meses, esse mostrou-se mais efetivo na conservação da cor quando comparado a solução aquosa de ácido l-ascórbico a 0,1%, ácido cítrico a 0,5% e extrato de cebola (1 kg/5 L) (BERNASÍ; JAWORSKA, 2015).

O ácido cítrico é um aditivo para a indústria alimentícia com dupla finalidade: acidulante e conservante (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2011). É um ácido orgânico fraco e o principal efeito de tais ácidos como conservante é diminuir o pH citoplasmático dos micro-organismos e o ácido não dissociado pode ter efeitos específicos sobre o metabolismo, que amplificam os efeitos. Como consequência, forma-se um íon citrato. Os citratos são bons controladores de pH de soluções ácidas (RAHMAN, 2007). Em conservas vegetais, o ácido cítrico é utilizado para reduzir o processamento térmico, quelação de metais traços,

para evitar a oxidação enzimática, degradação da cor e realçar o sabor. A combinação de de ácidos (ácido málico, de ácido tartárico, de ácido cítrico de ácido fosfórico com cloreto de sódio (NaCl) em pickles causou uma redução maior de bactérias Gram-Negativas (*Escherichia coli* O157: H7 e *Salmonella* Typhimurium) (BAE; LEE, 2015).

Os estudos conduzidos por Campara (2021) e Campara *et al.* (2021) buscaram testar formulações contendo esses aditivos para redução de ocorrência de escurecimento e ampliação da estabilidade de conservas de cebola branca. A combinação de sorbato de potássio, benzoato de sódio e metabissulfito de sódio na salmoura provocou escurecimento das cebolas durante o período de armazenamento, demonstrando interação negativa entre os ingredientes. As conservas com salmoura sem metabissulfito de sódio apresentaram um rápido e intenso escurecimento do produto. A análise de componentes principais (ACP) mostrou que as variáveis pH, acidez, ΔE^* (coloração) e compostos fenólicos apresentaram correlação entre si (CP1), enquanto que as variáveis sólidas solúveis e contagem de fungos (CP2) são agrupadas de acordo com sua variabilidade.

A adição de ácido cítrico (1 mg/L) concomitante ao metabissulfito de sódio e sorbato de potássio demonstrou ser a combinação que garante melhor resultado, permitindo boa manutenção de qualidade do produto ao longo da simulação da vida útil de 240 dias, sem escurecimento, formação de manchas e precipitados. Os valores médios de pH obtidos nas formulações com ácido cítrico (2,18 para concentração de 0,5% m/v de ácido cítrico e 2,08 para concentração de 1,0% m/v de ácido cítrico), o que potencializaram o efeito inibitório para leveduras.

As conservas com a formulação sem o sorbato de potássio e sem o benzoato de sódio demonstraram alterações com formação de precipitado, resultando em contagem de bolores e leveduras. O aspecto visual do produto é prejudicado pelo aparecimento de precipitados de coloração amarelada ao longo do tempo de armazenamento, o que leva à rejeição pelos consumidores.

■ CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de conservas vegetais não é uma prática recente, caracterizada por buscar a conservação da produção excedente ou driblar a sazonalidade de produção dos alimentos. Com o tempo, esses objetivos se expandiram puxados pela demanda dos consumidores e avanço de tecnologias de produção e distribuição. Cada espécie possui suas particularidades de processamento, mesmo seguindo um rito, muitas vezes semelhante dado às características dos alimentos. No entanto, para algumas espécies de alimentos, o aproveitamento ainda incipiente ou enfrenta dificuldades tecnológicas como conservas de cebola branca. Então, mesmo sendo conhecido o processo, ainda restam melhorias a serem feitas.

A produção de conservas de cebola branca enfrenta algumas dificuldades, como matéria prima não padronizada, caldas de cobertura/salmoura não totalmente adequadas para atender exigência de alta qualidade visual das cebolas nas embalagens de vidro. Os dados descritos aqui dão conta de que os aditivos químicos devem ser avaliados em formulações que possam garantir condições físico-químicas e microbiológicas adequadas ao produto, previstas pela legislação. Estudos nesse nível de investigação proporcionam o desenvolvimento de formulações mais efetivas e com possibilidade de redução da dosagem de aditivos químicos, diminuindo custos para as indústrias e melhorando a saudabilidade dos alimentos. No caso da calda para conservas de cebola branca, a adição de ácido cítrico, metabissulfito de sódio e sorbato de sódio são eficazes para evitar escurecimento, precipitados e aparecimentos de manchas esverdeadas.

■ REFERÊNCIAS

1. BAE, Y.M.; LEE, S.Y. Combined effects of organic acids and salt depending on type of acids and pathogens in laboratory media and acidified pickle. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 2, p. 455–464, 1 ago. 2015.
2. BAUDOIN, J.P. et al. Biologie, diversité et outils pour l'analyse de la diversité génétique de l'oignon, *Allium cepa* L. (synthèse bibliographique). <https://popups.uliege.be/1780-4507>, v. 19, n. 2, p. 184–196, 1 jan. 2015.
3. BERETTA, V. H. et al. Variability in spectrophotometric pyruvate analyses for predicting onion pungency and nutraceutical value. **Food Chemistry**, v. 224, p. 201–206, 1 jun. 2017.
4. BERNASÍ, E.; JAWORSKA, G. Effect of microwave blanching on the quality of frozen *Agaricus bisporus*. **Food Science and Technology International**, v. 21, n. 4, p. 245–255, 9 jun. 2015.
5. BORZANI, W. et al. **Biotecnologia Industrial**. 1 ed. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2011. v. 1
6. BOTREL, N.& OLIVEIRA, V. **Cultivares de cebola e alho para processamento**, 52. **Horticultura Brasileira** 30. Salvador: ABH. S8420-S8434. Congresso Brasileiro de Olericultura. **Anais**,2012. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/940923/cultivares-de-cebola-e-alho-para-processamento>>. Acesso em: 1 out. 2021
7. BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Produtos Vegetais Padronizados – Português (Brasil)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/produtos-vegetais-padronizados>>. Acesso em: 1 out. 2021.
8. BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - PORTARIA No 119, DE 3 DE JUNHO DE 2019 - PORTARIA No 119, DE 3 DE JUNHO DE 2019 - DOU - Imprensa Nacional**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-no-119-de-3-de-junho-de-2019-162424658>>. Acesso em: 2 out. 2021.
9. BREWSTER, J. **Onions and Other Vegetable Alliums**. 2nd Editio ed. Wellesbourne, UK: Horticulture Research International, 2008.

10. CAMPARA, B. et al. USO DE ADITIVOS QUÍMICOS NA REDUÇÃO DE ESCURECIMENTO DE CONSERVAS DE CEBOLA BRANCA (*Allium cepa* L) / USE OF CHEMICAL ADDITIVES TO REDUCE BROWNING IN WHITE ONION CANNED. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 27564–27582, 2021.
11. CAMPARA, B. **Uso de aditivos na redução do escurecimento de conservas de cebola branca e sua estabilidade**. Francisco Beltrão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 14 maio 2021.
12. COSTA, N. D.& ANDREOTTI, C. M. **Coleção Plantar: Cebola**. 1 ed. ed. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002.
13. EPAGRI. **Sistema de produção para a cebola de Santa Catarina**. 4. ed. Florianópolis: EPA-GRI, 2013.
14. FDA. **Onion Nutrition - National Onion Association**. Disponível em: <<https://www.onions-usa.org/all-about-onions/onion-nutrition/>>. Acesso em: 1 out. 2021.
15. FOOD INGREDIENTES BRASIL. Dossiê conservantes. n. 18, p. 23–25, 2011.
16. FURTADO, A. A. L.; SILVA, F. T. . Manual de processamento de conserva de pimenta. 2005.
17. GORINSTEIN, S. et al. Comparative control of the bioactivity of some frequently consumed vegetables subjected to different processing conditions. **Food Control**, v. 20, n. 4, p. 407–413, 1 abr. 2009.
18. GRIFFITHS, G. et al. Onions—A global benefit to health. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 7, p. 603–615, 1 nov. 2002.
19. GUIAMBA, I. R. F.; SVANBERG, U. Effects of blanching, acidification, or addition of EDTA on vitamin C and β -carotene stability during mango purée preparation. **Food Science & Nutrition**, v. 4, n. 5, p. 706, 1 set. 2016.
20. HAN, C. et al. Influence of wounding intensity and storage temperature on quality and antioxidant activity of fresh-cut Welsh onions. **Scientia Horticulturae**, v. 212, p. 203–209, 22 nov. 2016.
21. HONG, S.I.; KIM, D.M. Storage quality of chopped garlic as influenced by organic acids and high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 4, p. 397–403, 2001.
22. IBGE. **Série histórica da estimativa anual da área plantada, área colhida, produção e rendimento médio dos produtos das lavouras**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6588#resultado>>. Acesso em: 1 out. 2021.
23. JAY, J. M. et al. Microbiologia de alimentos. **Artmed**, p. 712, 2005.
24. JUNQUEIRA, A. H.; LUENGO, R. DE F. A. Mercados diferenciados de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 95–99, jul. 2000.
25. KLUGE, R. A. et al. Fatores que afetam a qualidade sensorial de produtos de IV e V gama. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, v. 16, n. 2, p. 173–179, 2015.
26. LIGUORI, L. et al. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Five White Onion (*Allium cepa* L.) Landraces. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 1–9, 2017.

27. MACDOUGALL, D. B. **Colour in food: improving quality**. 1 ed ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2002.
28. MATOS, A. D. et al. Sensory characterization of cucumbers pickled with verjuice as novel acidifying agent. **Food Chemistry**, v. 286, p. 78–86, 15 jul. 2019.
29. MOON, K. M. et al. Recent Trends in Controlling the Enzymatic Browning of Fruit and Vegetable Products. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2754, 15 jun. 2020.
30. NILE, A. et al. Valorization of onion solid waste and their flavonols for assessment of cytotoxicity, enzyme inhibitory and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 281–289, 1 set. 2018.
31. OETTERER, M.; REGINATO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos De Ciência E Tecnologia De Alimentos I 1ª Ed. - Manole - Manole**. 1 Ed ed. São Paulo: [s.n.].
32. QUEIROZ, C. et al. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. **Food Reviews International**, v. 24, n. 4, p. 361–375, out. 2008.
33. RAHMAN, M. S. Handbook of Food Preservation, Second Edition. **CRC Press**, p. 1053, 2007.
34. SALGADO, J. **ALIMENTOS FUNCIONAIS**. São Paulo: [s.n.].
35. SÁNCHEZ, A. H. et al. Chemical and colour changes related to the use of sorbates and ascorbic acid in pickled cucumbers and caperberries during long-term storage. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 1, p. 179–186, 1 jan. 2013.
36. SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C. Flavonoids and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Vidalia Onions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 19, p. 5338–5342, 11 set. 2002.
37. SILVA, G. J. F. DA et al. FORMULAÇÃO E ESTABILIDADE DE CORANTES DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS DAS CASCAS DE JABUTICABA (*M YRCIARIA ssp .*). **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 429–436, 2010.
38. SILVA, M. DA; DA SILVA, L. C. A.; FONTOURA, F. B. B. DA. Negociações interorganizacionais: Um estudo de caso a partir da incorporação da Germani Alimentos pelo grupo Dallas. **Espacios**, v. 39, n. 8, 2018.
39. VIANA, F. L. E. Indústria de alimentos. 2016.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Wiaslan Figueiredo Martins

Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal Goiano (IF Goiano). Coordenador de Educação Profissional Técnica de Nível Médio. Engenheiro de Alimentos pela Universidade Federal de Campina Grande - UFCG (2013), Mestre em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC (2015). Doutor em Engenharia de Alimentos pela UFSC, na área de concentração em Processos Biotecnológicos e Cinética Microbiana Aplicada, com período sanduíche na Universidad de Burgos - UBU, Espanha. Atua na área de Microbiologia, com ênfase em Microbiologia Preditiva Aplicada à Alimentos (modelagem matemática; softwares; estudo da vida útil de produtos cárneos; aplicação de radiação ultravioleta UV-C em alimentos) e Biologia Molecular de Microrganismos (DNA de bactérias ácido-lácticas deteriorantes da carne e produtos cárneos; PCR quantitativa - qPCR)..

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8726955804617572>

Cybelle Pereira de Oliveira

É docente da UFPB, Campus III. Graduação em Farmácia (2004), Mestrado (2009) e Doutorado (2014) em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, ambos pela UFPB. Desenvolveu dissertação com título Ações de bactérias lácticas de duas marcas comerciais de leites fermentados sobre o ganho de peso e parâmetros hematológicos e histopatológicos de ratos Wistar fazendo o uso de indometacina e tese com título Potencialidade de bactérias lácticas e bifidobactérias na biopreservação de alimentos. Tem experiência em Microbiologia (Geral, Alimentos e Aplicada), com ênfase para atividade antimicrobiana de compostos naturais (como óleos essenciais, extratos e bacteriocinas) e sintéticos, modulação da resistência em *Staphylococcus aureus* e produção de enzimas microbianas para fins farmacêuticos e/ou biotecnológicos (lipases e proteases) e em Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase para desenvolvimento de novos produtos alimentícios com apelo funcional. Além disso, tem certificação em Terapias Integrativas em Saúde, como Florais de Bach, Aromaterapia, dentre outras.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4553396482061253>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ácido Cítrico: 199, 200, 206, 207, 208

Aflatoxina b1: 162, 163, 164, 173, 174

Amido: 49, 78, 82, 111, 113, 114, 122

Avaliação Microbiológica: 20, 31, 46, 47, 48, 56, 66

B

Bactérias Probióticas: 125, 130, 132

Balneabilidade: 14, 18, 19

Biocontrole: 111, 121, 122, 123

Biossíntese: 163, 165, 172

Boas Práticas: 25, 27, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 53, 57, 61, 69, 73, 92, 108, 109, 153

Bolor Azul: 111, 121

Bpf: 91, 92, 108, 109

C

Ccr: 125, 132, 133, 134, 135, 136, 137

Cebolas: 199, 200, 202, 203, 204, 205, 207, 208

Coliformes: 14, 15, 16, 17, 18, 19, 40, 44, 48, 50, 51, 53, 72, 73, 98, 141, 143, 145, 146, 147, 148, 152, 153, 154, 159, 160, 189

Coliformes Termotolerantes: 14, 15, 16, 17, 18, 19, 50, 145, 146, 147, 152, 154

Conservação: 14, 19, 22, 39, 41, 56, 62, 87, 98, 99, 112, 195, 199, 201, 203, 206, 207

Contaminação: 15, 16, 18, 21, 22, 25, 26, 27, 30, 40, 41, 42, 44, 45, 48, 50, 51, 52, 53, 60, 73, 78, 92, 96, 97, 98, 99, 141, 145, 146, 147, 152, 153, 156, 158, 192

Coxiella Burnetii: 179, 196

E

Escherichia Coli: 14, 15, 16, 17, 18, 50, 51, 54, 95, 96, 97, 98, 135, 193, 207

Escurecimento: 199, 200, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209

F

Frutas: 111, 112, 121, 127, 146, 156, 157, 206

G

Goma de Mandioca: 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54

H

Higiene: 25, 28, 30, 40, 41, 44, 45, 46, 50, 51, 65, 69, 73, 91, 92, 107, 122, 147, 154, 158, 180, 187, 189, 196

I

Inativação Microbiana: 179, 185, 188, 190, 191, 192

L

Leite: 20, 57, 61, 65, 66, 70, 71, 73, 78, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 103, 109, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 179, 180, 181, 182, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 195, 196, 197

Levedura: 111, 113, 120, 122, 163, 164, 165, 166, 170, 171, 172, 174

M

Micro: 15, 16, 18, 25, 26, 27, 30, 35, 40, 41, 46, 48, 50, 51, 52, 53, 56, 57, 61, 63, 64, 78, 79, 83, 86, 92, 95, 96, 97, 112, 113, 126, 133, 134, 135, 145, 146, 152, 153, 154, 155, 156, 164, 180, 182, 183, 184, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 199, 200, 203, 204, 206

Microbiologia Preditiva: 77, 78, 79, 89, 182

Microbiota Intestinal: 125, 127, 130, 131, 133,

134, 135, 136, 137, 139, 146

N

Novos Produtos: 66, 69

O

Organismo: 18, 26, 27, 40, 52, 78, 79, 95, 127, 131, 133, 136, 139, 155, 164, 183, 189, 193, 194, 199

P

Patógeno: 77, 78, 84, 184

Pccs: 91, 93, 96, 100

Pcs: 91, 93, 96, 100

Pescado: 16, 18, 23, 56, 57, 58, 60, 63, 65, 66, 142, 150

Petit Suisse: 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 153

Piscicultura: 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 23, 141, 142, 144, 145, 147, 149, 150

Pop: 91, 92

Ppho: 91, 92, 93

Processamento: 26, 50, 56, 57, 58, 62, 63, 65, 66, 78, 85, 91, 92, 93, 96, 98, 99, 122, 123, 153, 159, 161, 201, 202, 203, 204, 206, 207, 208, 209

Processos Industriais: 179

Produto Saudável: 69

Q

Qualidade dos Alimentos: 29, 33, 35, 57, 203

Queijo Boursin: 152, 156, 161

Queijo Frescal: 152, 157, 160

R

Recursos Hídricos: 20, 21, 22, 141, 142

Refeições Prontas: 33

Rio são Francisco: 14, 17, 18, 21, 22

S

Saccharomyces Cerevisiae: 162, 163, 164, 165, 170, 174, 175, 176

Salmoura: 58, 59, 199, 205, 207, 208

Segurança de Alimentos: 24, 25, 27, 29, 77, 78, 189

Segurança dos Alimentos: 25, 30, 33, 45, 109

Seguridade Alimentar: 26

Serviços de Alimentação: 30, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 108

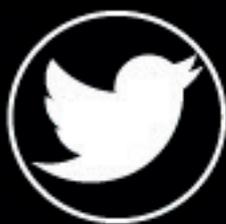
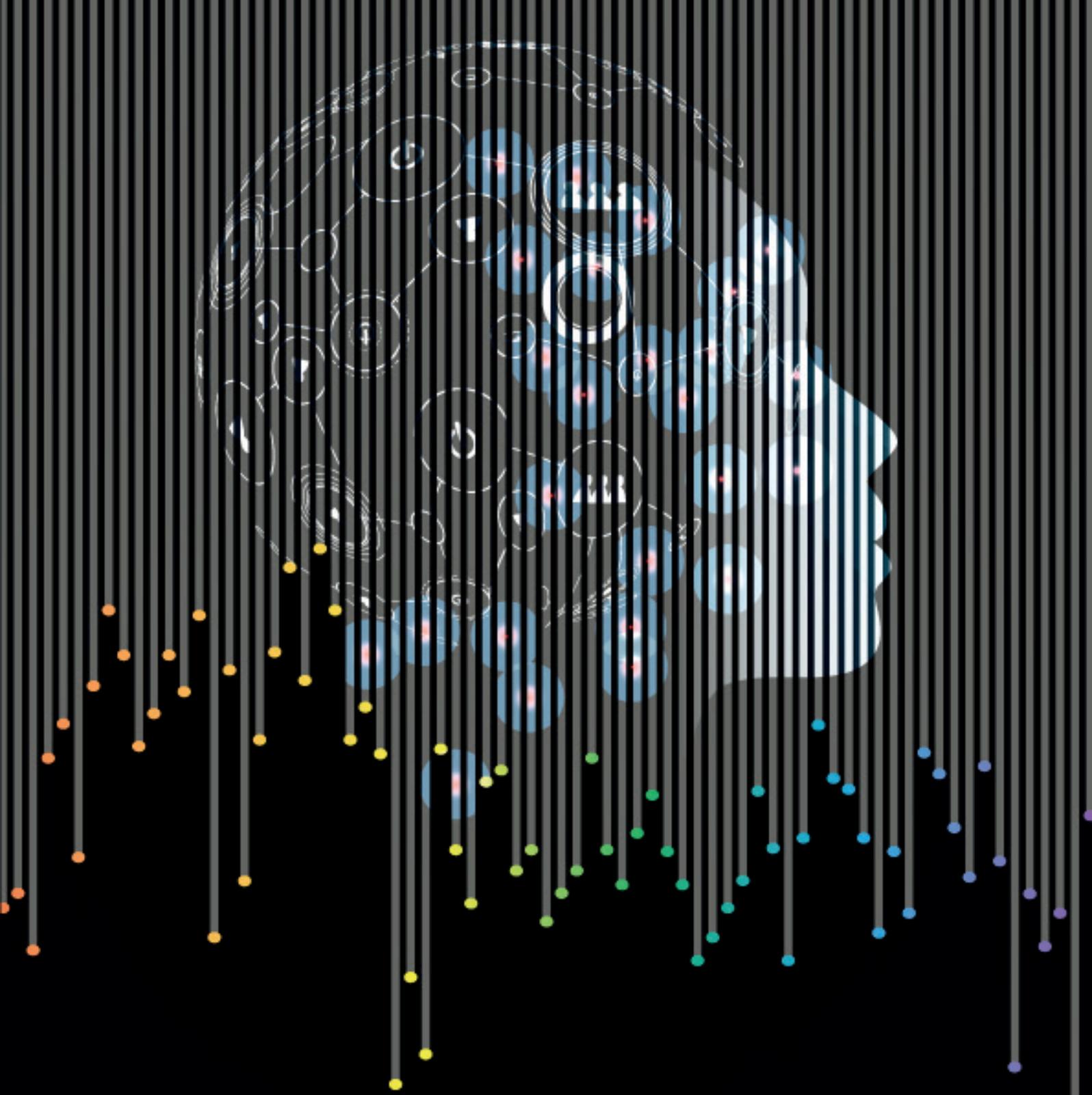
Staphylococcus: 40, 48, 50, 51, 54, 152, 153, 156, 157, 158, 159, 160, 161

T

Tratamento Térmico: 58, 59, 66, 120, 179, 180, 182, 194, 203, 204, 205

V

Vôngole: 56, 61, 66



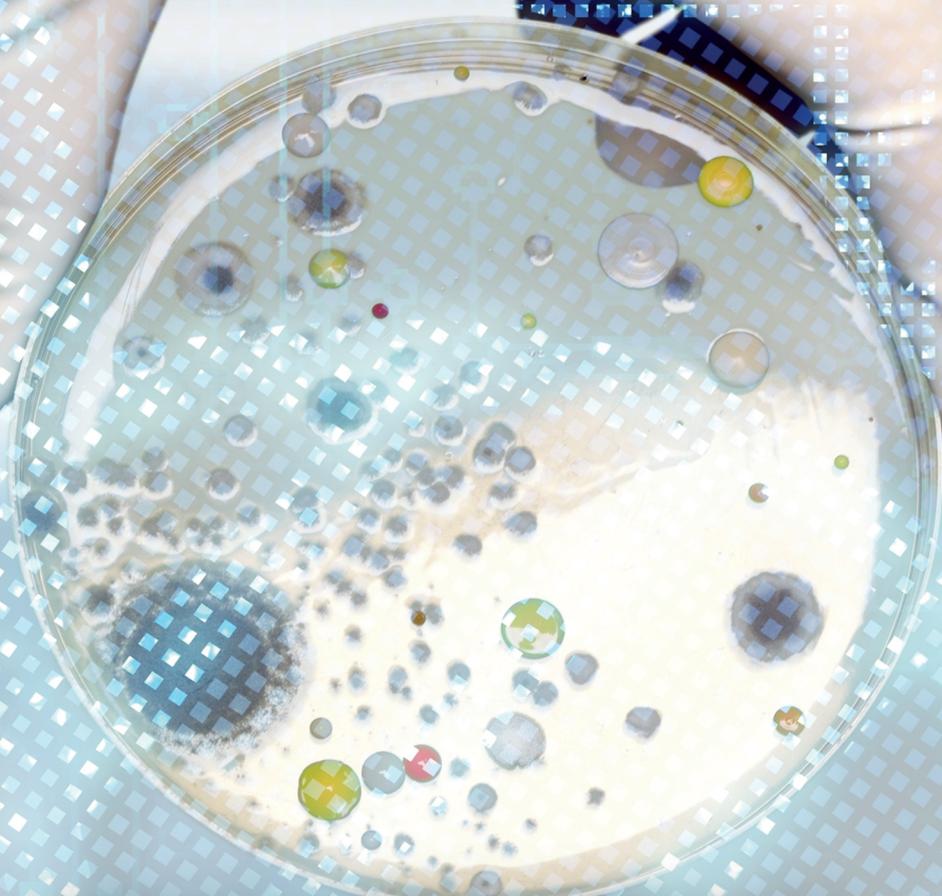
www.editoracientifica.org

contato@editoracientifica.org

ISBN 978-655360066-9

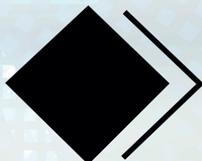


VENDA PROIBIDA - ACESSO LIVRE - OPEN ACCESS



TECNOLOGIA & MICROBIOLOGIA

SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS



editora
científica digital