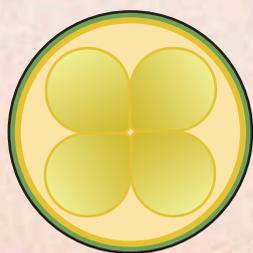


APOIO:



# SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia de Alimentos

Segurança dos alimentos: microbiologia de alimentos, higiene em indústria de alimentos e toxicologia de alimentos

5  
Volume



A Cadeia Produtiva de Alimentos e os Desafios dos Novos Tempos

Claudia Regina Vieira  
Érika Endo Alves  
Neide Judith Faria de Oliveira  
Roberta Torres Careli

ORGANIZAÇÃO:

ICA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UFMG  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

SIMEALI 4.0



# SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia  
de Alimentos

**Segurança dos alimentos: microbiologia  
de alimentos, higiene em indústria de  
alimentos e toxicologia de alimentos**

**5**  
Volume



**A Cadeia Produtiva de  
Alimentos e os Desafios  
dos Novos Tempos**

.....

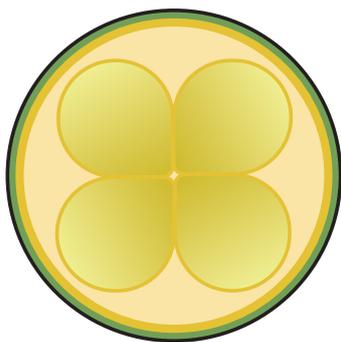
Claudia Regina Vieira  
Érika Endo Alves  
Neide Judith Faria de Oliveira  
Roberta Torres Careli

**ORGANIZAÇÃO:**

ICA  
INSTITUTO  
DE CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS

UFMG  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE MINAS GERAIS

SIMEALI 4.0



# SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia  
de Alimentos

MONTES CLAROS, 11 A 13 DE AGOSTO DE 2021

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

## EDITORES:

Claudia Regina Vieira

Érika Endo Alves

Neide Judith Faria de Oliveira

Roberta Torres Careli

## ORGANIZAÇÃO:

**ICA**  
INSTITUTO  
DE CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS

**UFMG**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE MINAS GERAIS

## APOIO:



ISBN – 978-65-88389-11-9

*Copyright* © 2021 Claudia Regina Vieira, Érika Endo Alves,  
Neide Judith Faria de Oliveira, Roberta Torres Careli.

Diagramadores: Claudia Regina Vieira e Priscylla Isis de Oliveira.

Fotografias: Claudia Regina Vieira

Direitos reservados dessa edição à  
Claudia Regina Vieira, Érika Endo Alves,  
Neide Judith Faria de Oliveira, Roberta Torres Careli.

Avenida Universitária, 1000  
39 404 – 547 – Montes Claros, MG – Brasil  
Tel: +55 38 2101 7710  
Fax: +55 38 2101 7753  
E-mail: organizacao.simeali@gmail.com  
Web site: www.simeali.com

Todos os direitos reservados. A reprodução não autorizada dessa publicação,  
no todo ou em parte, constitui violação do *copyright* (Lei nº 9.610/98).

*Os conceitos emitidos neste e-book são de inteira responsabilidade dos autores.*

1ª Edição - 2021

Vieira, Claudia Regina (org.).

V658s  
2021      Segurança dos alimentos: microbiologia de alimentos, higiene em indústria de  
alimentos e toxicologia de alimentos [recurso eletrônico] / Claudia Regina Vieira,  
Érika Endo Alves, Neide Judith Faria de Oliveira e Roberta Torres Careli  
(organizadoras). Montes Claros: ICA/UFMG, 2021.  
153 p. : il.

Inclui referências.  
ISBN: 978-65-88389-11-9

1. Alimentos -- Microbiologia. 2. Higiene industrial. 3. Indústria de laticínios  
-- Controle de qualidade. I. Alves, Érika Endo (org.). II. Oliveira, Neide Judith  
Faria de (org.). III. Careli, Roberta Torres (org.). III. Instituto de Ciências Agrárias  
da UFMG. V. Título.

CDU: 664

# Apresentação

O IV SIMEALI - SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS teve como objetivo a busca por avanços na área de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos, apresentando temas atuais relacionados à área, especialmente no que se refere à cadeia produtiva de alimentos, à Indústria 4.0 e aos desafios dos novos tempos.

O IV SIMEALI ocorreu entre os dias 11 e 13 de agosto de 2021, excepcionalmente no formato *online*, devido à pandemia da COVID-19, e contou com a participação da Comissão Organizadora, incluindo o Comitê científico, composta por trinta e quatro integrantes: quatorze docentes do ICA/UFMG; seis docentes/pesquisadores de diferentes instituições de Ensino e Pesquisa do Brasil (Embrapa Agroindústria de Alimentos, UERGS, UESB, USP e UFG); quatro servidores técnicos administrativos do ICA/UFMG; oito discentes de Graduação do ICA/UFMG e dois discentes de Pós-Graduação do ICA/UFMG.

Colaboraram com o Simpósio dezenove conferencistas de diferentes Instituições, na realização de seis palestras de temas variados – D.Sc. Fabiana Cunha Viana Leonelli (FZEA/USP), D.Sc. Fausto Makishi (ICA/UFMG), CEO Gabriel Alves Machado (FaçaAgora), Marta Duran Fernandez (Especialista em Tecnologia da Informação), D.Sc. Nilda de Fátima Ferreira Soares (UFV) e D.Sc. Uelinton Manoel Pinto (USP) – e na realização de treze minicursos: D.Sc. Alcinei Místico Azevedo (ICA/UFMG); D.Sc. Bárbara Santos (PADRONIZA); D.Sc. Christian Dias Cabacinha (ICA/UFMG); M.Sc. Deborah Lelis (UNIMONTES); D.Sc. Eduardo Spers (USP); D.Sc. Gabriela da Rocha Lemos Mendes (ICA/UFMG); Eng. Isabela Garcia (Nestlé); D.Sc. Junio Cota (ICA/UFMG); D.Sc. Mariana Zanatta; D.Sc. Rosires Deliza (Embrapa Agroindústria de Alimentos); M.Sc. Sabrina Ferreira (UNIMONTES); Eng. Verônica Rufato e Wilson Fogaça (Escola Yokoten).

Nesta edição, contamos com a participação de 366 congressistas inscritos, oriundos de diferentes localidades do Brasil e com a submissão de 105 trabalhos científicos, dos quais 92 foram aprovados e se encontram disponíveis neste *E-book*.

O processo de avaliação foi realizado via Plataforma Even3® e contou com a colaboração de 138 avaliadores de diferentes instituições de Ensino e Pesquisa do País, de subáreas diversificadas e afins às áreas de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos.

O presente *E-book* está dividido em seis volumes, correspondentes às áreas temáticas: Biotecnologia de alimentos, tratamento e aproveitamento de subprodutos; Controle de qualidade: análise sensorial, química de alimentos e análise de alimentos; Engenharia: desenvolvimento, modelagem, simulação, controle e automação de processos e operações; Nutrição: alimentos e saúde, alimentos funcionais, fortificação de alimentos, rotulagem obrigatória; Segurança dos alimentos: microbiologia de alimentos, higiene em indústria de alimentos e toxicologia de alimentos; Tecnologia de alimentos: embalagens de alimentos, desenvolvimento e processamento de alimentos.

Os capítulos possuem como tema central os desafios enfrentados pela cadeia produtora de alimentos e representam o compartilhamento do conhecimento entre pesquisadores, professores, profissionais e acadêmicos de Cursos Técnicos, Graduação e Pós-Graduação das áreas de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos, Nutrição, Ciências Agrárias e demais áreas afins da região Norte de Minas Gerais e demais regiões do Brasil.

Claudia Regina Vieira  
Coordenadora do IV SIMEALI



Instituto de Ciências Agrárias  
Foto: Cláudia Vieira  
Novembro de 2021

# Agradecimentos

Aos autores, por compartilharem os resultados de suas pesquisas e possibilitarem a publicação deste *E-book*.

Aos avaliadores, pelas correções, sugestões e contribuições valiosas para o aprimoramento dos trabalhos avaliados.

Aos apoiadores e patrocinadores, pela confiança depositada e pela concessão de recursos que viabilizaram a realização do IV SIMEALI.

À Organização, pelo trabalho árduo, comprometimento e dedicação na realização do evento.

A todos os inscritos no IV SIMEALI, razão principal de nossos esforços e dedicação para realizar o evento, mesmo que à distância.

Aos servidores do Setor de Informática do Instituto de Ciências Agrárias, em especial, ao servidor técnico administrativo Roberto Versiani Santos Júnior, pelo suporte providencial durante a realização do IV SIMEALI.

A todos que, de alguma uma forma, tornaram possível a realização do IV SIMEALI e, por conseguinte, a publicação deste *E-book*.

Nossos sinceros agradecimentos.

Claudia Regina Vieira  
Coordenadora do IV SIMEALI

Érika Endo Alves  
Subcoordenadora do IV SIMEALI

Instituto de Ciências Agrárias  
Foto: Claudia Vieira  
Novembro de 2021



# Organização

## **Coordenação Geral**

Claudia Regina Vieira – Docente (ICA/UFMG)

Érika Endo Alves – Docente (ICA/UFMG)

## **Comitê Científico**

Alessandra Lopes de Oliveira - Docente (FZEA/USP)

Clarissa Damiani – Docente (UFG)

Cristiane Patrícia Oliveira – Docente (UESB)

Júnia Capua de Lima Novello - Docente (UERGS)

Maximiliano Soares Pinto – Docente (ICA/UFMG)

Neide Judith Faria de Oliveira – Docente (ICA/UFMG)

Roberta Torres Careli – Docente (ICA/UFMG)

Virgínia Martins da Matta – Pesquisadora (EMBRAPA Agroindústria de Alimentos)

## **Comissão Organizadora**

Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita – Docente (ICA/UFMG)

Carla Adriana Ferreira Durães Pinheiro – Técnica (ICA/UFMG)

Caroline Liboreiro Paiva – Docente (ICA/UFMG)

Danielle Soares Malveira – Docente (FUNORTE)

Gabriela da Rocha Lemos Mendes – Docente (ICA/UFMG)

Hugo Calixto Fonseca – Técnico (ICA/UFMG)

Igor Viana Brandi – Docente (ICA/UFMG)

Janaína Teles de Faria – Docente (ICA/UFMG)

Juliana Pinto de Lima – Docente (ICA/UFMG)

Mariuze Loyanny Pereira Oliveira – Técnica (ICA/UFMG)

Milton Nobel Cano Chauca – Docente (ICA/UFMG)

Sandro Braga Soares – Técnico (ICA/UFMG)

Sérgio Henrique Souza Santos – Docente (ICA/UFMG)

William James Nogueira Lima – Docente (ICA/UFMG)

## **Comitê Discente**

Aline Lopes Nascimento – Mestrado em Alimentos e Nutrição (ICA/UFMG)

Ane Caroline Silva – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Ana Flávia Dias Costa – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Caroline Batista dos Santos – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Fernanda Santos Barros – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Isabela Parolis Martins – Mestrado em Produção Animal (ICA/UFMG)

Lucélio Alves Marques Costa – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Maria Clara Orsine Lopes de Castro – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Maria Izabel de Jesus Viana – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Maria Luiza de Freitas Paiva – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

# Sumário

Volume 5 - Segurança dos alimentos: microbiologia de alimentos,  
higiene em indústria de alimentos e toxicologia de alimentos

<b>Capítulo 1</b>	10 - 23
Estudo microbiológico de sucos de tomate submetidos ao processamento ultravioleta de onda curta e à pasteurização clássica. <i>Kássia Héllen Vieira; Fabiana Regina Lima; Regiane de Melo; Keyla Carvalho Pereira; Cássia Duarte Oliveira; Poliana Mendes de Souza.</i>	
<b>Capítulo 2</b>	24 - 40
Avaliação das Boas Práticas na manipulação e no comércio de laticínios. <i>Eliza Maria Galvão Bengtson Lobato; Carolina Santiago Paiva; Denise Sobral; Valdeane Dias Cerqueira; Renata Golin Bueno Costa, Vanessa Aglaê Martins Teodoro.</i>	
<b>Capítulo 3</b>	41 - 53
Avaliação das Boas Práticas no transporte de laticínios. <i>Eliza Maria Galvão Bengtson Lobato; Rafaela Assis Machado; Denise Sobral; Junio César Jacinto de Paula; Gisela de Magalhães Machado Moreira; Vanessa Aglaê Martins Teodoro.</i>	
<b>Capítulo 4</b>	54 - 67
Efeito sanitizante de óleos essenciais sobre <i>Salmonella Choleraesuis</i> transferida de carne de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno. <i>Camila Carolina de Souza Silva; Camila Ribeiro Rocha; Ana Carolina Rocha Santos; Francine Alves Souza da Fonseca; Márcia Martins, Roberta Torres Careli.</i>	
<b>Capítulo 5</b>	68 - 82
Diagnóstico microbiológico do ambiente de ordenha no Alto Sertão Sergipano. <i>Beatriz Souza e Silva; Augusto César Fonseca Sobreira, Bhreendda' Hary dy Luar Prates Kiepper; Thaís Costa Santos; Patrícia Erica Fernandes; João Paulo Natalino de Sá.</i>	
<b>Capítulo 6</b>	83 - 95
Provas bioquímicas para identificação de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp. e <i>Listeria monocytogenes</i> em leites CMT positivo. <i>Fernanda Pereira; Anderson Henrique Venâncio; Bruna Azevedo Balduino; Danilo José Machado de Abreu; Roberta Hilsdorf Piccoli.</i>	



<b>Capítulo 7</b>	96 - 108
Estudo da eficácia da radiação ultravioleta na pasteurização não térmica de leite. <i>Iuri Procópio Castro Brito; Catrine Almeida; Nicole Eduarda Rosa Oliveira; Jean Pereira Coutinho; Bruna Castro Porto.</i>	
<b>Capítulo 8</b>	109 - 123
Levantamento de perfil comportamental relacionado às medidas higiênico-sanitárias para conter a Covid-19 e adequação das Boas Práticas de Fabricação. <i>Guilherme Nunes Luly; Adriana Masson Parcianello; Márcia Helena Scherer Kurz; Itiara Goncalves Veiga; Meritaine da Rocha; Fernanda Arnhold Pagnussatt.</i>	
<b>Capítulo 9</b>	124 - 138
Caracterização das condições higiênico – sanitárias no preparo de alimentos do setor hoteleiro da cidade de Itabirito – MG. <i>Amanda Leão Cardoso; Érica Granato Faria Neves; Simone de Fátima Viana da Cunha.</i>	
<b>Capítulo 10</b>	139 - 153
Avaliação do potencial biotecnológico de bactérias do gênero <i>Bacillus</i> isoladas de leite UHT. <i>Raiane Rodrigues da Silva; Rosângela de Freitas; Nayara Aparecida da Silva Costa; Gabriela Aparecida Nalon; Antônio Fernandes de Carvalho; Solimar Gonçalves Machado.</i>	



Instituto de Ciências Agrárias  
Foto: Claudia Vieira  
Novembro de 2021



# 01 Capítulo

Estudo microbiológico de  
sucos de tomate submetidos  
ao processamento  
ultravioleta de onda curta e  
à pasteurização clássica

## Capítulo 1

### Estudo microbiológico de sucos de tomate submetidos ao processamento ultravioleta de onda curta e à pasteurização clássica

Kássia Héllen Vieira\*<sup>1</sup>; Fabiana Regina Lima<sup>2</sup>; Regiane de Melo<sup>3</sup>; Keyla Carvalho Pereira<sup>3</sup>;  
Cássia Duarte Oliveira<sup>2</sup>; Poliana Mendes de Souza<sup>4</sup>

#### Resumo

O tomate é uma hortaliça consumida mundialmente, tanto em sua forma *in natura*, quanto processada. No mercado, é encontrada uma diversidade de produtos produzidos a partir do tomate, com o intuito de atender a demanda dos consumidores e esses produtos são conhecidos por serem fontes de nutrientes essenciais à saúde. Dentre os diversos produtos, destaca-se os que são amplamente consumidos pela população, como o molho, o extrato e o suco de tomate, que surge como uma inovação. O suco de tomate é um produto alimentício prático e saudável, rico em antioxidantes e licopeno, que pode prevenir alguns tipos de câncer. Para ser consumido com segurança, esse alimento deve atender aos padrões microbiológicos para alimentos, com o intuito de não gerar danos à saúde dos consumidores. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar a análise microbiológica dos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em sucos de tomate submetidos ao emprego da luz UV-C e pasteurização clássica. Foi possível observar que houve grande efeito da radiação sobre os microrganismos, e que com aplicação de 3,6 J/cm<sup>2</sup> é possível obter uma redução de, em média, 3 ciclos logarítmicos (log) para o *Staphylococcus aureus* e 4 log para a *Escherichia coli*. Foi possível notar que o tratamento térmico aplicado levou à redução na carga microbiana inicial de, em média, 4 log para os dois microrganismos estudados. Assim, conclui-se que o tratamento UV-C é uma alternativa viável ao tratamento térmico em suco de tomate, uma vez que esse tratamento contribui para manter as características sensoriais e nutricionais dos alimentos, além de ser capaz de eliminar os microrganismos.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*. Tecnologia emergente. Tratamento térmico.

---

<sup>1</sup> Docente do Curso de Nutrição, Curso de Nutrição, Faculdade de Saúde e Humanidades Ibituruna - FASI.

<sup>2</sup> Doutoranda em Ciências de Alimentos, Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras - UFLA.

<sup>3</sup> Mestra em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM.

<sup>4</sup> Docente do Curso de Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia, UFVJM.

\*E-mail para correspondência: kah-1815@hotmail.com



## Introdução

Consumido a nível mundial, o tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) é uma hortaliça que pode ser ingerida tanto na sua forma *in natura* quanto processada. Apresenta em sua composição nutricional um alto teor de fibras e de micronutrientes como a vitamina C, vitamina A, ácidos orgânicos, açúcares e minerais como o fósforo, cálcio, potássio e magnésio. Além disso, contém compostos antioxidantes como o licopeno que possui propriedades funcionais devido, por exemplo, ao seu potencial anticarcinogênico (PEIXOTO *et al.*, 2017).

O extrato concentrado e os molhos são os principais produtos obtidos a partir do processamento de tomate (ARDILES, 2016). A diversificação dos produtos vem ocorrendo de forma a adequá-los às necessidades do consumidor, que tende a optar por refeições rápidas e práticas. Neste contexto, o suco de tomate surge como uma excelente inovação. Os sucos naturais vêm ganhando espaço na alimentação do brasileiro, pois além de fornecer vitaminas e minerais, podem contribuir significativamente para a prevenção de doenças (SOUZA *et al.*, 2020).

Assim, o controle de qualidade desses alimentos é um fator crucial para reduzir os riscos à saúde. Pois quando as normas das legislações vigentes não são adotadas, os alimentos se tornam um ambiente ideal para a proliferação de microrganismos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. (SOUZA *et al.*, 2020). Microrganismos estes que são considerados indicadores de contaminação e que podem ser os causadores das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (SOUZA *et al.*, 2016).

É consenso que a preocupação com a segurança alimentar é uma realidade, tanto para consumidores quanto para a indústria de fornecimento de alimentos e órgãos fiscalizadores. Problemas de saúde pública relacionados à alimentos contaminados apresentam taxas e números elevados, por isso, a importância de métodos para eliminar os agentes patológicos nesses produtos (BARROS *et al.*, 2013).

Os sucos, em geral, são produtos que apresentam alto nível de manipulação e contaminação por diversos fatores como água de preparo imprópria, inexistência de instalações sanitárias e de abastecimento de água potável e tratada, o que dificulta a higienização adequada dos utensílios, equipamentos, dependências em que são preparados os alimentos, mãos dos manipuladores, elevando assim o risco de transmissão desses patógenos encontrados em alimentos (BARROS *et al.*, 2013). E para reduzir esse nível de contaminação e ofertar um produto seguro para o consumo, os sucos processados são submetidos, principalmente, a tratamentos com altas temperaturas como a pasteurização.

Verifica-se uma busca crescente pelos consumidores por alimentos com características mais próximas dos naturais e com maior vida de prateleira, além da preocupação com a qualidade e segurança alimentar. Os métodos térmicos de processamento são formas eficientes de se promover a estabilidade dos alimentos, porém apresentam as desvantagens de provocar alterações sensoriais e nutricionais indesejáveis em alguns produtos. Diante disso, surgiram os tratamentos não térmicos de alimentos, objetivando a obtenção de produtos seguros e a manutenção da qualidade, quando comparados aos similares processados termicamente (ZHONG *et al.*, 2005).

Devido à alta capacidade de inativação microbiana e de enzimas que aceleram a deterioração de alimentos, a pasteurização térmica é o método mais utilizado para o processamento de alimentos, inclusive em sucos, aumentando a vida útil. No entanto, devido ao calor, a qualidade do produto pode ser afetada negativamente, alterando cor, sabor, reduzindo biodisponibilidade de nutrientes. Em contrapartida, a radiação ultravioleta de onda curta (UV-C), vem sendo amplamente estudada devido seu efeito germicida e por afetar minimamente a qualidade nutricional e química de sucos, por ser um tratamento não térmico (NORNISA; SOMASUNDRAM; RAZALI, 2018; RIGANAKOS *et al.*, 2017; AMANINA *et al.*, 2019). Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2004) e Koutchma *et al.* (2016) citam que, a luz UV tem como vantagens a não geração de resíduos químicos, ser um processo frio, a seco, simples, efetivo e de baixo custo em relação a outros tratamentos, como a pasteurização.

A luz UV-C é o espectro eletromagnético curto entre 200 a 280 nm, e quando utilizada a 253,7 nm é segura para uso no processamento de alimentos, inclusive em sucos e como tratamento alternativo para diminuir a quantidade de patógenos. O mecanismo germicida está relacionado à danificação das estruturas de DNA ou RNA dos microrganismos, impedindo a sua replicação, tornando-os inativos e incapazes gerar uma infecção (SHAH *et al.*, 2016).

Considerando o exposto, o presente trabalho objetivou realizar a análise microbiológica de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em sucos de tomate submetidos ao processamento com a luz UV-C e pasteurização clássica.

## Material e Métodos

### *Obtenção e preparo das amostras*

Tomates no ponto ótimo de maturidade foram adquiridos em comércio local da cidade de Diamantina - MG. Na produção do suco, partes iguais de tomate, previamente higienizados, e água foram homogeneizadas em liquidificador doméstico.



Os tratamentos empregados foram luz UV-C e pasteurização clássica e as análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM. Terminado os processamentos os sucos foram mantidos sob refrigeração (4 °C) até o momento da realização das análises microbiológicas. As análises do experimento foram conduzidas em triplicata.

#### *Preparo do inóculo e inoculação das amostras*

A partir de culturas estoque de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* obtidas na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e mantidas congeladas na UFVJM, foi realizada a ativação através do descongelamento à temperatura ambiente e incubação em 3 mL de caldo nutritivo por 48 horas a 36 °C (ALVES, 2010).

O inóculo foi incubado em suco previamente esterilizado em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Utilizou-se 40 µL do inóculo para 10 mL de suco de tomate. Deixou-se o suco inoculado em estufa a 36 °C por 24 horas para desenvolvimento do microrganismo. Este método foi obtido a partir de testes realizados com objetivo de atingir nível de carga microbiana suficiente para avaliar o efeito de inativação dos tratamentos utilizados.

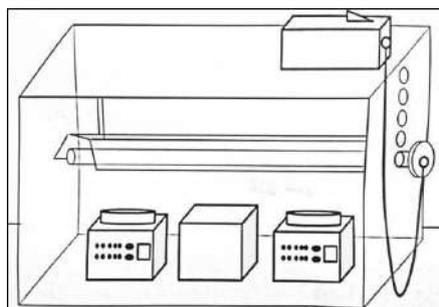
Para a realização do experimento, as amostras foram subdivididas em dois grupos experimentais, um para cada microrganismo estudado.

#### *Tratamento UV-C*

Para os tratamentos UV-C, empregou-se o método descrito por Souza e Fernandez (2011), com algumas adaptações. Foi utilizado uma caixa preta fechada, desenhada especificamente para tratamento de alimentos, equipada com uma lâmpada UV-C de mercúrio de baixa pressão de 9 W de potência, emitindo um comprimento de onda de 254 nm.

A quantidade de 1,2 mL de amostra do suco de tomate com adição do inóculo foi colocada em placa de Petri esterilizada, e em seguida a placa foi posicionada a 15 cm de distância da lâmpada. Foi utilizado um agitador magnético, cuja agitação foi mantida a 420 rpm com a finalidade de garantir que a radiação UV-C alcançasse toda a extensão da amostra. As doses aplicadas de radiação foram 0,6, 1,5, 2,2, 3,1 e 3,6 J/cm<sup>2</sup> nos respectivos tempos de exposição de 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. Na Figura 1 é possível visualizar de forma esquemática o reator UV-C no qual realizou-se os

Figura 1 - Esquemática do reator UV-C



Fonte: Dos autores, 2021.

### *Pasteurização*

A pasteurização foi realizada de acordo com a metodologia de Noktehsanj-Avval, Azadmard-Damirchi e Azimi (2016). Amostras contendo 20 mL de suco de tomate contaminado, foram colocadas em recipientes de aço inoxidável e levadas a banho de água quente. Após a temperatura atingir 72 °C no centro, foi realizada a pasteurização pelo tempo de dois minutos. Logo após, os recipientes foram resfriados em água refrigerada (4 °C).

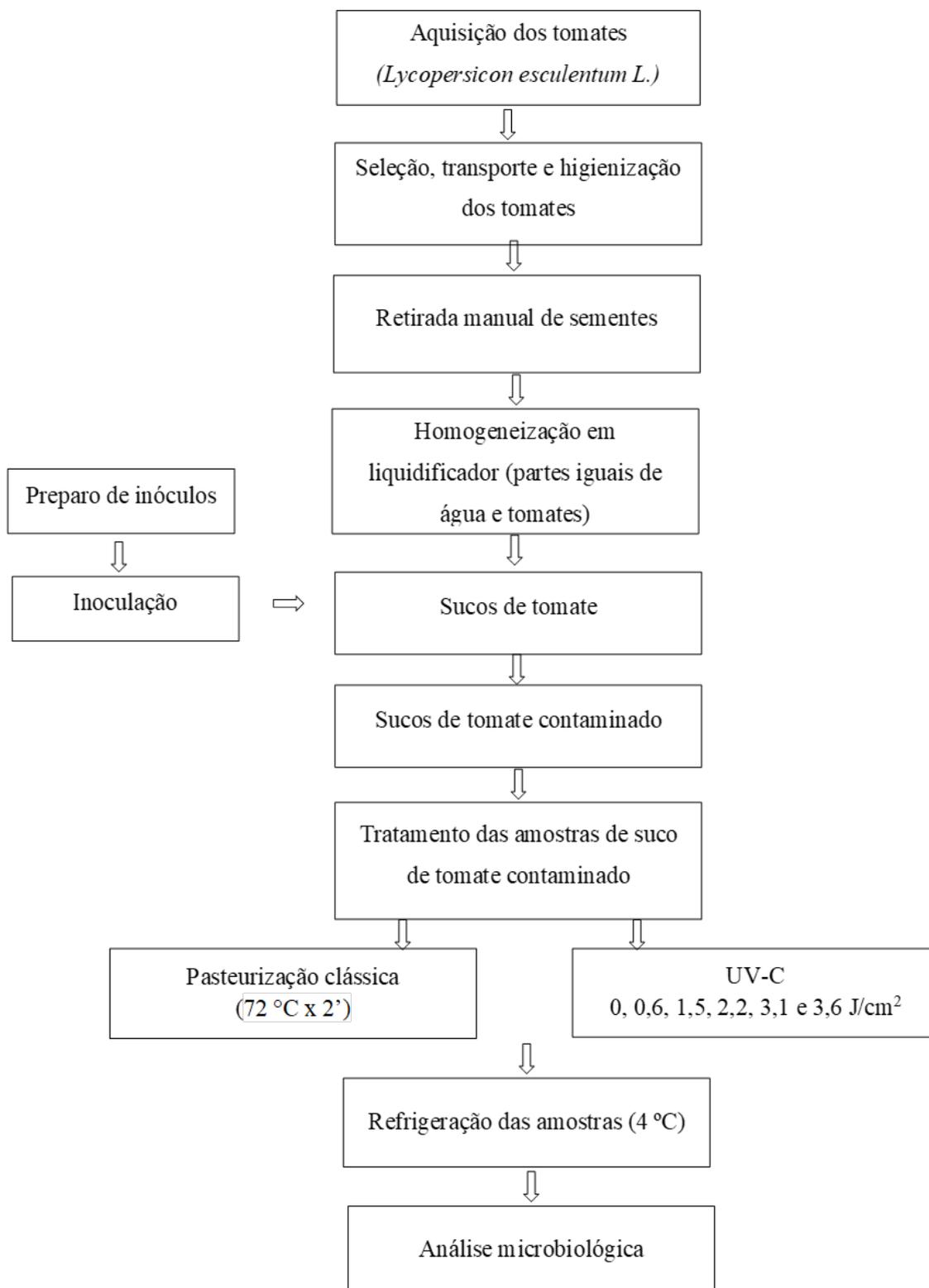
### *Análises microbiológicas*

No tratamento por radiação UV-C, as amostras foram coletadas no tempo 0 (controle), 5, 10, 15, 20 e 25 minutos de exposição à radiação.

As amostras de suco tomate radiadas e pasteurizadas por método convencional, foram submetidas a diluições decimais de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em solução salina. Após, executou-se o plaqueamento de cada diluição com aproximadamente 18 mL de meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*) e decorridas 48 horas, foi realizada a contagem de UFC/mL. Todas as diluições foram realizadas em triplicata e os resultados foram calculados em média (TORQUATO, 2007; SILVA *et al.*, 2017).

Na figura abaixo (Figura 2), está representado o fluxograma geral de obtenção, tratamento das amostras de suco de tomate e avaliação da população de microrganismos sobreviventes.

Figura 2 - Fluxograma geral de obtenção, tratamento das amostras de suco de tomate e avaliação da população de microrganismos pós tratamento



Fonte: Dos autores, 2021.

### Análise estatística

Os dados relacionados à pasteurização foram calculados e descritos em média. Os dados obtidos referentes ao processamento UV-C foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e análise de regressão adotando nível de significância de 5% de probabilidade (p-valor <0,05) utilizando o software Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2011), considerando  $R^2 > 0,80$ .

### Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentadas as contagens obtidas para os microrganismos estudados em função das doses de radiação ultravioleta de onda curta (UV-C) e tratamento térmico aplicados ao suco de tomate.

Tabela 1 - Contagem de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* obtidas para o suco de tomate radiado e pasteurizado

Tratamento	Tempo de exposição (min.)	Contagens (Log UFC/mL)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
UV-C (J/cm <sup>2</sup> )	Controle	0	7,43	7,52
	0,6	5	6,71	7,02
	1,5	10	5,87	6,44
	2,2	15	5,14	5,17
	3,1	20	4,77	4,82
	3,6	25	4,48	3,15
Pasteurização	72 °C	2	3,03	2,92

Fonte: Dos autores, 2021.

A Instrução normativa N° 60/2019, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos, não define limites para os microrganismos aqui estudados em sucos (BRASIL, 2019). Mas, de acordo com Prado *et al.* (2008), há indicações que alimentos com populações acima de 6,0 log UFC/g podem apresentar alterações sensoriais, riscos de deteriorações, intoxicações e infecções, além da perda do valor nutricional, tornando-se, portanto, impróprio para o consumo humano.

Pode-se observar um expressivo efeito das doses de radiação sobre a população de microrganismos presentes, sendo que com aplicação de  $3,6 \text{ J/cm}^2$  é possível obter uma redução de, em média, 3 ciclos logarítmicos (log) para o *Staphylococcus aureus* e 4 log para a *Escherichia coli*. A parede celular de microrganismos gram-positivos é mais complexa, interferindo diretamente na eficiência do tratamento UV-C. O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, ao contrário da *Escherichia coli*, gram-negativa (MALINOVSKI; ESTORILLO, 2021). Desta forma, justifica-se menor efeito de inativação da radiação UV-C para o *Staphylococcus aureus*.

Pereira (2018) em seu trabalho utilizando extrato hidrossolúvel de soja, observou que a inativação devido à aplicação da radiação UV-C foi satisfatória, uma vez que obtiveram uma redução da carga microbiana de 6,39 e 2,19 log UFC/mL para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* respectivamente, aplicando uma dose de UV-C de  $8,28 \text{ J/cm}^2$ .

Segundo Kim, Kim e Kang (2017) o efeito antimicrobiano da luz UV-C é causado por sua habilidade de danificar o DNA microbiano, comprometendo suas funções celulares e eventualmente levando à morte celular.

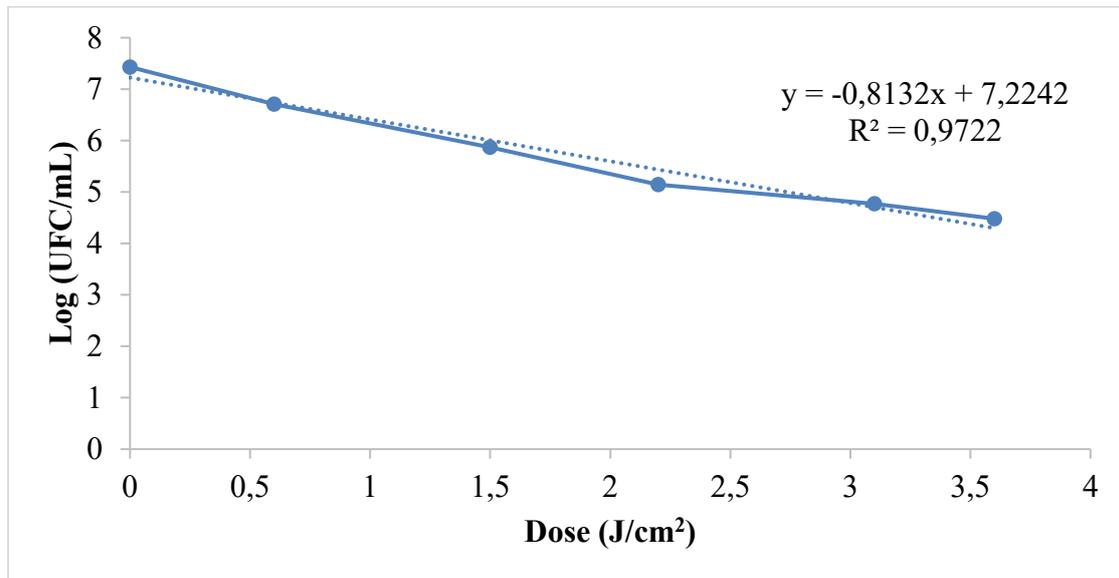
Pode ser verificado na Tabela 1, que o tratamento térmico aplicado levou à redução na carga microbiana inicial de, em média, 4 log para os dois microrganismos estudados. Mostrando-se mais eficiente no controle de *Staphylococcus aureus* submetido à radiação UV-C, que levou à redução de aproximadamente 3 log.

Um estudo realizado comparando os tratamentos térmico e UV-C no suco de manga evidenciou que ambos processamentos reduziram a carga microbiana no suco, assim como no presente estudo, evidenciando que o tratamento UV-C é uma alternativa viável ao tratamento térmico (SANTHIRASEGARAM *et al.*, 2015). Neste mesmo estudo, a pasteurização inativou 100% dos microrganismos observados e o tratamento UV-C, durante 60 minutos, apresentou uma redução significativa de até 45% da carga microbiana inicial.

Nas Figura 3 e 4 são apresentadas as curvas de regressão linear obtidas juntamente com suas respectivas equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para cada microrganismo estudado e também é possível observar os efeitos das doses de radiação aplicadas ao suco de tomate na população de cada um deles.

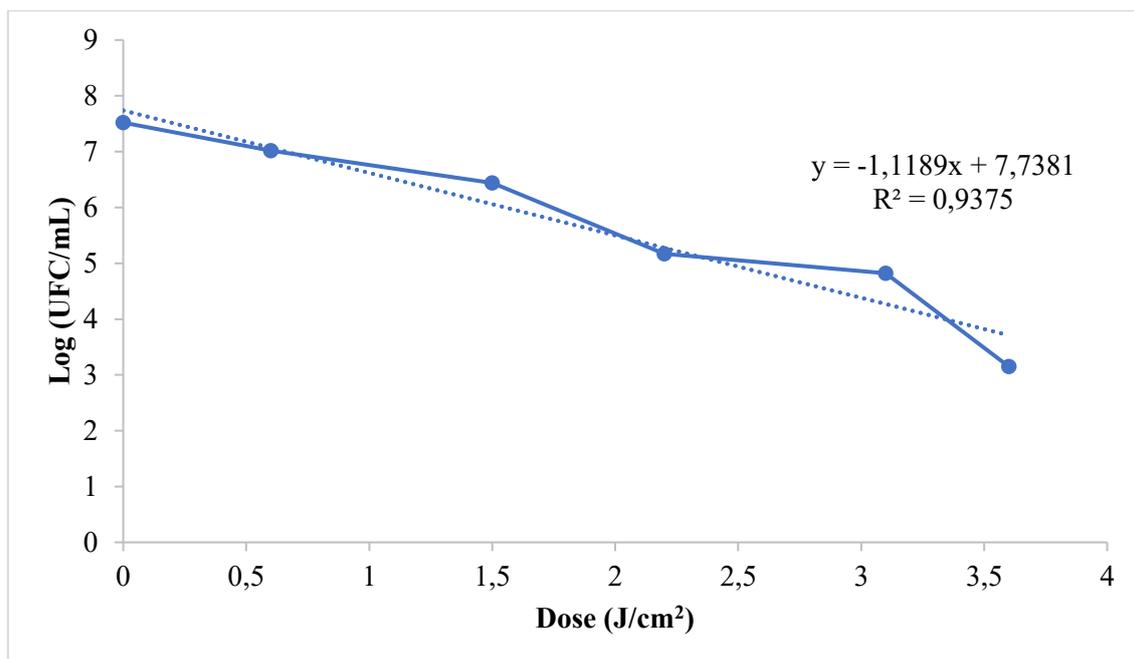
Para todos os microrganismos analisados foi observada alta significância ( $p < 0,05$ ) dos modelos de regressão estimados, foram encontrados coeficientes de determinação com valores superiores a 0,90, ou seja, as equações quadráticas determinadas podem explicar mais de 90% dos dados, o que indica elevada dependência entre as variáveis: dose de radiação aplicada e população de microrganismos presentes.

Figura 3 – Curva de regressão linear da inativação de *Staphylococcus aureus* através do tratamento UV-C



Fonte: Dos autores, 2021.

Figura 4 – Curva de regressão linear de inativação da *Escherichia coli* através do tratamento UV-C



Fonte: Dos autores, 2021.

Ao observar a curva de inativação de microrganismos, nota-se claramente uma redução significativa da carga microbiana inicial. Essa redução da carga microbiana também foi evidenciada por Yang *et al.* (2019) ao comparar os efeitos da pasteurização térmica e do tratamento UV-C em sucos de maçã não concentrada de diferentes variedades. A contagem de bactérias foi reduzida em

cerca de 99% nas amostras em que foi utilizado o processamento UV-C e naquelas em que foi utilizada a pasteurização térmica, reduziu-se a contagem para os limites abaixo do que foi possível detectar diante do método utilizado.

A inativação microbiana ao utilizar o tratamento UV-C em suco tem sido documentada principalmente em suco de maçã, devido a sua alta disponibilidade e também por ser um suco de cor clara, possibilitando o aumento da profundidade da penetração da luz ultravioleta, visto ter sido documentado maior eficiência de descontaminação em líquidos claros (TURTOI; BORDA, 2013; ACEVEDO; SGROPPO; DELLACASSA, 2018).

Dos microrganismos avaliados no presente estudo, a *Escherichia coli* foi um patógeno alvo de diversas investigações em sucos processados com o emprego da luz UV-C, devido a sua alta capacidade de causar doenças de origem alimentar (KEYSER *et al.*, 2008; OTEIZA *et al.*, 2005; GOUMA *et al.*, 2015; USAGA; WOROBO, 2018). Um estudo realizado por Ngadi, Smith e Cayouette (2003) que avaliou a inativação desse microrganismo em suco de maçã, demonstrou uma redução de 4,5 log para uma dose de luz UV de 0,3 J/cm<sup>2</sup> e que, conforme a dose aplicada aumentou, ocorreu a inativação desse patógeno aumentou em 4,8 log. Além disso, demonstrou que quanto mais transparente o suco, maior eficácia na inativação desse microrganismo, assim como também foi documentado por Acevedo, Sgroppo e Dellacassa (2018).

Percebe-se que a pasteurização foi mais eficiente, neste caso, mas pode-se observar potencial efeito da radiação ultravioleta-C sobre a diminuição da carga microbiana inicial, devendo levar em consideração as vantagens proporcionadas pela utilização da radiação UV-C em relação ao tratamento térmico, por ser um processamento a frio e que, como citado por Filho e Borges (2020), permite a manutenção das características mais próximas ao alimento fresco, sem promover tanto impacto nas características sensoriais como aroma, cor, sabor, perda de vitaminas e minerais termolábeis.

## Conclusão

Observou-se que a pasteurização permitiu uma diminuição maior do que 60% da população inicial de ambos os microrganismos estudados, confirmando e ressaltando, de acordo com os dados documentados na literatura, a eficiência deste tratamento na descontaminação de alimentos. Além disso, pode-se perceber que a radiação ultravioleta de onda curta mostrou um efeito considerável na redução da população dos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em suco de tomate. Os melhores resultados foram observados quando aplicado a maior dose de radiação, 3,6 J/cm<sup>2</sup>, permitindo inferir que o processamento com a luz UV-C é uma alternativa viável ao tratamento



térmico, fornecendo um produto com características sensoriais e nutricionais semelhantes ao produto fresco, além de apresentar atividade antimicrobiana. No entanto, recomenda-se estudos adicionais para um maior conhecimento dos efeitos da radiação UV-C como fator antimicrobiano no alimento, principalmente relacionados aos microrganismos especificamente estudados no presente trabalho, visto que a literatura sobre a utilização dessa tecnologia emergente em sucos ainda é escassa.

## Agradecimentos

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) pelo suporte financeiro.

## Referências

ACEVEDO, B.A.; SGROPPO, S.C.; DELLACASSA, E. Effects of ultraviolet radiation on the microbiological, physicochemical, and sensory properties of Rangpur lime juice. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 3, p. 958-965, 2018.

ALVES, C. C. D. C. **Comportamento da *Escherichia coli* em queijo Minas Frescal elaborado com utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta**. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

AMANINA, A. K. Z. *et al.* Comparison of UV-C and thermal pasteurisation for the quality preservation of pineapple-mango juice blend. **Food Research**, v. 3, n. 4, p. 362 - 372, 2019.

ARDILES, N. E. **Análise microscópica de produtos à base de tomate**. 2016. 26f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

BARROS, D. F. *et al.* Avaliação microbiológica do suco de laranja *in natura* comercializado em via pública na zona central de São Paulo-SP. **Revista Univap**, v. 21, n. 37, p. 50-56, 2015.

BRASIL. Resolução RDC nº60. de 23 de dezembro de 2019 – Instrução Normativa sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília. DF. 23 dez. 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>  
Acesso em: 10 mai. 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFPA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FILHO, C. A. B.; BORGES, C. D. Effects of UV-C radiation on minimally processed lettuce and apple: a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.23, p. e2018321, 2020.



GOUMA, M. *et al.* Uv-heat treatments for the control of foodborne microbial pathogens in chicken broth. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 1, p. 1 – 12, 2015.

GUERRERO-BELTRÁN, J.A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**, v. 10, n. 3, p. 137-147, 2004.

KEYSER, M. *et al.* Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.9, n.3, p. 348–354, 2008.

KIM, D.; KIM, S.; KANG, D. Bactericidal effect of 266 to 279 nm wavelength UVC-LEDs for inactivation of Gram positive and Gram negative foodborne pathogenic bacteria and yeasts. **Food Research International**, v. 97, n.1, p. 280-287, 2017.

KOUTCHMA, T. *et al.* Effects of ultraviolet light and high-pressure processing on quality and health-related constituents of fresh juice products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 844 - 867, 2016

MALINOVSKI, E.; ESTORILLO, A. L. A. Bactérias mais frequentes em infecções do trato urinário. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 12, n. 1, p.121-134, 2021.

NGADI, M.; SMITH, J. P.; CAYOUEITE, B., Kinetics of ultraviolet light inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in liquid foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 15, p. 1551–1555, 2003.

NOKTEHSANJ-AVVAL, M.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; AZIMI, F. Effect of UV radiation as an alternative to thermal pasteurization on some properties of tomato juice. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, v. 7, n. 3, p. 206-212, 2016.

NORNISA, N.; SOMASUNDRAM, C.; RAZALI, Z. The effects of UV-C treatment on the quality of orange, carrot and celery juice blend. **Journal of Food Science & Nutrition**, v.1, n.3, p. 1-7, 2018.

OTEIZA, J. *et al.* Antimicrobial efficacy of UV radiation on *Escherichia coli* O157:H7 in fruit juices of diferente absorptivities. **Journal of Food Protection**, v. 68, n.1, p.49–58, 2005.

PEIXOTO, J. V. M. *et al.* Industrial tomato lines: morphological properties and productivity. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.2, gmr16029540, 2017.

PEREIRA, M. S. S. **Uso da radiação ultravioleta como tratamento alternativo não térmico para desinfecção e conservação do extrato hidrossolúvel de soja comparado ao tratamento térmico de pasteurização.** 2018. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

PRADO, S. P. T. *et al.* Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p.221- 227, 2008.

RIGANAKOS, K. *et al.* Comparison of UV-C and thermal treatments for the preservation of carrot juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 42, n. 1, p.165-172, 2017.

SANTHIRASEGARAM, V. *et al.* Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, n.1, p. 313 -321, 2015.

SHAH, N. N. A. K. *et al.* Fruit juice production using ultraviolet pasteurization: a review. **Beverages**, v.2, n.3, p. 1-22, 2016.

SILVA, N. *et al.* **Manual de Métodos de Análise microbiológicas de Alimentos e Água**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2017. 560p.

SOUZA, A. R. *et al.* Análise microbiológica de sucos verdes comercializados na região central de Belo Horizonte–MG. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.4, p.19406-1942, 2020.

SOUZA, J. C. C. O. *et al.* Avaliação microbiológica de polpas de frutas comercializadas na cidade de Juazeiro do Norte – CE. **Higiene Alimentar**, v.30, n. 254/255, p. 123 -127, 2016.

SOUZA, P. M.; FERNÁNDEZ, A. Effects of UV-C on physicochemical quality attributes and *Salmonella enteritidis* inactivation in liquid egg products. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1385–1392, 2011.

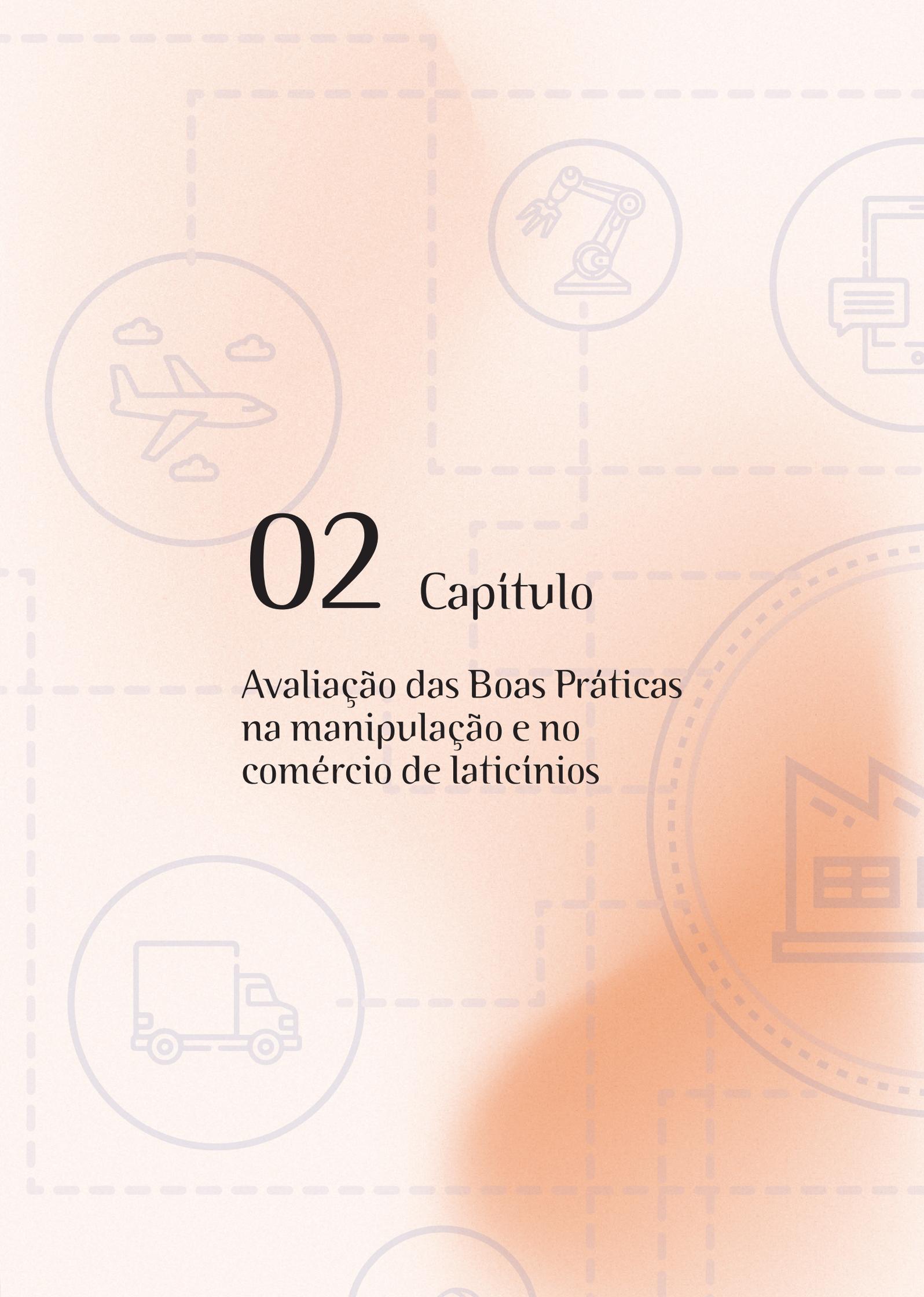
TORQUATO F. P. L. **Sensibilidade de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* à desinfecção com luz natural e artificial: avaliação da capacidade de reativação bacteriana**. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental). Universidade Federal de Campina Grande, 2007.

TURTOI, M.; BORDA, D. Ultraviolet light efficacy for microbial inactivation on fruit juices, nectars and apple cider. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 19, n.1, p.130-140, 2013.

USAGA, J.; WOROBO, R. W. Microbial safety and quality evaluation of UV-treated, cold-pressed colored and turbid juices and beverages. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 9, p. 1549-1556, 2018.

YANG, Y. *et al.* Effect of thermal pasteurization and ultraviolet treatment on the quality parameters of not-from-concentrate apple juice from different varieties. **CyTA - Journal of Food**, v.17, n.1, p. 189-198, 2019.

ZHONG K. *et al.* Inactivation and conformational change of horseradish peroxides induced by pulsed electric field. **Food Chemistry**, v. 92, n.1, p. 473–479, 2005.



# 02 Capítulo

Avaliação das Boas Práticas  
na manipulação e no  
comércio de laticínios

## Capítulo 2

### Avaliação das Boas Práticas na manipulação e no comércio de laticínios

Eliza Maria Galvão Bengtson Lobato<sup>1</sup>; Carolina Santiago Paiva<sup>2</sup>; Denise Sobral<sup>3</sup>; Valdeane Dias Cerqueira<sup>3</sup>; Renata Golin Bueno Costa<sup>3</sup>, Vanessa Aglaê Martins Teodoro\*<sup>4</sup>

#### Resumo

O leite e seus derivados são alimentos ricos em nutrientes, frequentemente expostos a condições favoráveis para a sua contaminação e para a proliferação de microrganismos. Por este motivo, os programas de qualidade devem abranger toda a cadeia produtiva, desde a ordenha até o comércio do produto final. Os estabelecimentos varejistas devem atuar de forma a manter a qualidade e a inocuidade dos produtos lácteos a fim de atender às expectativas dos consumidores. O presente estudo avaliou 15 estabelecimentos comerciais (supermercados e mercados) que armazenam, manipulam, fracionam e expõem à venda laticínios quanto ao nível de implantação dos programas de qualidade. Para isso, foi elaborada uma lista de verificação contendo 136 pontos de averiguação, divididos em 13 itens. Os estabelecimentos foram avaliados e classificados, segundo o percentual de atendimento à legislação, em “ótimo”, “bom”, “regular”, “ruim” e “péssimo”. Os resultados demonstraram que 26,6% dos estabelecimentos foram classificados como “ótimo” e 60% como “bom” na média geral de itens que atendem à legislação. Nenhum estabelecimento foi classificado como “péssimo”. O percentual de “ótimo” e “bom” também prevaleceu quando se avaliou a classificação dos estabelecimentos segundo as adequações de cada um dos 13 itens da lista de verificação. Porém, foi possível observar falhas importantes que podem comprometer a qualidade higiênico-sanitária dos produtos finais e afetar a saúde dos consumidores. Assim, devem ser intensificadas as ações de controle da implementação dos programas de qualidade, de treinamento dos colaboradores e de fiscalização pelos órgãos de inspeção.

**Palavras-chave:** Contaminantes. Fracionamento. Saúde pública. Segurança. Varejo.

<sup>1</sup>Mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora.

<sup>2</sup>Discente do curso de Medicina Veterinária. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora.

<sup>3</sup>Pesquisadoras/Professoras da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG - ILCT). Juiz de Fora – MG.

<sup>4</sup> Professora Adjunta do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Juiz de Fora.

\* E-mail para correspondência: vanessa.teodoro@ufjf.edu.br

## Introdução

O leite e seus derivados são alimentos indispensáveis na alimentação humana, pois constituem fontes de nutrientes importantes para a promoção da saúde (GÓMEZ-CORTÉS; JUÁREZ; DE LA FUENTE, 2018). Entretanto, essa composição nutricional favorece a multiplicação de microrganismos indesejáveis, deteriorantes e patogênicos, que podem comprometer a qualidade ou levar a problemas de saúde pública (LIMA *et al.*, 2016).

A contaminação pode ocorrer durante toda a cadeia produtiva, iniciando na propriedade rural, pela falta de higiene na ordenha ou de sanidade animal, ou pela precariedade do armazenamento, seja em função do tempo ou da temperatura de refrigeração, e ainda, pela falta de infraestrutura no transporte. Em seguida, podem ocorrer falhas no seu processamento e na manipulação na indústria e posteriormente durante a sua distribuição e exposição à venda (SALVADOR *et al.*, 2012).

O leite para consumo direto e os derivados lácteos podem ser contaminados de diferentes formas na indústria e no comércio. Equipamentos e utensílios nas áreas de manipulação podem ser fontes de contaminação, bem como as mãos dos manipuladores, as embalagens, a água e os ingredientes, além do armazenamento em temperaturas inadequadas que contribui para o desenvolvimento microbiano (CHACON, 2018).

Os estabelecimentos de varejo, principalmente os supermercados, são responsáveis pela manipulação e pelo armazenamento de grande quantidade de alimentos, constituindo o principal elo entre a indústria e o consumidor (RIOS, 2012). A gestão da qualidade de forma eficiente e eficaz é fundamental para minimizar os riscos de contaminação dentro dos seus setores, principalmente os de fatiamento e refrigeração, e para oferecer produtos seguros e de qualidade para a população (JORGE; BARBOSA; BUCCIOLI, 2018; SILVA; LEMOS FILHO; MANIÇOBA, 2018).

A implementação de programas de qualidade nos estabelecimentos comerciais é uma exigência legal. Estes devem estar descritos na forma de manuais e procedimentos (BRASIL, 2004) acessíveis a todos os colaboradores da empresa e disponíveis às autoridades sanitárias, quando requeridos. Assim, a sua ausência pode resultar em autuação do estabelecimento pela Vigilância Sanitária (VISA) ou por outro órgão fiscalizador (VIEIRA *et al.*, 2020).

O controle da qualidade de produtos de origem animal no comércio segue diversas normas da legislação brasileira e inclui os programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 1997), os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) (BRASIL, 2002) e a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 1993). Esses programas têm como objetivo garantir que o

alimento seja manipulado, armazenado, transportado e exposto à venda com total segurança, e dentro dos padrões higiênico-sanitários (BUZINARO; GASPAROTTO, 2019).

Para a garantia da qualidade e da segurança dos alimentos é necessário um monitoramento constante em todas as etapas, de maneira que a qualidade e a inocuidade dos produtos sejam mantidas ao longo da cadeia produtiva (ALVES; SILVA; CHIARELLO, 2018). A lista de verificação (LV) é uma importante ferramenta para auxiliar em auditorias, fiscalizações, monitoramentos e verificações, que permite um diagnóstico eficiente e eficaz das não conformidades, bem como a identificação dos processos envolvidos e das limitações do estabelecimento (TEIXEIRA, 2017).

A LV deve ser específica para a etapa da cadeia e para o processo que se deseja avaliar. Dessa forma, pode ser empregada na indústria de laticínios para verificar o nível de implementação dos Programas de autocontrole (BENEDITO JÚNIOR *et al.*, 2019), no transporte (LOBATO *et al.*, 2020a) e em supermercados (LOBATO *et al.*, 2020b).

Nesse contexto, considerando a importância da etapa de comercialização para a qualidade e a inocuidade de leite e derivados, o objetivo desse trabalho foi avaliar o nível de implementação de programas de qualidade na manipulação e na exposição à venda de laticínios em supermercados, a partir da aplicação de uma LV elaborada de acordo com a legislação vigente.

## Material e Métodos

Foram selecionados 15 estabelecimentos varejistas (supermercados e mercados) que armazenam, manipulam, fracionam e comercializam laticínios na região de Campo das Vertentes e na Zona da Mata Mineira no estado de Minas Gerais.

Foi elaborada uma LV, por meio de pesquisa qualitativa documental, para avaliar o nível de implementação dos programas de qualidade. Realizou-se análise de sites eletrônicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para levantamento de legislações vigentes e documentos oficiais, além de artigos nacionais e internacionais na área.

A LV foi estruturada em critérios de avaliação divididos em 13 itens: (1) área externa, (2) resíduo, (3) recebimento, (4) armazenamento seco, (5) câmara de resfriados e câmara de congelados, (6) sala de manipulação, (7) ilhas/balcões/geladeiras, (8) higienização, (9) manipuladores, (10) sanitários e vestiários, (11) água, (12) controle integrado de pragas e vetores (CIPV) e (13) documentação. Cada um dos 13 itens foi composto por diversos subitens, assim, a LV utilizada neste trabalho continha 136 pontos de verificação dos setores de laticínios dos estabelecimentos varejistas.

A coleta de dados por meio da LV foi realizada durante o funcionamento dos estabelecimentos, sem aviso prévio. Foram avaliados todos os locais onde havia laticínios sendo manipulados, fracionados, embalados, armazenados e expostos à venda. Foram verificados todos os 136 itens da LV, respondendo “sim” para os requisitos que estavam em conformidade com a legislação ou “não”, para aqueles que se encontravam não conformes. Quando a informação não era aplicada às atividades, foi considerado “não se aplica” (NA). A resposta NA também foi utilizada em situações quando o estabelecimento em questão não possuía obrigatoriedade em cumprir o requisito avaliado.

Os estabelecimentos foram classificados quanto ao nível de adequação, segundo BRASIL (2002). Dessa forma, o percentual de adequação à legislação foi calculado considerando os itens julgados (total de itens conformes e não conformes) e os atendidos (conformes). Para os itens com resposta “sim”, foi atribuído o valor um (1) e para os itens cuja resposta foi “não”, o valor zero (0). As respostas NA não foram consideradas no cálculo. O percentual de adequação foi então calculado dividindo o total de itens atendidos pelo total de itens julgados e multiplicado por 100.

Considerando os percentuais de atendimento encontrados, os setores de laticínios dos estabelecimentos comerciais foram classificados em 5 categorias distintas. Assim, foi considerado “Ótimo”, o estabelecimento que apresentou entre 91 e 100% de adequação, “Bom” quando foi observado entre 70 e 90%, “Regular” entre 50 e 69%, “Ruim” de 20 a 49% e “Péssimo” de 0 a 19% (STANGARLIN *et al.*, 2013).

## Resultados e Discussão

É possível observar na Tabela 1 que, dentre os setores de laticínios dos estabelecimentos comerciais, 26,6% (4) foram classificados na média geral de itens que atendem à legislação como “ótimo” (91 a 100% de adequação) e 60% (9) como “bom” (70 a 90% de adequação), o que significa que 86,6% (13) dos supermercados e mercados avaliados têm controle da implementação dos programas de qualidade. Ao contrário, 12,12% (2) obtiveram classificação “regular” (50 a 69% de adequação) e “ruim” (20 a 49% de adequação). Nenhum estabelecimento foi classificado como “péssimo” (0 a 19% de adequação).

Os estabelecimentos comerciais classificados como “ótimo” (Tabela 1) possuem programas de qualidade implementados de forma adequada, contam com a colaboração dos funcionários e proprietários comprometidos e recebem visitas frequentes do responsável técnico (RT). É importante ressaltar que os programas de qualidade requerem monitoramento e melhorias contínuas, por isso, o

atendimento a 100% dos itens, embora seja um nível considerado ideal, é muito difícil de ser obtido e mantido no dia a dia do estabelecimento. Isto ocorre porque os problemas acontecem e devem ser resolvidos diariamente. Um programa eficaz é aquele onde as empresas conseguem evitar ou corrigir as falhas no momento em que elas ocorrem (LOBATO, 2018).

Quando se avalia a classificação dos estabelecimentos segundo as adequações de cada um dos 13 itens da LV (Tabela 2), verifica-se que os resultados são condizentes com o obtido na classificação geral, ou seja, houve um percentual elevado de itens e subitens que atendem à legislação. Entretanto, esta não é uma situação observada comumente em estabelecimentos comerciais que manipulam produtos lácteos (ANDRÉ; STURION, 2015; VALENTE; PASSOS, 2004). Porém, cabe ressaltar que a maioria dos estabelecimentos avaliados neste trabalho é composta por supermercados de grande porte, mais estruturados. Além disso, foram avaliados somente os setores onde se manipula, fraciona, armazena ou expõe à venda leite e derivados.

No item (1) área externa, 73,3% (11) dos estabelecimentos atingiram classificação ótima quando foram avaliadas ausência de focos de insalubridade, de lixo, de objetos em desuso, de animais, insetos e roedores, além da estrutura física (cascalho, grama, piso, etc.). Por outro lado, 26,6% dos estabelecimentos têm dificuldade em manter a área externa livre de acúmulo de caixas de papelão, lixo, animais domésticos como gatos e cachorros, além de passarinhos, pombas, pragas e roedores.

Avaliando o sistema de descarte de resíduos (item 2) foi possível observar que 40% (6) dos estabelecimentos têm um sistema de controle de resíduos, ou seja, há recipientes para coleta de lixo no seu interior, de fácil higienização e transporte, devidamente identificados e higienizados constantemente. Foi verificado o uso de sacos de lixo apropriados e, quando necessário, recipientes tampados com acionamento não manual. A maioria dos estabelecimentos possuía coleta de produtos especiais, que não podem ser jogados no lixo comum, como os perecíveis. Estes estabelecimentos também possuem local próprio e adequado para o armazenamento externo do lixo, protegido de chuva, de sol, do acesso de pessoas estranhas e de animais domésticos e roedores, provido de ponto de água e ralo, e livre de odores ou incômodo à vizinhança.

No item (3) recebimento dos produtos lácteos foram analisadas a área física da recepção do estabelecimento, a forma com que os alimentos são transportados e as ações dos funcionários durante o recebimento. Apenas 26,6% (4) dos estabelecimentos obtiveram nota máxima neste item, entretanto, o somatório das classificações “ótimo” e “bom” foi de 59,9% (9). Apesar disso, percebe-se que ainda há grande dificuldade no controle do recebimento de produtos.

Tabela 1 - Percentuais de adequação dos setores de laticínios dos estabelecimentos comerciais em relação aos 13 itens de avaliação dos programas de qualidade; avaliação geral dos setores de laticínios dos estabelecimentos comerciais por meio do percentual médio de atendimento à legislação considerando os itens dos programas de qualidade e classificação dos setores de laticínios dos setores de estabelecimentos quanto ao percentual médio de adequação e atendimento os requisitos estabelecidos pela lista de verificação

Lista de verificação	Estabelecimentos (%)															
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	
1. Área Externa	100	50	100	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
2. Resíduos	67	0	100	67	100	100	67	67	100	67	33	100	0	100	33	33
3. Recebimento	100	80	100	80	100	80	0	60	100	80	60	80	0	60	40	40
4. Armazenamento Seco	100	60	100	100	100	100	NA	40	100	100	100	100	60	60	60	60
5. Câmaras	97	69	93	72	93	66	NA	76	79	100	NA	NA	45	79	86	86
6. Sala de Manipulação	96	78	87	83	91	70	91	74	95	83	82	95	43	61	39	39
7. Ilhas/Balcões/Geladeiras	100	100	100	100	100	100	100	80	60	100	80	100	20	100	100	100
8. Higienização	100	47	100	60	100	73	92	62	85	79	85	100	0	50	82	82
9. Manipuladores	100	100	100	100	100	100	100	100	92	100	100	100	25	92	75	75
10. Sanitários e Vestiários	100	100	100	100	100	100	100	71	100	100	57	86	0	100	100	100
11. Água	88	100	100	100	100	43	75	50	83	57	57	100	0	75	43	43
12. CIPV	80	80	100	80	100	100	100	60	100	100	100	100	0	80	60	60
13. Documentação	88	88	82	88	82	71	73	65	88	81	69	87	71	65	60	60
Média em%*	95	76	94	82	95	77	85	72	89	87	78	95	33	72	62	62
Classificação Geral**	O	B	O	B	O	B	B	B	B	B	B	O	RU	B	R	R

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: \*% de atendimento à legislação considerando os itens dos programas de qualidade; \*\* Classificação do estabelecimento segundo o percentual de adequações dos programas de qualidade (O: ótimo (91 a 100% de adequação); B: bom (70 a 90% de adequação); R: regular (50 a 69% de adequação); RU: ruim (20 a 49% de adequação)); E = estabelecimento comercial; CIPV: controle integrado de pragas e vetores.

Tabela 2 - Percentuais de classificação dos setores de laticínios dos estabelecimentos de acordo com os percentuais e a quantidade de adequação de cada item que compõe o programa de qualidade descritos na LV

Lista de verificação	Critérios de avaliação											
	Ótimo*		Bom*		Regular*		Ruim*		Péssimo*			
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%		
1. Área Externa	11	73,3	-	-	2	13,3	-	-	2	13,3		
2. Resíduos	6	40	-	-	5	33,3	2	13,3	2	13,3		
3. Recebimento	4	26,6	5	33,3	3	20	1	6,6	2	13,3		
4. Armazenamento Seco**	9	64,2	-	-	4	28,5	1	7,1	-	-		
5. Câmaras***	4	33,3	5	41,6	2	16,6	1	8,3	-	-		
6. Sala de Manipulação	5	33,3	7	46,6	1	6,6	2	13,3	-	-		
7. Ilhas/Balcões/Geladeiras	11	73,3	2	13,3	1	6,6	1	6,6	-	-		
8. Higiênização	5	33,3	5	33,3	3	20	1	6,6	1	6,6		
9. Manipuladores	13	86,6	1	6,6	-	-	1	6,6	-	-		
10. Sanitários e Vestiários	11	73,3	2	13,3	1	6,6	-	-	1	6,6		
11. Água	5	33,3	4	26,6	3	20	2	13,3	1	6,6		
12. CIPV	8	53,3	4	26,6	2	13,3	-	-	1	6,6		
13. Documentação	-	-	11	73,3	4	26,6	-	-	-	-		

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: \* Classificação do estabelecimento segundo o percentual de adequações de cada item que compõe o programa de qualidade (Ótimo: 91 a 100% de adequação; Bom: 70 a 90% de adequação; Regular: 50 a 69% de adequação; Ruim: 20 a 49% de adequação; Péssimo: 0 a 19% de adequação); \*\* Em um estabelecimento não foi avaliada este item, pois, não há depósito no local; \*\*\* Em três estabelecimentos não foi avaliado este item pois não há câmara no local; n = número de estabelecimentos comerciais (setores de laticínios) que atenderam ao respectivo item na classificação indicada; CIPV: controle integrado de pragas e vetores.

O maior entrave no atendimento a este item ocorre em supermercados de pequeno porte onde não existe estrutura física apropriada para o recebimento de mercadorias. Muitas vezes, chegam em veículos que não mantêm temperatura adequada, a área de recepção não possui proteção contra chuva, sol e poeira, nem está livre de materiais ou equipamentos em desuso, o que pode afetar a qualidade do produto (BRASIL, 2004).

Quando foi avaliado o armazenamento seco (item 4), verificou-se que mais da metade dos estabelecimentos, 64,2%, (9) realizam adequado controle do estoque, tendo sido classificados como “ótimo”. Os alimentos são armazenados de forma organizada, em local limpo, livre de pragas, entulhos e material tóxico, separados por categorias, sobre estrados fixos ou móveis, distantes 40 cm das paredes e entre pilhas e 60 cm do forro. Os produtos possuem embalagens íntegras, de identificação visível e com dados necessários para garantir a rastreabilidade e a validade. Todos os estabelecimentos identificam os produtos destinados à devolução ou ao descarte e armazenam em locais apropriados. Materiais de limpeza ou similares são armazenados separadamente dos alimentos.

A disposição dos produtos no armazenamento deve obedecer à data de validade, ou seja, aqueles que vencem primeiro devem ser posicionados de forma a serem consumidos primeiro. Apenas 20% dos estabelecimentos não cumpriam este item. Isto pode levar à presença de alimentos vencidos no estoque, com conseqüente contaminação cruzada e utilização de produtos fora da validade, acarretando em problemas de qualidade e até mesmo sanitários (MACHADO, 2000).

Foi observado que 74,9% dos estabelecimentos foram classificados com “ótimo” ou “bom” no item (5) câmaras de resfriados e congelados, que armazenam produtos lácteos. Neste item foram avaliados quesitos como a organização das câmaras, a ausência de produtos vencidos, impróprios para o consumo ou de diferentes categorias, a iluminação e as instalações elétricas, o emprego da ferramenta “primeiro que vence, primeiro que sai” (PVPS), a vedação adequada da porta, a presença de paletes de material lavável e o afastamento das paredes, a temperatura de armazenamento, a presença de termômetro externo e a estrutura geral das câmaras. As principais não conformidades apresentadas foram a inexistência de meios capazes de controlar a temperatura dos equipamentos e a presença de caixas de papelão em local inadequado, não segregado e livre de umidade.

Outros trabalhos verificaram temperaturas de armazenamento inadequadas em supermercados na cidade de Cascavel - PR (PEDROSO; BERNARDINO, 2016) e em Porto Alegre - RS (GOTTARDI, 2006), inclusive com relação à presença de termômetro e ao controle da temperatura por meio de registros. O tempo e a temperatura de armazenamento são fatores imprescindíveis para a segurança microbiológica dos alimentos, por este motivo, devem ser devidamente monitorados e controlados por meio de ferramentas adequadas (LOBATO, 2018).



Para o item (6) sala de manipulação de produtos lácteos, 33,3% (5) dos estabelecimentos foram classificados como “ótimo” e 46,6% (7) como “bom”. A não conformidade mais frequente foi a ausência de sala climatizada para a manipulação dos produtos.

Foram verificados neste item: a estrutura física da sala; a presença de local correto e identificado de estocagem de material de limpeza de uso diário; a temperatura das salas refrigeradas (7 a 10°C); se havia lixeiras acionadas por pedal; se o local de manipulação possuía pia exclusiva para lavagem das mãos, dotada de sabonete líquido, antisséptico, papel toalha não reciclado e cartazes orientando sobre a lavagem e desinfecção das mãos; se os utensílios utilizados estavam em bom estado de conservação, sem ranhuras ou amassamentos e se eram higienizados antes e após o uso; se havia fatiador exclusivo para produtos lácteos; e requisitos relacionados com produtos fracionados (etiqueta/identificação/rastreabilidade, correta manipulação, armazenamento, respeito às especificações dos fabricantes, remanipulação, descongelamento e recongelamento).

A rastreabilidade dos produtos nos supermercados é de extrema importância para que seja possível acessar todo o histórico do alimento, sua identificação e localização, além de permitir a identificação da origem do produto fracionado. Dessa forma, caso necessário, o recolhimento pode ser feito de forma eficiente e eficaz (FREIRE; SHECAIRA, 2020).

Nas ilhas, balcões e geladeiras que expõem os produtos lácteos (item 7) foram avaliados se os equipamentos de refrigeração ou congelamento estavam de acordo com as necessidades e tipos de alimentos armazenados, conforme estabelecido pelo fabricante. Se havia termostato visível, assim como o estado de conservação dos produtos (embalagens íntegras, com identificação visível e dados para rastreabilidade), a separação por categorias e a estocagem abaixo da linha de carga.

Foi verificado que 86,6% (13) dos estabelecimentos possuíam controle dos produtos armazenados em ilhas, balcões e geladeiras e foram classificados como “ótimo” ou “bom”. Apenas um estabelecimento recebeu classificação “ruim” pelo fato de não possuir controle da temperatura, por não manter os equipamentos em bom estado de conservação e pela falta de procedência (rastreabilidade) dos produtos. A falta de condições físicas e sanitárias ou de manutenção dos equipamentos geradores de frio pode contaminar os derivados lácteos ou contribuir para proliferação microbiana afetando a qualidade e a segurança do alimento (SIMÕES; KORDIAK, 2016).

Em pesquisa realizada em supermercados da cidade de Imperatriz - MA, foi observado que 40% dos balcões que expunham produtos lácteos à venda apresentavam péssimo estado de conservação e 20% não possuíam termostato. Para manter a qualidade de alimentos perecíveis é necessário que as temperaturas dos balcões refrigerados sejam mantidas na faixa aceitável para cada

tipo de produto. Isso pode ser alcançado com o uso de termostatos aferidos, calibrados, além de manutenção preventiva e corretiva dos equipamentos (MACEDO *et al.*, 2000).

O item (8) higienização dos setores onde se armazenam, expõe ou manipulam os produtos lácteos possui grande relevância. Para sua avaliação foram observados a higienização de todo o setor de laticínios dos supermercados (paredes, piso, portas, telas, janelas, pias, tanques, lixeiras e bancadas), de equipamentos, móveis e utensílios (facas, balcões, geladeiras, ilhas, câmaras, fatiadores de frios, tábuas e seladoras), assim como a frequência de limpeza e desinfecção e se os produtos utilizados eram adequados para o propósito, registrados e sem odores.

Verificou-se que mais da metade (66,6%) dos setores de laticínios dos estabelecimentos atingiram a classificação de “ótimo” ou “bom”. Porém, neste quesito há um fato importante, pois, houve estabelecimento que obteve não conformidade em todos os aspectos relacionados a este item, o que gera uma preocupação com a qualidade do produto oferecido ao consumidor.

O maior nível de não conformidade relacionou-se à higienização de equipamentos e utensílios a cada troca de produto, seja pela variação da categoria (por exemplo, produtos lácteos e cárneos) ou da marca, onde não há higienização intermediária de facas, tábuas, fatiadores, dentre outros.

No comércio, o fracionamento constitui uma etapa crítica, onde os queijos que chegam das indústrias são fatiados ou fracionados em porções menores. Grande quantidade de alimentos são manipulados e, muitas vezes, sem o controle necessário, estando sujeitos a contaminação cruzada, tanto pelo manipulador, quanto pelos utensílios e equipamentos mal higienizados (EMERIM, 2017).

Em estudo realizado em supermercados de Porto Alegre - RS, 60% possuíam fatiadoras de uso específico para queijos ou produtos cárneos. Porém, a higienização dos equipamentos entre o uso para diferentes marcas de produtos cárneos ou de queijos não era realizada, pois consideravam não haver necessidade, uma vez que os alimentos pertenciam à mesma categoria (GOTTARDI, 2006).

A avaliação de manipuladores que trabalham diretamente com produtos lácteos (item 9) mostrou que 93,2% dos estabelecimentos foram classificados como “ótimo” (86,6%) e “bom” (6,6%). Possuíam manipuladores uniformizados, treinados frequentemente e que utilizavam equipamentos de proteção individual (EPI). Apenas um estabelecimento obteve “ruim” como classificação devido à dificuldade em ministrar treinamentos e não possuir uso adequado de uniforme e asseio pessoal.

Neste item foram avaliados o treinamento periódico de manipuladores, o controle da saúde, a limpeza ou higiene (colaboradores aseados, com unhas curtas e limpas, sem adornos, esmalte, maquiagens e *piercings*), a higienização de mãos, a ausência de ferimentos, a utilização de uniformes de cor clara, limpos e bem conservados, sapatos limpos e fechados, os cabelos protegidos com toucas ou redes, sem barba ou bigode e a utilização de EPI.

A maioria dos estabelecimentos possuía sabonete neutro bactericida ou álcool em gel 70%, porém, em muitos deles os funcionários utilizavam detergente neutro para a limpeza das mãos, pelo fato de possuir melhor ação desengordurante. Gottardi (2006) também verificou o uso de detergente neutro em supermercados de Porto Alegre – RS, associados ou não a sanificante em concentração desconhecida. A ausência de utilização de sanitizantes adequados pode resultar em falhas na higienização das mãos e no aumento da contaminação cruzada durante a manipulação dos alimentos. O treinamento de funcionários é fundamental para o sucesso deste quesito (LOBATO, 2018).

O uso de uniformes não foi verificado em apenas um estabelecimento. Vidal-Martins *et al.* (2013) também verificaram percentuais elevados de uso de uniformes, cerca de 85% dos funcionários do supermercado, e 77% estavam limpos e em bom estado de conservação. Embora a utilização de uniformes seja obrigatória e imprescindível, deve ser feita de forma adequada, com vestimentas em bom estado de conservação e de higiene, com trocas sempre que necessárias. Somente dessa forma, é possível minimizar a contaminação cruzada dos alimentos (LOBATO, 2018).

Os manipuladores de alimentos devem submeter-se a exames médicos e laboratoriais que avaliam a sua condição de saúde antes do início de suas atividades, ou seja, na contratação, e periodicamente (BRASIL, 1997). No presente estudo apenas um estabelecimento não possuía atestado de saúde ocupacional de todos os funcionários que trabalhavam diretamente com alimentos.

Todos os manipuladores que apresentem lesões e ou sintomas de enfermidades que possam comprometer a qualidade higiênico-sanitária dos produtos devem ser afastados da atividade de preparação de alimentos enquanto persistirem essas condições de saúde, a fim de que não haja contaminação (BRASIL, 2004). Neste trabalho, dois estabelecimentos não atenderam a este quesito.

O item (10) sanitários e vestiários influencia diretamente as condições de higiene das instalações e dos manipuladores. Foi verificado se havia comunicação direta com as áreas de produção; se as instalações eram adequadas e em número suficiente; se possuíam pia, sabão líquido, antisséptico e toalha de papel não reciclado para a higienização das mãos ou qualquer outro método de secagem que não permita a recontaminação; e se havia armário para guardar objetos pessoais.

No geral, 86,6% (13) dos estabelecimentos possuíam este item relativamente controlado, sendo 76,3% classificados como “ótimo” e 13,3% como “bom”. Apenas um estabelecimento estava não conforme em todo o item. Este estabelecimento possuía somente um banheiro para a utilização de todos os funcionários do mercado, em péssimas condições, onde não havia lixeira acionada por pedal, nem sabão antisséptico ou álcool 70%, ou armário para utilização dos colaboradores, o que proporcionava grande quantidade de objetos pessoais espalhados pelos setores de manipulação.

O principal critério avaliado no item (11) água foi a conservação e a higienização do reservatório e se o abastecimento era feito com água potável (de rede pública). Dentre os estabelecimentos avaliados, 59,9% apresentaram classificação entre “ótimo” e “bom”.

Foi verificado que muitos estabelecimentos não realizam a higienização de caixa d’água conforme estabelecido, a cada seis meses (BRASIL, 2004), embora 53% possuíssem algum laudo de limpeza do reservatório. Apenas um estabelecimento não tinha reservatórios tampados, com superfície lisa e sem rachadura.

Neste estudo, 20% dos supermercados não possuíam abastecimento de rede pública e utilizava água de poço artesiano, porém, sem análises periódicas dessa água. Este controle é fundamental, pois o uso de água potável é imprescindível em estabelecimentos de alimentos, uma vez que ela é utilizada em todas as etapas operacionais, podendo apresentar um risco sanitário relevante (BRASIL, 2004). Assim, um baixo percentual de adequação obtido neste item merece atenção especial.

No item (12) CIPV, 79,9% (12) dos estabelecimentos foram classificados como “ótimo” e “bom”. No geral, eles atendiam a exigências tais como janelas, portas e aberturas protegidas com telas milimetradas (2mm), ralos e grelhas sifonados, dotados de fechamento que impediam a entrada de pragas e vetores, portas ajustadas aos batentes com proteção na parte inferior e mola para fechamento automático, ausência de vetores e pragas urbanas e/ou seus indícios e desinfestação realizada por empresa credenciada nos órgãos competentes. Resultados semelhantes foram encontrados por Pedroso e Bernardino (2016) em supermercados de Cascavel - PR.

A maior dificuldade dos estabelecimentos foi manter o local livre de indícios ou de pragas e vetores e a realização dos procedimentos de desinfestação por empresa habilitada. Muitos estabelecimentos não sabem identificar a porta de entrada de pragas e vetores ou utilizam métodos ineficazes de controle, como o emprego de praguicidas sem orientação de profissional competente, o que representa um risco de contaminação química dos alimentos.

O item documentação (13) abrange registros de temperatura, treinamentos, exames médicos e controle da saúde, validade dos produtos, certificados de limpeza de caixa d’água, serviços terceirizados de CIPV, manual de BPF e POP, alvarás sanitários, registro de RT, dentre outros estabelecidos em Brasil (2004).

Neste quesito, 73,3% (11) dos estabelecimentos foram classificados como “bom”, sendo o restante (26,6%) classificado como “regular”. Os quatro estabelecimentos classificados como regulares não possuíam certificados e alvarás sanitários emitidos pela VISA, capazes de comprovar que estão de acordo com a legislação sanitária vigente. Porém, todos os registros, manual de BPF e POP, além das visitas de RT, estavam em dia. Nenhum estabelecimento possuía certificado de

calibração de termômetros, importante para assegurar a qualidade e precisão das medições de temperatura, requisito fundamental para a qualidade do produto final.

## Conclusão

A implementação de programas de qualidade na etapa de comercialização de laticínios é fundamental para a manutenção da qualidade e da inocuidade original dos produtos. Embora 86,6% dos estabelecimentos tenham sido classificados como “bom” ou “ótimo” com relação ao nível de atendimento da legislação, foram verificadas não conformidades importantes que impactam diretamente nas condições higiênico-sanitárias, como aquelas relacionadas ao controle da cadeia de frio, à recepção de produtos e ao controle de estoque, às condições de higiene e de uso de utensílios e fatiadores, à utilização de água potável, ao controle de pragas, à calibração de instrumentos e equipamentos e à presença de registros auditáveis. A eficiência e a eficácia dos programas de qualidade requerem treinamento, monitoramento, implementação de medidas preventivas e corretivas, verificação, registros e fiscalização mais frequentes para que as melhorias sejam contínuas e os riscos à saúde dos consumidores sejam mínimos.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos estabelecimentos que participaram do trabalho, ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Instituto de laticínios Cândido Tostes (EPAMIG – ILCT).

## Referências

ALVES, M. C.; SILVA, D. A. C.; CHIARELLO, M. D. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite comercializado no Distrito Federal no período de janeiro de 2015 a julho de 2017. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 6, n. 3, p. 37-45, 2018.

ANDRÉ, P. S.; STURION, G. L. Condições de comercialização de queijos em varejões do Município de Piracicaba – SP. **Segurança Alimentar e Nutrição**. v. 22, n. 1, p. 644-653, 2015.

BENEDITO JÚNIOR, H. S. *et al.* Lista de verificação de Programas de Autocontrole para Indústrias de Laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 140, p. 102 – 105, 2019.



BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Aprova o Regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos COD - 100 À 001.0001. **Diário Oficial da União**, DF, Brasília, 26 nov. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 326-SVS/MS de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico, condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores e de alimentos. **Diário Oficial da União**, DF, Brasília, 1 ago. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 nov. 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 set. 2004.

BUZINARO, D. V. C.; GASPAROTTO, A. M. S. Como a implementação das boas práticas de fabricação (BPF) auxiliam a competitividade e a qualidade em uma indústria. **Interface Tecnológica**, v. 16, n. 2, p. 371-372, 2019.

CHACON, T. A. **Mapeamento de pontos de contaminação em uma indústria de laticínios e sua influência na qualidade microbiológica do leite pasteurizado**. 2018. 46f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2018.

EMERIM, I. Qualidade e inocuidade de produtos fatiados em redes de supermercados no município de Porto Alegre – RS. 2017. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

FREIRE, C. E. C. A.; SHECAIRA, C. L. A importância da rastreabilidade dos alimentos de origem animal frente aos surtos alimentares: Revisão. **PUBVET**, v.14, n.11, p.1-8, 2020.

GÓMEZ-CORTÉS, P.; JUÁREZ, M.; DE LA FUENTE, M. Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 1-9, 2018.

GOTTARDI, C. P. T. **Avaliação das condições higiênicas-sanitárias do ambiente de manipulação de produtos fatiados de origem animal de redes de supermercados de Porto Alegre**. 2006. 78 f. Dissertação (Mestrado em Segurança dos Alimentos) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.

JORGE, B.; BARBOSA, R. V.; BUCCIOLI, P. Incidência de contaminação dos alimentos por manipuladores de unidades de alimentação e comércios alimentícios ambulantes. **Revista Fafibe Online**, v. 11, n. 1, p. 64-77, 2018.

LIMA, L. N. C. *et al.* Avaliação microbiológica do leite *in natura* e pasteurizado comercializado no município de Benevides-PA. **Scientia Plena**, v. 12, n. 06, p. 1-6, 2016.



LOBATO, E. M. G. B. **Influência do grau de implementação de programas de qualidade nas condições higiênico-sanitárias de veículos transportadores e do comércio varejista de leite e derivados.** 2018. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2018.

LOBATO, E. M. G. B. *et al.* Gestão da qualidade no transporte de laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 142, p. 58 – 63, 2020a.

LOBATO, E. M. G. B. *et al.* Lista de verificação de programas de qualidade para o comércio de laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 144, p. 47 – 50, 2020b.

MACEDO, J. A. B. *et al.* Avaliação da temperatura de refrigeração nas gôndolas de exposição de derivados lácteos em supermercados da região de Juiz de Fora/MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 55, n. 315, p. 41-47, 2000.

MACHADO, R. L. P. **Boas práticas de armazenagem na indústria de alimentos.** Rio de Janeiro: Ed. Embrapa Agroindústria de Alimentos; 2000. 28 p.

PEDROSO, K. R. P. Q.; BERNARDINO, P. D. L. S. Aspectos higiênico-sanitários de estabelecimento comercial do tipo supermercado de grande porte. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia (RECIT)**. v. 1, n. 13, p. 68-82, 2016.

RIOS, T. C. **Boas práticas em supermercados e na central de armazenamento e distribuição.** 2012. 57f. Monografia (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

SALVADOR, F. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região. **Revista F@pciência**, v. 9, n. 5, p. 30-41, 2012.

SILVA, R. C.; LEMOS FILHO, L. C. A.; MANIÇOBA, R. M. **Sistema de gestão alimentar em supermercados na cidade de Mossoró-RN.** 2018. 13f. Trabalho de conclusão de curso (Ciência e Tecnologia) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2018.

SIMÕES, P.; KORDIAK, J. **Avaliação da temperatura de gôndolas da rede de frios de supermercados da cidade de Ponta Grossa – PR.** 2016. 33f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnólogo em alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2016.

STANGARLIN, L. *et al.* **Instrumentos de Apoio para Implantação das Boas Práticas em Serviços de Nutrição e Dietética Hospitalar.** 1. ed. Rio de Janeiro: Ed. Rubio; 2013. 184p.

TEIXEIRA, E. F. **Avaliação do plano estratégico de implementação de boas práticas de fabricação de alimentos em uma unidade produtora de refeições.** 2017. 81f. Tese (Mestrado em Educação para a Saúde) - Escola Superior de Tecnologia da Saúde em Coimbra, Coimbra, 2017.

VALENTE, D.; PASSOS, A. D. C. Avaliação higiênico-sanitária e físico-estrutural dos supermercados de uma cidade do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 7, n. 1, p. 80- 87, 2004.

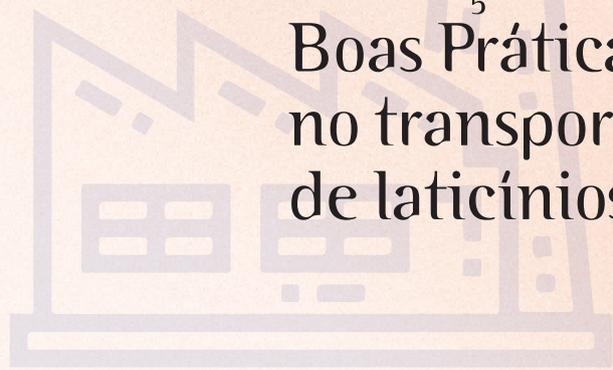
VIDAL-MARTINS, A. M. C. *et al.* Avaliação do consumo de leite e produtos lácteos informais e do conhecimento da população sobre os seus agravos à saúde pública, em um município do estado de São Paulo, Brasil. **Boletim de Indústria Animal**, v.70, n.3, p.221-227, 2013.

VIEIRA, F. J. A. *et al.* A importância da implantação das boas práticas de manipulação em um supermercado no Município de Patos – PB. **Revista brasileira de Gestão Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 49-53, 2020.



# 03 Capítulo

Avaliação das  
Boas Práticas  
no transporte  
de laticínios



## Capítulo 3

### Avaliação das Boas Práticas no transporte de laticínios

Eliza Maria Galvão Bengtson Lobato<sup>1</sup>; Rafaela Assis Machado<sup>2</sup>; Denise Sobral<sup>3</sup>; Junio César Jacinto de Paula<sup>3</sup>; Gisela de Magalhães Machado Moreira<sup>3</sup>; Vanessa Aglaê Martins Teodoro\*<sup>4</sup>

#### Resumo

Alimentos contaminados constituem um problema de saúde pública mundial, sendo responsáveis pela ocorrência de inúmeros casos de infecções e intoxicações. Nesse cenário, insere-se o leite e seus derivados, que durante o processo de transporte, são submetidos a condições diversas o que, conseqüentemente, pode afetar a sua qualidade. A implementação de programas de qualidade que se estendam a essa etapa da cadeia produtiva é imprescindível para a manutenção da segurança dos alimentos. Assim, o presente trabalho objetivou realizar a avaliação de veículos transportadores de laticínios, por meio de uma análise observacional, utilizando-se uma lista de verificação. Foram selecionados 20 veículos responsáveis pelo transporte de produtos lácteos das indústrias para os supermercados, onde foram avaliados 58 pontos de verificação, distribuídos em cinco itens: (1) situação do veículo, (2) acondicionamento dos alimentos, (3) carga e descarga, (4) motorista e ajudante e (5) documentação. De acordo com o nível de implementação dos programas de qualidade, os veículos transportadores foram classificados como “ótimo”, “bom”, “regular”, “ruim” ou “péssimo”. A avaliação demonstrou que 20% dos veículos foram classificados como “ótimo” e 50% como “bom” e que nenhum deles foi classificado como “péssimo”. Apesar disso, 30% obtiveram classificações que podem comprometer a qualidade dos produtos, em virtude de suas deficiências higiênico-sanitárias. Os itens com maiores índices de não conformidades foram aqueles relacionados ao motorista e ajudante e à documentação. A responsabilidade pela distribuição adequada dos laticínios deve ser compartilhada entre a indústria e o comércio, garantindo assim, a manutenção da qualidade e da inocuidade do produto final.

**Palavras-chave:** Auditoria. Autocontrole. *Checklist*. Gestão da qualidade.

---

<sup>1</sup>Mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora.

<sup>2</sup>Discente do curso de Medicina Veterinária. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora.

<sup>3</sup>Pesquisadores/Professores da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG - ILCT). Juiz de Fora – MG.

<sup>4</sup>Professora Adjunta do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Juiz de Fora.

\* E-mail para correspondência: [vanessa.teodoro@ufjf.edu.br](mailto:vanessa.teodoro@ufjf.edu.br)

## Introdução

As cadeias agroindustriais são fundamentais para o desenvolvimento da economia, e no caso do Brasil, são ainda mais expressivas, tendo em vista que no ano de 2020, o Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio representou 26,6% do PIB total (CEPEA, 2020). Nesse contexto, insere-se a cadeia do leite, que alcançou no ano de 2019 a produção de 34 bilhões de litros no país, tendo historicamente o estado de Minas Gerais como o maior produtor nacional (IBGE, 2019).

A cadeia do leite detém uma grande importância socioeconômica no cenário nacional, principalmente para o produtor familiar, tendo em vista que este é responsável por 60% de toda a produção de leite no Brasil, sendo fundamental também para a geração de emprego e renda no campo (SILVA *et al.*, 2019). Além disso, em virtude da sua composição nutricional, o leite e seus derivados também possuem um papel essencial na alimentação humana, contribuindo para a manutenção, crescimento e desenvolvimento do organismo durante todas as fases da vida (BUZINARO; ALMEIDA; MAZETO, 2006; RAYMUNDO *et al.*, 2017; KUBICOVÁ; PREDANOCYOVÁ; KÁDECOVÁ, 2019).

O alto valor nutricional do leite e de seus derivados, aliado à manipulação inadequada e ao abuso do binômio tempo temperatura em sua conservação e transporte, faz com que tais produtos, frequentemente, apresentem-se contaminados e envolvidos em surtos de origem alimentar (TEODORO *et al.*, 2017). Desta forma, é de extrema importância que se tenha um adequado controle da qualidade e da segurança dos produtos (ALMEIDA JUNIOR; OZELIN, 2017).

Em todo o mundo as indústrias devem implementar programas de qualidade com a finalidade de produzir alimentos inócuos, além atender a requisitos de identidade e qualidade (BENEDITO JÚNIOR *et al.*, 2019a). O sistema de gestão da qualidade no laticínio deve abranger toda a cadeia, incluído o transporte e o comércio dos produtos acabados. Em geral, essas etapas recebem pouca ou nenhuma atenção das indústrias, embora constituam parte do processo e devam ser consideradas para a garantia da qualidade do produto final (TEODORO *et al.*, 2017).

Os laticínios devem apresentar um rigoroso controle da qualidade desde a obtenção do leite até o transporte dos produtos para o varejo, por meio da implementação de Programas de Autocontrole (PAC), que incluem as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e as Análises de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC), dentre outras (BRASIL, 2017). Considerando que o fabricante e o comerciante são igualmente responsáveis pelos produtos (BRASIL, 1990), também cabe ao comércio implementar as Boas Práticas e os Procedimentos Operacionais Padrão (POP) garantindo a manutenção da sua qualidade original

(BRASIL, 2004). Embora a implementação desses programas seja uma exigência por parte dos órgãos de fiscalização, muitas vezes são negligenciados nas diversas etapas da cadeia produtiva do leite, levando a perdas e à redução da vida de prateleira, da qualidade e da segurança (TEODORO *et al.*, 2017).

No que tange especificamente o transporte de produtos lácteos, objeto deste estudo, as principais não conformidades estão relacionadas às condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, à falta de controle de temperatura, à higienização inadequada dos caminhões e à existência de carga mista. A responsabilidade pelo controle das condições de transporte deve ser compartilhada entre a indústria e o comércio (TEODORO *et al.*, 2017; LEIRA *et al.*, 2018; LOBATO *et al.*, 2020a).

Para o diagnóstico de não conformidades algumas ferramentas podem auxiliar as indústrias de laticínios e os estabelecimentos comerciais. A análise observacional e a aplicação de uma lista de verificação (LV) permite averiguar se os itens exigidos pela legislação estão sendo cumpridos, bem como determinar o grau de adequação daquela etapa da cadeia produtiva (VASQUES; MADRONA, 2016; BENEDITO JÚNIOR *et al.*, 2019a). A LV é de grande valia, tanto na avaliação inicial das condições higiênico-sanitárias, quanto no monitoramento, na verificação, nas auditorias e fiscalizações, seja na indústria (BENEDITO JÚNIOR *et al.*, 2019b), no transporte (LOBATO *et al.*, 2020a) ou no comércio de produtos lácteos (LOBATO *et al.*, 2020b)

Assim, considerando a importância da etapa de transporte para a manutenção da qualidade e da inocuidade dos produtos finais, o presente trabalho teve como objetivo verificar a implementação de programas de qualidade, por meio da avaliação dos veículos transportadores de laticínios da indústria para o comércio.

## Material e Métodos

O presente trabalho trata-se de um estudo observacional que avaliou o grau de implementação de programas de qualidade, ou seja, o nível de atendimento à legislação, durante a etapa de transporte de laticínios da indústria para o comércio varejista, por meio do emprego de uma LV. Para isso, foram selecionados 20 veículos que transportam produtos lácteos, dentre eles, caminhões de supermercados e caminhões de responsabilidade das indústrias de laticínios ou de seus terceirizados. O trabalho foi realizado nas regiões de Campos das Vertentes e Zona da Mata Mineira, no estado de Minas Gerais.

Para elaboração da lista de verificação (LV), ferramenta que avaliou o percentual de implantação dos programas de qualidade, foi utilizada uma pesquisa qualitativa aplicando-se a metodologia de pesquisa documental. Realizou-se análise de sites eletrônicos da Agência Nacional

de Vigilância Sanitária (ANVISA) ([www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br)) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ([www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)) para o levantamento das legislações vigentes, guias de procedimentos relacionados ao tema, além de pesquisas em artigos nacionais e internacionais na área.

A LV foi estruturada com base nas observações realizadas durante fiscalizações dos órgãos competentes e conforme a legislação vigente, e contou com um roteiro de verificações com itens indispensáveis para a avaliação das condições de transporte de produtos lácteos. Os critérios foram divididos em cinco itens, sendo eles a situação do veículo (1), acondicionamento dos alimentos (2), carga e descarga (3), motorista e ajudantes (4) e documentação (5). Cada um dos cinco itens é composto por diversos subitens, contendo no total 58 pontos de verificação, descritos em Lobato *et al.* (2020a).

A coleta dos dados foi realizada após a elaboração das LV, por meio de visitas em dias aleatórios e sem aviso prévio, durante horário comercial, sendo possível verificar os procedimentos adotados em cada situação. Foram verificados todos os 58 itens da LV dos veículos de transporte, respondendo “sim” para os requisitos que estavam em conformidade com a legislação ou “não” para aqueles que não estavam em conformidade. A resposta “não se aplica” (NA) foi utilizada em situações que o veículo em questão não tinha obrigatoriedade em cumprir o requisito avaliado e quando a informação não era aplicável àquela atividade.

Os veículos foram classificados quanto ao nível de adequação utilizando a metodologia descrita na RDC 275 de 21 de outubro de 2002 da ANVISA (BRASIL, 2002). Desse modo, os resultados da avaliação das condições higiênico-sanitárias foram obtidos a partir de um cálculo, considerando os itens julgados e os itens atendidos, sendo que, para os itens com resposta “sim” foram atribuídos o valor um (1) e para os itens cujo a resposta foi “não” o valor atribuído foi zero (0). As respostas “NA”, por sua vez, não foram consideradas no cálculo. As respostas “sim” foram somadas e, em seguida, calculou-se a porcentagem de adequação por meio da equação  $PA = \frac{\text{itens atendidos}}{\text{itens julgados}} \times 100$ , onde PA corresponde à porcentagem de adequação; itens atendidos correspondem ao número de respostas “sim”; e itens julgados correspondem ao número total de respostas “sim” e “não”.

Considerando os percentuais de atendimento à legislação encontrados, os veículos transportadores foram classificados em cinco categorias distintas, de acordo com os critérios utilizados por Stangarlin *et al.* (2013). Sendo assim, foi considerado “Ótimo” o veículo que apresentou entre 91 e 100% de adequação, “Bom” quando foi observado entre 70 e 90%, “Regular” entre 50 e 69%, “Ruim” de 20 a 49% e “Péssimo” de 0 a 19%.

## Resultados e Discussão

Os resultados da aplicação da LV nos 20 veículos transportadores de produtos lácteos, para a análise da implementação dos programas de qualidade ou do percentual de atendimento geral à legislação, bem como a classificação geral de cada um deles estão apresentados na Tabela 1.

As classificações dos transportes variaram entre “ótimo”, “bom”, “regular” e “ruim”. Os transportes classificados como “ótimo” e “bom” representam, respectivamente 20% e 50%, ou seja, 70% dos transportes estudados atendem a pelo menos 70% dos itens descritos na legislação. Nenhum transporte foi classificado como “péssimo”, porém, 30% obtiveram classificações que podem comprometer a qualidade dos produtos, em virtude de suas deficiências higiênico-sanitárias.

As não conformidades mais frequentes foram mistura de produtos de categorias diferentes, temperatura inadequada, limpeza deficiente dos baús, motoristas e ajudantes que não se portavam como manipuladores de alimentos e a falta de documentação adequada, o que pode levar a problemas de ordem sanitárias dos produtos transportados.

A Tabela 2 apresenta o percentual de veículos transportadores em cada classificação (ótimo, bom, regular, ruim e péssimo), de acordo com o atendimento dos requisitos de cada um dos cinco itens dos programas de qualidade descritos na LV.

Avaliando a Tabela 2 é possível verificar que, para o item (1) situação do veículo, 30% foi classificado como “ótimo”, 45% como “bom” e 25% como “regular”. Para averiguação desse item foram analisadas a estrutura dos veículos e se possuíam condições higiênico-sanitárias adequadas. Aspectos como a separação entre o motorista e a carga, o uso exclusivo para o transporte de produtos alimentícios, a presença de compartimento de carga compatível com a finalidade a que se destina, sem materiais estranhos e/ou substâncias tóxicas e nocivas à carga foram avaliados. Além disso, verificou-se o emprego de água potável e de produtos de limpeza e sanitização apropriados e registrados junto ao Ministério da Saúde, a higiene do veículo, a ausência de insetos, roedores e de outros animais ou indícios de sua presença, conforme exigências apresentadas na Portaria 326 de julho de 1997 (BRASIL, 1997) da ANVISA e na RDC 275 de 2002 (BRASIL, 2002).

Esse item possui fundamental importância para evitar a contaminação cruzada entre os alimentos transportados, e é imprescindível para a manutenção das condições higiênico-sanitárias do veículo. Sendo assim, devem ser verificados pelos estabelecimentos comerciais e pela indústria, ou seja, independentemente se o veículo é próprio ou se ele é de entrega direta, ainda que terceirizado, a responsabilidade deve ser compartilhada entre todos os envolvidos (LOBATO, 2018).

Tabela 1 – Percentuais de adequação dos veículos transportadores em relação aos cinco itens de avaliação dos programas de qualidade; avaliação geral dos veículos transportadores por meio do percentual médio de atendimento à legislação considerando os itens dos programas de qualidade e classificação desses veículos quanto ao percentual médio de adequação e atendimento aos requisitos estabelecimentos pela lista de verificação

Lista de Verificação	Veículos																			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
1. Situação do veículo	75	75	75	75	75	75	75	75	63	63	50	100	100	100	100	100	100	63	50	75
2. Acondicionamento dos alimentos	57	57	57	57	71	71	71	71	57	57	86	86	86	100	100	100	100	86	86	100
3. Carga e descarga	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4. Motorista e ajudante	67	67	67	67	50	50	50	50	50	50	17	67	50	67	67	67	60	17	17	33
5. Documentação	80	80	80	80	100	100	100	100	100	100	0	100	40	100	100	100	100	0	0	20
Média em%*	70	70	70	70	74	74	74	74	67	67	44	89	74	93	93	93	93	45	41	63
CLASSIFICAÇÃO**	B	B	B	B	B	B	B	B	R	R	RU	B	B	O	O	O	O	RU	RU	R

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: T = veículo transportador; \*:% de atendimento à legislação considerando os itens dos programas de qualidade; \*\*: Classificação do veículo segundo o percentual de adequações dos programas de qualidade (O: ótimo (91 a 100% de adequação); B: bom (70 a 90% de adequação); R: regular (50 a 69% de adequação); RU: ruim (20 a 49% de adequação)).

Tabela 2 – Percentual de veículos transportadores classificados como ótimo, bom, regular, ruim e péssimo, de acordo com o percentual de adequação de cada item que compõe o programa de qualidade, descritos na LV

Lista de verificação	Critério de avaliação									
	Ótimo*		Bom*		Regular*		Ruim*		Péssimo*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1. Situação do veículo	6	30	9	45	5	25	0	0	0	0
2. Acondicionamento dos alimentos	5	25	9	45	6	30	0	0	0	0
3. Carga e descarga	20	100	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Motorista e ajudante	0	0	0	0	16	80	1	5	3	15
5. Documentação	11	55	4	20	0	0	2	10	3	15

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: \*: classificação do veículo transportador segundo o percentual de adequações de cada item que compõe o programa de qualidade (Ótimo: 91 a 100% de adequação; Bom: 70 a 90% de adequação; Regular: 50 a 69% de adequação; Ruim: 20 a 49% de adequação; Péssimo: 0 a 19% de adequação); n: número de veículos que atenderam ao respectivo item na classificação indicada.

Em pesquisa realizada em São José do Rio Preto, São Paulo, em que se avaliou a implantação do programa de boas práticas de manipulação em açougues foi observado que quase a totalidade dos estabelecimentos (97%) realizava a verificação da limpeza e do estado de conservação do caminhão de transporte na entrega da matéria-prima (VIDAL-MARTINS *et al.*, 2014), todavia, o trabalho não informou como essa verificação era feita.

A higienização adequada dos veículos deve ser realizada pelo responsável pelo transporte, seja ele o estabelecimento comercial, a indústria ou a empresa terceirizada e, além disso, também deve ser monitorado pelos responsáveis pela produção e comércio dos produtos. Segundo Baptista e Venâncio (2003), um plano de higienização deve identificar claramente todos os parâmetros que devem ser controlados, objetivando evitar a contaminação dos alimentos. Destacam ainda, que é necessário estabelecer quais medidas devem ser tomadas para manter a limpeza dos veículos e, por fim, alertam que a seleção dos produtos de higienização deve levar em conta o tipo de sujidade e de superfície, e que esses produtos não devem ser transportados e nem acondicionados junto com os alimentos.

No item (2) acondicionamento dos produtos, 25%, 45% e 30% dos veículos obtiveram as classificações “ótimo”, “bom” e “regular”, respectivamente. As não conformidades mais comuns foram a ausência de sistema de refrigeração para garantia da conservação adequada dos alimentos durante o percurso, com conseqüente desrespeito à temperatura ideal de cada produto, e problemas com contaminação cruzada. Também foram avaliados neste item aspectos como a proteção contra

raios solares e chuva, o volume e o acondicionamento da carga em embalagens apropriadas para o tipo de produto, limpas e em bom estado de conservação, além da rotulagem de acordo com a legislação em vigor.

Vidal-Martins *et al.* (2014) observaram que apenas 15% dos açougues em São José do Rio Preto, São Paulo, realizavam a aferição e o registro da temperatura da carne no momento da entrega. No presente estudo 20% dos veículos não possuía este registro, sendo repassada a responsabilidade para o estabelecimento comercial. Este controle é importante para prevenir abusos de temperatura, que podem colocar em risco a qualidade dos produtos e deve ser feito regularmente, não apenas pelo comércio no momento da recepção, mas também, pelo motorista do veículo. Além disso, o controle feito pelo motorista deve ser verificado pela indústria e pelo estabelecimento varejista. Baptista e Venâncio (2003) afirmam ainda que esses registros de temperatura de transporte também devem estar disponíveis para a inspeção.

O controle de cargas também é importante para manter a qualidade sensorial dos produtos, principalmente quando se trata de produtos lácteos, que são extremamente suscetíveis a odores fortes. Apesar das embalagens constituírem importante barreira física, muitos materiais plásticos permitem a penetração desses odores (BAPTISTA; GASPAR; OLIVEIRA, 2006).

No item (3) carga e descarga, foi avaliado se essas etapas eram realizadas evitando quaisquer riscos de contaminação dos produtos transportados, e em todos os veículos analisados existia essa preocupação, de modo que todos foram classificados como “ótimo”. Assim, os caminhões permaneciam abertos somente o tempo suficiente para realizar a descarga, os produtos não eram colocados diretamente no chão e o aparelho refrigerador não era desligado durante o momento da carga e da descarga.

No item (4) motorista e ajudante, foram avaliados assuntos relacionados a treinamentos, uso de uniformes, asseio pessoal e saúde. Os veículos foram classificados como “regular” (80%), “ruim” (5%) e “péssimo” (15%). Isso pode ser explicado pela ausência de controle da saúde dos colaboradores, tendo em vista que muitas empresas não consideram este funcionário como um manipulador de alimentos, e, portanto, não há essa preocupação, bem como não ocorre a realização de treinamentos e nem são fornecidos uniformes adequados para as funções que exercem.

Em um estudo realizado por Saccol *et al.* (2006), constataram-se que o treinamento dos manipuladores em boas práticas foi efetivo em transferir conhecimentos e que esta educação deve ocorrer de forma continuada, uma vez que contribui para a melhoria da qualidade higiênico-sanitária e para o aperfeiçoamento das rotinas de trabalho.

O último quesito analisado foi item (5) documentação, ou seja, se o veículo possuía procedimentos descritos, se havia registro de treinamentos e capacitação de funcionários, registro de temperatura de produtos no recebimento, e do estado geral das caixas de produtos (conforme ou não conforme) e se o veículo possuía alvará para realizar o transporte de alimentos. As classificações obtidas foram 55% “ótimo”, 20% “Bom”, 10% “ruim” e 15% “péssimo”.

Os veículos responsáveis pelo transporte, sejam eles contratados ou de frota própria, devem ser autorizados por órgão competente (BRASIL, 1997; BRASIL 2002). É comum o descuido com a documentação, principalmente no caso de veículos que fazem entrega direta da indústria para o estabelecimento comercial. Isso pode ser explicado pelo fato de existirem empresas familiares e, em muitos casos, não possuírem conhecimento sobre a importância das boas práticas na distribuição dos laticínios para a manutenção da qualidade do produto que será exposto no comércio, por isso, 25% dos veículos foram classificados como “ruim” e “péssimo”.

## Conclusão

A lista de verificação foi uma ferramenta extremamente útil para análise de conformidades e não conformidades dos veículos transportadores de leite e derivados para consumo direto. A partir da sua aplicação foi possível mensurar o nível de implementação dos programas de qualidade de cada veículo, bem como distinguir quais pontos se apresentaram como gargalos dessa etapa. Apesar de 70% dos transportes estudados atenderem a pelo menos 70% dos itens descritos na legislação, problemas importantes para a qualidade e a inocuidade dos produtos foram observados. Dentre as principais não conformidades estão a documentação inadequada, o que pode indicar falha nos processos de fiscalização, a ineficácia na manutenção e registro da temperatura ideal para cada categoria de produtos, a ausência de controle da saúde do colaborador e de higiene pessoal, a higienização inadequada dos baús e a presença de indícios de contaminação cruzada. Assim, é possível concluir que o Sistema de Gestão da Qualidade das indústrias e dos supermercados falhou na monitorização, na aplicação de ações corretivas e preventivas, bem como no treinamento dos funcionários que atuam no transporte dos laticínios. A inclusão dessa etapa no escopo dos programas de qualidade, de forma compartilhada entre os estabelecimentos processadores e varejistas, é fundamental para garantir não apenas a manutenção da qualidade original dos produtos lácteos, mas também que não causem danos à saúde do consumidor.

## Agradecimentos

Os autores agradecem às empresas que participaram do trabalho, ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Instituto de laticínios Cândido Tostes (EPAMIG – ILCT).

## Referências

ALMEIDA JUNIOR, S.; OZELIN, S. D. Fundamentos de controle de qualidade na produção, beneficiamento e industrialização do leite bovino. **Investigação: Revisão Nutrição e Produção Animal**. v. 16, n. 8, p. 76 - 81, 2017.

BAPTISTA, P.; GASPAR, P. D.; OLIVEIRA, J. A. **Higiene e Segurança Alimentar na Distribuição de Produtos Alimentares**. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. Portugal: Guimarães, 2006. Disponível em: <https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/7225/1/manual-vol2.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2021.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os Perigos para a Segurança Alimentar no Processamento de Alimentos**. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. 1. ed., Portugal: Guimarães, 2003. Disponível em: [http://www.esac.pt/noronha/manuais/manual\\_4\\_perigos.pdf](http://www.esac.pt/noronha/manuais/manual_4_perigos.pdf). Acesso em: 18 abr. 2021.

BENEDITO JÚNIOR, H. S. *et al.* Verificação do nível de implementação de programas de autocontrole em indústrias de laticínios de Minas Gerais. **Revista do Instituto de laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 73 - 85, 2019a.

BENEDITO JÚNIOR, H. S. *et al.* Lista de verificação de Programas de Autocontrole para Indústrias de Laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 140, p. 102 - 105, 2019b.

BRASIL. Casa Civil. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: Brasília - DF, 12 set. 1990. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/18078compilado.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/18078compilado.htm). Acesso em: 06 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997. Aprova o Regulamento Técnico; "Condições Higiênicas-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos". **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 01 ago. 1997. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1997/prt0326\\_30\\_07\\_1997.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1997/prt0326_30_07_1997.html). Acesso em 06 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 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, ano 206, seção 1, p. 126, 23 out. 2002. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/anexos/anexo\\_res0275\\_21\\_10\\_2002\\_rep.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/anexos/anexo_res0275_21_10_2002_rep.pdf)>. Acesso em: 18 abr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**: Brasília - DF, seção 1, p. 25, 16 set. 2004. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216\\_15\\_09\\_2004.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html). Acesso em: 06 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 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. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Seção 1, p. 3.

BUZINARO E. F.; ALMEIDA R. N. A.; MAZETO, G. M. F. S.. Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 5, p. 852 - 861, 2006.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Esaq/USP). **PIB do agronegócio brasileiro**, 2020. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em: 18 abr. 2021.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM**. IBGE, 2019. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>> Acesso em: 01 de mai. de 2021

KUBICOVÁ, L.; PREDANOCYOVÁ, K.; KÁDEKOVÁ, Z.. The importance of milk and dairy products consumption as a part of rational nutrition. **Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences**, v. 13, n. 1, p. 234 - 243, 2019.

LEIRA, M. H. *et al.* Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: Revisão. **PUBVET**, v.12, n.5, a85, p.1-13, 2018. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/4780/fatores-que-alteram-a-produccedilatildeo-e-a->. Acesso em: 18 abr. 2021.

LOBATO, E. M. G. B. **Influência do grau de implementação de programas de qualidade nas condições higiênico-sanitárias de veículos transportadores e do comércio varejista de leite e derivados**. 2018. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2018.

LOBATO, E. M. G. B. *et al.* Gestão da qualidade no transporte de laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 142, p. 58 - 63, 2020a.

LOBATO, E. M. G. B. *et al.* Lista de verificação de programas de qualidade para o comércio de laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 144, p. 47 - 50, 2020b.

RAYMUNDO, N. K. L.; BERSOT, L. S.; OSAKI, S. C. Consumer profile and problems associated with uninspected raw milk consumption in western Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.84, p.1-8, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/aib/v84/1808-1657-aib-84-e0872016.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2021.

SACCOL, A. L. F. *et al.* Importância de treinamento de manipuladores em boas práticas. **Disciplinarum Scientia**. Serie: Ciência da Saúde, v. 7, n. 1, p. 91-99, 2006. Disponível em: <https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumS/article/view/906/850>. Acesso em 18 abr. 2021.

SILVA, B. P. *et al.* Caracterização da produção e qualidade do leite em propriedades de agricultura familiar na região do Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 4, p. 231-239, 2019. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/745/516>. Acesso em: 18 abr. 2021.

STANGARLIN, L. *et al.* **Instrumentos de Apoio para Implantação das Boas Práticas em Serviços de Nutrição e Dietética Hospitalar**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Ed. Rubio, 2013. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=IO3DAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=STANGARLIN,+L.%3B+HECKTHEUER,+L.+H.,+SERAFIM+A.+L.+et+al.+Instrumentos+de+Apoio+para+Implanta%C3%A7%C3%A3o+das+Boas+Pr%C3%A1ticas+em+Servi%C3%A7os+de+Nutri%C3%A7%C3%A3o+e+Diet%C3%A9tica+Hospitalar.+1.+ed.+Rio+de+Janeiro:+Ed.+Rubio%3B+2013.+184p&ots=sE-jj2WjHP&sig=-3GA109fKT9rNRyu3E1WAQh15SM#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 18 abr. 2021.

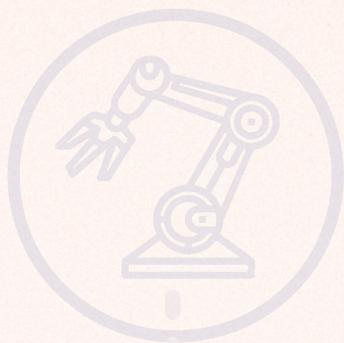
TEODORO, V. A. M. *et al.* Implementação de programas de autocontrole na indústria de laticínios. **Informe Agropecuário**, v. 38, n. 299, p. 20-17, 2017.

VASQUES, C. T.; MADRONA, G. S. Aplicação de checklist para avaliação da implantação das boas práticas em uma unidade de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**, v. 3, n. 252/253, p. 53 - 58, 2016. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/07/846570/separata-53-58.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2021.

VIDAL-MARTINS, A. M. C. *et al.* Implantação e avaliação do programa de boas práticas de manipulação em açougues do Município de São José do Rio Preto – SP. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 73–86, 2014. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/147/1992>. Acesso em: 18 abr. 2021.

# 04 Capítulo

Efeito sanitizante de óleos essenciais sobre *Salmonella Choleraesuis* transferida de carne de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno



## Capítulo 4

### Efeito sanitizante de óleos essenciais sobre *Salmonella Choleraesuis* transferida de carne de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno

Camila Carolina de Souza Silva<sup>1</sup>; Camila Ribeiro Rocha <sup>\*2</sup>; Ana Carolina Rocha Santos<sup>1</sup>; Francine Alves Souza da Fonseca<sup>3</sup>; Márcia Martins<sup>4</sup>, Roberta Torres Careli<sup>4</sup>

#### Resumo

A contaminação de superfícies processadoras de alimentos com microrganismos patogênicos é uma ocorrência de grande preocupação, pois reduzem a qualidade higiênico sanitária dos produtos e conseqüentemente causam danos à saúde do consumidor. No presente estudo avaliou-se a ação antibacteriana dos óleos essenciais (OE) de orégano (*Origanum vulgare*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e menta (*Mentha piperita*) frente a células de *Salmonella Choleraesuis* biotransferidas de cortes de peito de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno, após cinco diferentes tempos de contato (2,5; 5; 10; 15 e 20 min). Através do método de macrodiluição em caldo, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para cada OE. Foi encontrado uma CIM de 0,00005 mg/mL, 0,001 mg/mL e 0,912 mg/mL para os OE de orégano, canela e menta, respectivamente, e as soluções sanitizantes foram formuladas com base nesses resultados. Cubos de peito de frango, artificialmente contaminados com cerca de 7 log UFC/g de *S. Choleraesuis*, foram capazes de transferir mais de 3 log UFC/cm<sup>2</sup> quando mantidos em contato com cupons de aço inoxidável e polipropileno por 24 h a 7 °C. Soluções sanitizantes a base de OE de orégano e de canela provocaram a morte das células de *S. Choleraesuis* aderidas aos cupons de aço inoxidável após 5 min de contato, enquanto na superfície de polipropileno promoveram apenas a redução da carga bacteriana. A solução a base do OE de menta foi capaz de eliminar as células aderidas em todos os tempos avaliados em ambas as superfícies. Dessa forma, os OE de *O. vulgare*, *C. zeylanicum* e *M. piperita* podem ser considerados alternativas convenientes na aplicação de sanitizantes convencionais na indústria de alimentos, além de atender a crescente demanda dos consumidores por produtos mais naturais.

**Palavras-chave:** Adesão bacteriana. Antimicrobianos naturais. Atividade antibacteriana. Contaminação cruzada.

<sup>1</sup> Engenheira de Alimentos, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

<sup>2</sup> Doutoranda em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

<sup>3</sup>Técnica de Laboratório, Instituto de Ciências Agrárias, UFMG.

<sup>4</sup>Docente, Instituto de Ciências Agrárias, UFMG.

\* E-mail para correspondência: camilaribeirorocha@yahoo.com.br

## Introdução

O processo de higienização realizado em estabelecimentos processadores de alimentos compreende as etapas de limpeza e desinfecção. A limpeza consiste na remoção de substâncias minerais e/ou orgânicas indesejáveis, enquanto a desinfecção, ou sanitização, é uma operação de redução, por método físico e ou agente químico, do número de microrganismos em nível que não comprometa a qualidade higiênico-sanitária do alimento (BRASIL, 2004).

Falhas no procedimento de higienização em superfícies e equipamentos utilizados no processamento de alimentos favorecem o acúmulo de resíduos orgânicos. Sob condições favoráveis de multiplicação, microrganismos se aderem a estas superfícies e formam uma massa celular rica em nutrientes, resíduos orgânicos e outros microrganismos. A formação e dispersão de biofilmes é um problema, pois contribui com a contaminação cruzada dos alimentos, afetando a segurança e causando malefícios a saúde do consumidor (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2013; GIAOURIS e SIMÕES, 2018; ALONSO e KABUKI, 2019).

O interesse por produtos antimicrobianos naturais aumentou nos últimos anos, decorrente da insatisfação dos consumidores pelos conservantes sintéticos (HYLDGAARD *et al.*, 2012). Diversos estudos vêm buscando compreender a ação antimicrobiana de compostos derivados de plantas, como extratos e óleos essenciais, incluindo sua atividade sobre biofilmes bacterianos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; VALERIANO *et al.*, 2012). Óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos de plantas, na qual desempenham um importante papel de defesa, devido as suas propriedades antimicrobianas. Seu modo de ação pode envolver vários alvos na célula bacteriana. A hidrofobicidade dos OE permite que eles atuem sobre os lipídios da membrana celular e da mitocôndria, tornando-os permeáveis e levando ao extravasamento do conteúdo celular (BURT, 2004).

Considerando o uso de óleos essenciais como uma alternativa promissora para os antimicrobianos utilizados na indústria de alimentos, visto que reduzem o impacto negativo ao meio ambiente e mantem a segurança microbiológica dos alimentos (BRUGNERA; DE OLIVEIRA; PICCOLI, 2011), objetivou-se avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Mentha piperita* frente células de *Salmonella Choleraesuis* biotransferidas de cortes de peito de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno.

## Material e Métodos

O microrganismo avaliado foi a bactéria *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 que faz parte da bacterioteca do laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), campus Montes Claros, Minas Gerais.

Os óleos essenciais (OE) de orégano (*Origanum vulgare* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.) e menta (*Mentha piperita* L.) foram adquiridos comercialmente pela empresa FERQUIMA Indústria e Comércio Ltda.

Os constituintes majoritários dos OE foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Amostras de OE foram pesadas (2 mg) utilizando-se balança analítica da Shimadzu (Kyoto, Japão) e solubilizadas em diclorometano (1 mL). Em seguida transferidas para vials de 2 mL e analisadas. Análises qualitativas dos OE foram realizadas utilizando-se cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) equipado com detector de ionização por impacto de elétrons (MS 5975C) e coluna capilar DB-5MS (Agilent Technologies, 30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme). Hélio (99,999% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 1 mL/min. Uma alíquota de 1 µL da amostra foi injetada no cromatógrafo a uma razão de Split 1:5. O injetor split/splitless foi mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 60 °C foi aquecida a uma taxa de 3 °C/min até 240 °C permanecendo por 10 min. Após a separação dos compostos, a temperatura foi elevada até 300 °C e permanecendo por 3 min (post run) para limpeza do sistema. A temperatura da interface foi mantida a 280 °C, a ionização realizada com impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de íons mantida a 230 °C e a aquisição de dados realizada pelo monitoramento total de íons 45-550 (m/z).

A identificação dos constituintes majoritários da amostra foi realizada através da comparação dos espectros de massas da biblioteca NIST (banco de dados do equipamento). Assim, o índice de similaridade entre os espectros foi utilizado para avaliar e identificar os compostos nas amostras. Utilizou-se também o Índice de Retenção Linear (IRL) como parâmetro de identificação dos compostos presentes na amostra (VIEGAS e BASSOLI, 2007). Para a determinação do IRL, uma solução de 20 µL/mL padrão de n-alcanos (C7-C22) foi utilizada para verificar o desempenho do sistema CG-EM e posteriormente calcular o IRL de cada composto presente nas amostras. O padrão dos referidos alcanos foi injetado no sistema CG-EM operando nas mesmas condições descritas na análise dos compostos no sistema CG-MS (VIEGAS e BASSOLI, 2007).

A determinação da concentração mínima necessária para inibir o crescimento de *S. Choleraesuis* (CIM) foi realizada utilizando-se o método de macrodiluição em caldo Brain Heart

Infusion (BHI) (NCCLS, 2003). Após padronizar as soluções na concentração de 0,057 mg/mL para os OE de orégano e canela, e 0,912 mg/mL para o OE de menta, foram produzidas diluições subsequentes, contendo 2,5 mL e Tween 80 da concentração anterior e 2,5 mL do caldo BHI, obtendo-se as concentrações finais de 0,0001; 0,0002; 0,0005; 0,001; 0,003; 0,007; 0,014; 0,028; 0,057 mg/mL para os OE de orégano e canela, para o OE de menta 0,001; 0,003; 0,007; 0,014; 0,028; 0,057; 0,114; 0,228; 0,456; 0,912 mg/mL. Inoculou-se 12,5 µL da suspensão de *S. Choleraesuis* em cada tubo contendo as soluções de OE previamente determinadas. Os controles dessas concentrações foram incubados sem o acréscimo da suspensão do microrganismo. O controle positivo foi realizado com acréscimo de 12,5 µL da suspensão direta da bactéria e o controle negativo foi avaliado em tubos sem o acréscimo da bactéria. Todos os tubos foram homogeneizados em vórtex por 1 min e incubados a 35 °C por 24 h. Após este período, adicionou-se nos tubos 125 µL do reagente cloreto de tetrafeniltetrazóico (TTC) para avaliar o crescimento microbiano. Os tubos que apresentaram coloração vermelha após a adição do reagente indicavam o crescimento microbiano, aqueles que permaneciam com a coloração amarela indicavam ausência microbiana. Para a determinação da CBM, uma alçada da amostra dos tubos que não apresentaram coloração vermelha foi transferida para placas contendo Ágar Triptona de Soja (TSA), as quais foram incubadas a 35 °C por 24 h para observação do crescimento microbiano.

O peito de frango utilizado no experimento foi primeiramente submetido às análises de exclusão microbiológica para verificar a ausência de contaminação por *Salmonella* sp., espécie avaliada nesse estudo. O produto foi obtido comercialmente e armazenado em freezer a -18 °C, até o momento das análises. Utilizou-se o método de plaqueamento, seguido de testes bioquímicos para determinação de *Salmonella* sp., na carne de peito de frango (ANDREWS *et al.*, 2001). A partir dos resultados negativos para *Salmonella*, as amostras de peito de frango foram utilizadas nas etapas experimentais.

Para avaliação do potencial de biotransferência do microrganismo para as superfícies, cubos de peito de frango com 10 g ± 1 (2,0 x 2,0 cm) foram contaminados com 7 log UFC/g de *S. Choleraesuis* e colocados em contato com cupons de aço inoxidável AISI 304 #4 (2,0 cm x 2,0 cm x 0,1 cm) e de polipropileno (2,0 cm x 2,0 cm x 0,2 cm) por 24 h a 7 ± 1 °C, separadamente. Os cupons foram previamente higienizados e esterilizados (ROSSONI e GAYLARDE, 2000).

Após 24 h de contato, os cupons foram tratados com soluções sanitizantes nas CIM de cada OE. Para isso, cada cupom foi retirado das soluções com auxílio de pinça estéril e imerso em solução de NaCl a 0,85% (m/v) por 1 min para a remoção de células planctônicas. Em seguida, foram imersos individualmente em frascos com 10 mL de solução sanitizante composta por solução de NaCl a 0,85%

(m/v), Tween 80 e OE nas concentrações previamente estabelecidas através do teste da CIM. A ação sanitizante das soluções contra as células aderidas às superfícies dos cupons foram avaliadas após 2,5; 5; 10; 15 e 20 min de contato a  $25 \pm 2$  °C sob condições estáticas. Além dos tratamentos com as soluções dos OE, foram utilizadas soluções controle, compostas por solução NaCl 0,85% (m/v) e Tween 80, para efeito de comparação com a eficiência dos sanitizantes.

Para a quantificação das células bacterianas transferidas dos cubos de peito de frango para cada superfície, os cupons foram imersos em 10 mL de solução NaCl a 0,85% (m/v) por 1 min a fim de retirar as células planctônicas (VALERIANO *et al.*, 2012); transferidos separadamente para 10 mL de solução NaCl a 0,85% (m/v) e sonicados por 2 min utilizando-se banho de ultrassom (QUIMIS®), com frequência de 40 kHz, para a remoção de células aderidas sobreviventes nas superfícies dos cupons (MALHEIROS *et al.*, 2010). A partir de 1000 µL da solução NaCl 0,85% (m/v), foram realizadas diluições decimais seriadas sucessivas, com plaqueamento em Ágar Hektoen Entérico (HIMEDIA®) e incubação a 37 °C por 24 h. Após essas condições de crescimento, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram quantificadas e os resultados expressos em UFC/cm<sup>2</sup>, de acordo com Careli *et al.* (2009).

Todos os experimentos foram realizados com três repetições por tratamento. Para estimar a biotransferência bacteriana nas superfícies de aço e polipropileno foi realizado o teste t a 5% de probabilidade. Para a enumeração das células aderidas nos cupons de aço inoxidável e polipropileno após o tratamento destes com soluções sanitizantes em diferentes tempos de contato, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4×5, constituído por quatro tratamentos (controle, OE de orégano, OE de canela e OE de menta) e cinco tempos de contato (2,5; 5; 10; 15; e 20 min). Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de probabilidade e os resultados foram analisados com o auxílio do Statistical Analysis System - SAS 9.0 (2009).

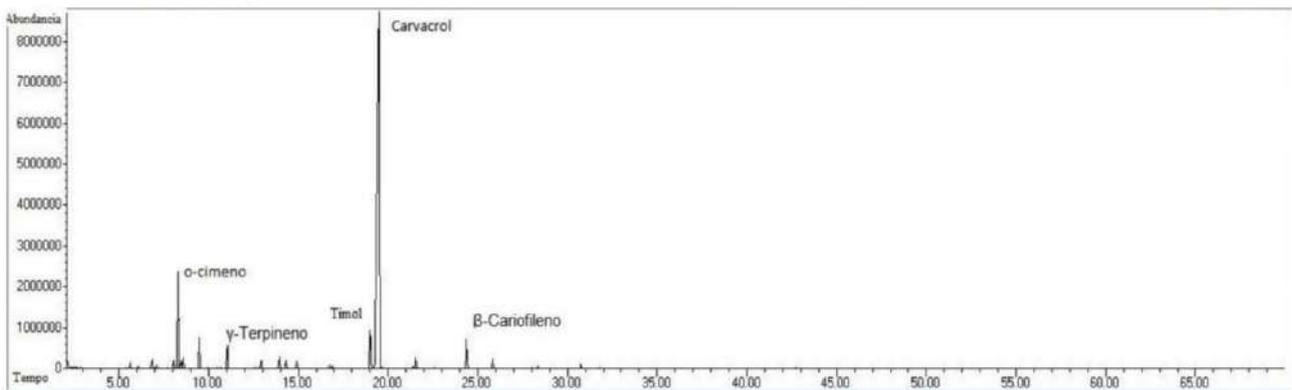
## Resultados e Discussão

Após as análises dos constituintes majoritários de cada óleo essencial foi possível identificar um total de 31 compostos para OE orégano, 28 para OE canela e 27 para o OE de menta, utilizando-se o sistema CG-EM, interpretação de espectros de massas (NIST) e índice de retenção linear. O IRL foi utilizado com o objetivo de auxiliar no processo de caracterização dos compostos.

Os compostos majoritários encontrados no OE de orégano foram o carvacrol (75,39%), o-cimeno (6,35%),  $\gamma$ -terpineno (2,02%) e timol (3,92%), totalizando 87,68% da composição

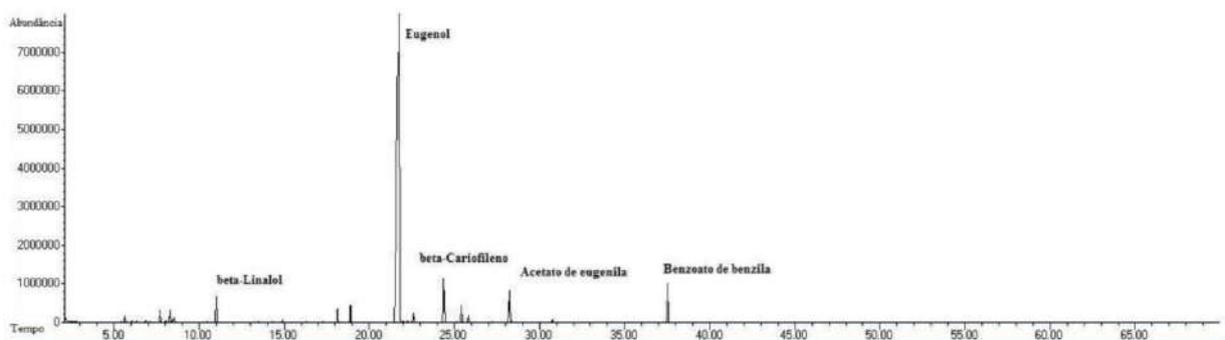
identificada (100,00%) (Figura 1). O eugenol (79,02%) foi o composto majoritário identificado no OE de canela, seguido pelos compostos  $\beta$ -cariofileno (3,76%), benzoato de benzila (3,49%), acetato de eugenila (2,66%) e  $\beta$ -linalol (1,82%), totalizando 90,75% da composição identificada (100,00%) (Figura 2). Os compostos majoritários identificados no OE de menta (Figura 3) foram mentol (41,30%), mentona (25,57%), acetato de isometol (6,55%) e eucaliptol (5,46%), totalizando 78,88% da composição identificada (100,00%).

Figura 1 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano)



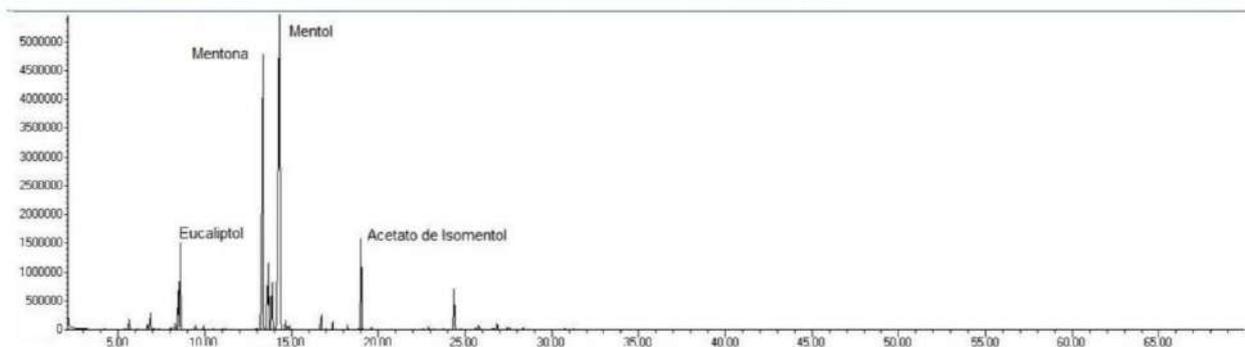
Fonte: Dos autores, 2019

Figura 2 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela)



Fonte: Dos autores, 2019

Figura 3 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Mentha piperita* (menta)



Fonte: Dos autores, 2019

Diversos OE e seus compostos majoritários já se mostraram eficazes contra espécies de *Salmonella* (VALERIANO *et al.*, 2012; OLAIMAT *et al.*, 2019; MOON; WAITE-CUSIC; HUANG, 2020; EBANI *et al.*, 2019). Nesse estudo, *S. Choleraesuis* demonstrou variações no perfil de resistência de acordo com o tipo de OE. O crescimento da bactéria nas soluções dos OE de orégano e canela foi inibido a 0,00005 e 0,001 mg/mL, respectivamente. Foi necessária uma concentração de 0,912 mg/mL de OE de menta para inibição da cepa avaliada. Estas mesmas concentrações foram capazes de provocar a morte celular detectada no teste de CBM.

Ebani *et al.* (2019) identificaram 17 compostos principais no OE de *M. piperita*, sendo mentona, mentol e mentofurano os compostos prevalentes, e 15 compostos principais no OE de *C. zeylanicum*, tendo o cinamaldeído como majoritário. Os autores observaram atividade antibacteriana do OE de *C. zeylanicum* sobre cepas de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* isoladas de aves, com MIC variando de 1,26 mg/mL a 0,63 mg/mL. Enquanto o OE de *M. piperita* apresentou baixo potencial de inibição sobre os microrganismos.

Becerril, Nerin e Gomez-Lus (2012) estudaram a ação dos OE de orégano e canela sobre bacilos Gram-negativos, incluindo *Salmonella enterica*. Os autores verificaram que não houve grandes diferenças na suscetibilidade entre as cepas de diferentes ou da mesma espécie, ou mesmo entre cepas com diferentes perfis de resistência a antibióticos. Os OE de orégano e canela foram ativos contra todos os microrganismos testados numa faixa de CIM e CBM de 100-800 mg/L.

As diferenças observadas na ação antibacteriana dos OE podem estar relacionadas à sua composição química. A variação na composição quantitativa e qualitativa dos OE de diferentes espécies de plantas está relacionada às diferentes fontes geográficas, condições climáticas, estações de colheita, genótipo, e mecanismos de extração do óleo (BURT, 2004; WONG, AHMAD-MUDZAQQIR; WAN-NURDIYANA, 2014; PL'UCHTOVÁ *et al.*, 2018). Existem algumas evidências de que os componentes minoritários possuem um papel crítico no desempenho da atividade antibacteriana, possivelmente por produzir um efeito sinérgico entre outros componentes, além de serem precursores dos compostos principais (BURT, 2004).

A ação antibacteriana do OE de orégano pode estar associada à presença de seus componentes fenólicos, carvacrol e timol (SAKKAS e PAPADOPOULOU, 2017; REYES-JURADO *et al.*, 2020). Esses compostos são estruturalmente muito semelhantes, tendo o grupo hidroxila em uma localização diferente no anel fenólico. Ambos parecem tornar a membrana celular permeável, sendo capazes de

desintegrar a membrana externa de bactérias gram-negativas, liberando lipopolissacarídeos (LPS) e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP (BURT, 2004).

A atividade do OE de canela tem sido atribuída aos compostos cinamaldeído e eugenol, substâncias que reagem com os radicais lipídicos e hidroxila, convertendo-os em produtos estáveis por meio de sua capacidade de doação de hidrogênio (JAYAPRAKASHA *et al.*, 2007). Além disso, esses componentes são capazes de inibir a produção de enzimas essenciais pela bactéria devido à presença de um grupo carbonila que as liga e inativa e/ou causa danos à parede celular da bactéria (DI PASQUA *et al.*, 2007).

Quanto ao modo de ação do OE de menta, Trombetta *et al.* (2005) demonstraram que a atividade antimicrobiana dos monoterpenos (mentol) contido no OE, pode ser o resultado da perturbação da fração lipídica da membrana plasmática. A membrana externa Gram-negativa tem uma forte carga negativa conferida a ela pelo lipopolissacarídeo, que está conectado à composição lipídica e à carga superficial da membrana microbiana (ROSATO *et al.*, 2018).

Os cubos de peito de frango, artificialmente contaminados com *S. Choleraesuis*, foram capazes de transferir mais de 3 log UFC/cm<sup>2</sup> quando mantidos em contato com as superfícies de aço inoxidável e polipropileno por 24 h a 7 °C. Observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na quantidade de células aderidas nos cupons de polipropileno (4,3 log UFC/cm<sup>2</sup>) em relação ao aço inoxidável (3,4 log UFC/cm<sup>2</sup>), o que pode ser justificado pela maior rugosidade do polipropileno em relação ao aço inoxidável.

*Salmonella* representa um importante problema de saúde pública global e é uma ameaça bacteriana zoonótica emergente na indústria avícola. Devido à persistência do biofilme em ambientes de processamento de alimentos após a higienização, estratégias de controle e erradicação na indústria devem ser constantemente estudadas (MERINO *et al.*, 2019). A remoção do biofilme torna-se mais difícil devido à sua interação com os componentes químicos dos alimentos (carboidratos, gorduras, proteínas, sais). A sanitização é a principal forma de controle de biofilmes, mas, infelizmente, muitos dos compostos utilizados no setor de alimentos não são projetados principalmente para esse fim.

A eficácia das soluções sanitizantes a base dos OE sobre as células aderidas de *S. Choleraesuis* foi avaliada pela quantificação de células viáveis nas superfícies após a sanitização. As soluções sanitizantes foram preparadas nas concentrações obtidas na CIM, 0,00005 mg/mL, 0,001 mg/mL e 0,912 mg/mL para os OE de orégano, canela e menta, respectivamente.

As ações das soluções sanitizantes diferiram quanto ao tipo de OE utilizado e o tempo de contato. Após 5 min de tratamento das soluções dos OE de orégano e de canela, não foram detectadas contagens de *S. Choleraesuis* nos cupons de aço inoxidável (Tabela 1). Na superfície de polipropileno

observaram-se reduções logarítmicas significativas da população ( $P < 0,05$ ) em comparação com os tratamentos controle após todos os tempos de exposição (Tabela 2). A solução preparada a base do OE de menta foi suficiente para a remoção total das células aderidas em todos os tempos avaliados, em ambas as superfícies (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Contagem de células aderidas em superfície de aço inoxidável, expressas em log UFC/cm<sup>2</sup>, após tratamento com soluções sanitizantes à base de óleos essenciais e solução controle em diferentes tempos de contato

Tratamentos	Tempo de contato (minutos)				
	2,5	5	10	15	20
Controle	3,45 <sup>a</sup>	3,61 <sup>a</sup>	3,28 <sup>a</sup>	3,62 <sup>a</sup>	3,49 <sup>a</sup>
OE Orégano	2,75 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>
OE Canela	3,59 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>
OE Menta	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos tratamentos.

Tabela 2 - Contagem de células aderidas em superfície de polipropileno, expressas em log UFC/cm<sup>2</sup>, após tratamento com soluções sanitizantes à base de óleos essenciais e solução controle em diferentes tempos de contato

Tratamentos	Tempo de contato (minutos)				
	2,5	5	10	15	20
Controle	4,20 <sup>a</sup>	4,57 <sup>a</sup>	4,83 <sup>a</sup>	4,60 <sup>a</sup>	4,30 <sup>a</sup>
OE Orégano	3,33 <sup>b</sup>	3,61 <sup>b</sup>	2,47 <sup>c</sup>	2,61 <sup>b</sup>	2,74 <sup>b</sup>
OE Canela	3,55 <sup>b</sup>	3,18 <sup>b</sup>	3,37 <sup>b</sup>	2,39 <sup>b</sup>	2,02 <sup>c</sup>
OE Menta	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>d</sup>

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos tratamentos.

O tipo de superfície utilizado pode interferir no processo de adesão bacteriana e no seu processo de higienização. Superfícies constituídas por polímeros apresentam fissuras, fendas e rugosidades, o que favorecem o aumento dos níveis de adesão devido a proteção das células bacterianas no interior das suas irregularidades (ARAÚJO *et al.*, 2010). E a diferença encontrada entre as ações das soluções sanitizantes à base de OE pode ser atribuída principalmente à sua composição química distinta, como já mencionado anteriormente.

Em estudo realizado por Ferreira *et al.* (2019), dosagens subinibitórias (0,78% e 1,56% v/v) de OE de canela foram testadas quanto à capacidade de inibir a adesão de patógenos de origem alimentar à superfície do poliestireno, incluindo *Salmonella enterica*. A presença do OE reduziu a adesão e a maior concentração avaliada foi capaz de inibir completamente a adesão bacteriana.

Valeriano *et al.* (2012) avaliaram o efeito sanitizante de soluções formuladas com OE de *M. piperita* e *Cymbopogon citratus* (capim limão) sobre o biofilme de *S. Enteritidis* em aço inoxidável após 10, 20 e 40 min de contato. Dez minutos com a solução sanitizante reduziram significativamente as populações bacterianas aderidas para ambos os OE testados (7,80 µL/mL), e após 20 e 40 min de tratamento, as contagens de células não foram detectadas.

Lira *et al.* (2020) avaliaram a eficácia do OE de orégano na inativação de células sésseis de *S. enterica* sorovar Enteritidis em biofilmes jovens e maduros formados em aço inoxidável. A solução a base do OE (2,5 µL/mL) mostrou-se eficaz na erradicação do biofilme formado, apresentando efeito dependente do tempo e modo de ação multi-alvo na membrana celular bacteriana, causando alterações na morfologia. Reyes-Jurado *et al.* (2020) verificaram que o OE de orégano pode inibir o desenvolvimento da formação de biofilme de *Salmonella* Typhimurium em superfícies de aço inoxidável.

A ação antibacteriana dos OE inicia-se predominantemente pelo aumento da permeabilidade da membrana citoplasmática, resultando no extravasamento do conteúdo celular; conseqüentemente, quanto maior o tempo de contato entre os microrganismos e a solução de OE, maior será a perda de conteúdo intracelular (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

## Conclusão

A atividade antimicrobiana dos óleos variou de acordo com o tipo de OE testado, o que está relacionada com a sua composição química. A resistência bacteriana ao efeito sanitizante variou de acordo com o tipo de superfície em que a bactéria estava aderida. Os resultados desse trabalho sugerem que a utilização de sanitizantes a base de óleos essenciais de orégano, canela e menta são métodos alternativos ou suplementares para a sanitização eficiente de superfícies industriais contaminadas.

## Agradecimentos

FAPEMIG e Laboratório de Pesquisa em Agroquímica/ICA-UFMG.



## Referências

ALONSO, V. P. P.; KABUKI, D. Y. Formation and dispersal of biofilms in dairy substrates. **International Journal of Dairy Technology**, v. 72, n. 3, p. 472-478, 2019.

ANDREWS, H. W. *et al.* *Salmonella*. In: ITO, F.P.D.K. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association**, p. 357- 376, 2001.

ARAÚJO, E. A. *et al.* Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1940-1948, 2010.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; GÓMEZ-LUS, R. Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 8, p. 699-705, 2012.

BRASIL. RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 set. 2004. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216\\_15\\_09\\_2004.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html). Acesso em 28 abr. 2021.

BRUGNERA, D. F.; DE OLIVEIRA, M. M. M.; PICCOLI, R. H. Essential oils of *Cymbopogon* sp. in the control of foodborne pathogenic bacteria. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 339-344, 2011.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CARELI, R. T. *et al.* The adherence of *Pseudomonas fluorescens* to marble, granite, synthetic polymers, and stainless steel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 171-176, 2009.

DI PASQUA, R. *et al.* Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4863–4870, 2007.

EBANI, V. V. *et al.* In vitro antimicrobial activity of essential oils against *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium strains isolated from poultry. **Molecules**, v. 24, n. 5, p. 900, 2019.

FERREIRA, L. R. *et al.* Cinnamon essential oil reduces adhesion of food pathogens to polystyrene. **International Food Research Journal**, v. 26, n. 3, p. 1103-1110, 2019.

GIAOURIS, E. E.; SIMÕES, M. V. Pathogenic biofilm formation in the food industry and alternative control strategies. In: Foodborne Diseases. **Academic Press**, p. 309-377, 2018.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

JAYAPRAKASHA, G. K. *et al.* Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal Food Compost, Anal.**, v. 20, p. 330–336, 2007.

LIRA, M. C. *et al.* Efficacy of oregano and rosemary essential oils to affect morphology and membrane functions of noncultivable sessile cells of *Salmonella* Enteritidis 86 in biofilms formed on stainless steel. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 2, p. 376-386, 2020.

MALHEIROS, P. S. *et al.* Evaluation of growth and transfer of *Staphylococcus aureus* from poultry meat to surfaces of stainless steel and polyethylene and their disinfection. **Food Control**, v. 21, p. 298–301, 2010.

MERINO, L. *et al.* Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies. **Food Research International**, v. 119, p. 530-540, 2019.

MOON, S. H.; WAITE-CUSIC, J.; HUANG, E. Control of *Salmonella* in chicken meat using a combination of a commercial bacteriophage and plant-based essential oils. **Food Control**, v. 110, p. 106984, 2020.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada. 6ª ed. Norma NCCLS M7-A6. USA: Edition Wayne, 2003.

OLAIMAT, A. N. *et al.* Inhibitory effects of cinnamon and thyme essential oils against *Salmonella* spp. in hummus (chickpea dip). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 5, p. e13925, 2019.

OLIVEIRA, M. M. M. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control**, v. 21, p. 549-553, 2010.

OLIVEIRA, M. M. M; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes em indústrias de laticínios: aspectos gerais e uso de óleos essenciais como nova alternativa de controle. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 390, p. 65-73, 2013.

PL'UCHTOVÁ, M. *et al.* Antimicrobial activity of two *Mentha* species essential oil and its dependence on different origin and chemical diversity. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 8, p. 1934578X1801300832, 2018.

REYES-JURADO, F. *et al.* Inhibitory effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella* Typhimurium biofilm formation. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 36, 2020.

ROSATO, A. *et al.* Elucidation of the synergistic action of *Mentha piperita* essential oil with common antimicrobials. **Plos One**, v. 13, n. 8, p. e0200902, 2018.

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p 81-85, 2000.



SAKKAS, H.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 429-438, 2017.

TROMBETTA, D. *et al.* Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 6, p. 2474–2478, 2005.

VALERIANO, C. *et al.* The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel. **Food Control**, v. 25, p. 673-677, 2012.

VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G. Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando GC-MS e coluna HP-Innowax. **Química Nova**, v. 30, p. 2031-2034, 2007.

WONG, Y. C.; AHMAD-MUDZAQQIR, M. Y.; WAN-NURDIYANA, W. A. Extraction of essential oil from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). **Oriental Journal of Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 37, 2014.



# 05 Capítulo

Diagnóstico microbiológico  
do ambiente de ordenha  
no Alto Sertão Sergipano

## Capítulo 5

### Diagnóstico microbiológico do ambiente de ordenha no Alto Sertão Sergipano

Beatriz Souza e Silva<sup>1</sup>; Augusto César Fonseca Sobreira\*<sup>1</sup>, Bhreendda' Hary dy Luar Prates Kiepper<sup>2</sup>; Thaís Costa Santos<sup>3</sup>; Patrícia Erica Fernandes<sup>4</sup>; João Paulo Natalino de Sá<sup>4</sup>

#### Resumo

O presente estudo teve como objetivo diagnosticar as condições microbiológicas do ambiente de ordenha de pequenas propriedades de leite. Foi realizado o levantamento de ambientes de ordenha de um total de vinte produtores de leite de base familiar distribuídos em cinco cidades do Alto Sertão Sergipano. Amostras do ar, superfície de equipamentos e utensílios foram coletadas a fim de se realizar as análises microbiológicas para verificação da qualidade do ar e a eficiência do processo de higienização dos equipamentos e utensílios. Os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva. A partir da quantificação de mesófilos aeróbios e enterobactérias, foi possível observar que todos os produtores obtiveram médias acima do limite sugerido de 1,48 LOG·cm<sup>2</sup>/semana para a quantificação de mesófilos aeróbios no ar. Quanto aos resultados para mesófilos aeróbios e enterobactérias em superfícies de baldes de coleta e tanques de refrigeração, a maior parte estava fora do padrão sugerido de 2,00 LOG/cm<sup>2</sup>, ao passo que, para a borracha da ordenhadeira, a maioria apresentou resultados dentro do limite sugerido. Com os resultados obtidos foi possível diagnosticar um cenário em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, falhas e/ou ausência de Boas Práticas de Ordenha (BPO), carência de capacitações e assistência técnica. Os problemas encontrados podem ser minimizados com iniciativas e ações governamentais, com a maior interação entre a universidade, pequenos produtores e empresas privadas por meio de cursos de capacitação.

**Palavras-chave:** Bovinocultura leiteira. Higiene na ordenha. Segurança alimentar.

---

<sup>1</sup> Bacharel em Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

<sup>2</sup> Bacharela em Ciência da Nutrição, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa.

<sup>3</sup> Bacharela em Agroindústria, Núcleo de agroindústria, Universidade Federal de Sergipe.

<sup>4</sup> Doutor em Ciência e Tecnologia de alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

\*E-mail para correspondência: [augusto.sobreira@ufv.br](mailto:augusto.sobreira@ufv.br)



## Introdução

O Brasil ocupa a quinta posição do *ranking* mundial de bovinocultura leiteira, com uma produção anual em torno de 34,8 bilhões de litros de leite em 2019 de acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), caracterizando uma das atividades mais desenvolvidas no país. A produção de leite em baixa e larga escala é fonte de renda e lucratividade tanto para os grandes como para os pequenos produtores que fazem parte do sistema familiar brasileiro. O setor, além de apresentar volume de produção crescente, destaca-se pela geração de emprego e renda. No ano de 2015, a indústria de laticínios gerou 105 mil empregos diretos e considerando 2 trabalhadores atuando continuamente por propriedade, a cadeia produtiva leiteira gerou 2,7 milhões de postos de trabalho permanente (MARTINS; BEDUSCHI; MOSQUIM, 2016).

O estado de Sergipe, apesar de sua pequena área geográfica, apresenta condições de produção de leite satisfatórias em relação ao cenário nacional, com uma produção de leite no quarto trimestre de 2020 de quase 69 mil litros (IBGE, 2021), sendo as cidades de Nossa Senhora da Glória, Monte Alegre de Sergipe, Poço Redondo, Porto da Folha e Canindé do São Francisco com maior representatividade na produção leiteira através da utilização do sistema familiar de produção (SANTOS, 2018).

A produção de leite a nível global é devido ao seu elevado consumo em todas as esferas da população, principalmente nos primeiros anos de vida, já que o leite é uma boa fonte de nutrientes, tais como proteína, gordura, vitaminas e minerais (GUERREIRO *et al.*, 2005). Entretanto, tais componentes nutricionais associados a outras características intrínsecas do alimento, como pH próximo a neutralidade, alta atividade de água e uma elevada concentração de aminoácidos, podem favorecer a multiplicação de microrganismos contaminantes do leite (CALLEFE; LANGONI, 2015).

A proliferação dos microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos tem início durante o processo de ordenha devido ao manejo inadequado de equipamentos e utensílios, bem como a falta de higienização do úbere e dos tetos do animal (SANTOS; FONSECA, 2001; GUERREIRO *et al.*, 2005). A principal fonte bacteriana nessa primeira etapa de processamento é advinda da mastite bovina. Trata-se de uma inflamação na glândula mamária do animal e está diretamente relacionada a práticas inadequadas de higiene durante o processo de ordenha (COUTINHO *et al.*, 2012). Desse modo, é inegável a necessidade de implementar no campo as Boas Práticas Agropecuárias a fim de garantir não somente o bem estar animal, mas também a qualidade do leite (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; NETO *et al.*, 2018).

A contaminação microbiana pode ocorrer quando os microrganismos se aderem às superfícies do interior dos equipamentos de ordenha, quando as etapas do processo de higienização são

negligenciadas (CAVALCANTI *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2018). A adesão microbiana pode favorecer a formação de biofilme na superfície de equipamentos e utensílios afetando diretamente a qualidade do leite, além de oferecer risco à saúde do consumidor (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; CAVALCANTI *et al.*, 2010).

A correta execução do processo de higienização em todo processo desde a ordenha até o transporte do leite é de suma importância para garantir a qualidade físico-química do produto, estabilidade microbiológica e segurança para o consumidor. O objetivo principal deste estudo foi avaliar as condições microbiológicas encontradas em diferentes amostras (ar, equipamentos e utensílios de ordenha), por meio da contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos em pequenas propriedades rurais do Alto Sertão Sergipano.

## Material e Métodos

Com o auxílio da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe – EMDAGRO, foi realizado o levantamento de 20 produtores de leite de base familiar que estariam dispostos a ceder suas propriedades voluntariamente para a realização desta pesquisa em cinco municípios do Alto Sertão Sergipano (Nossa Senhora da Glória, Monte Alegre de Sergipe, Porto da Folha, Poço Redondo e Canindé de São Francisco). Para cada cidade, as pesquisas foram realizadas em 4 propriedades distintas. Após o aceite, foram realizadas análises microbiológicas para verificação da qualidade do ar e eficiência do processo de higienização em equipamentos e utensílios utilizados pelos ordenhadores.

Após a coleta das amostras, as mesmas foram armazenadas e transportadas em caixas isotérmicas previamente higienizadas contendo gelo reciclável e destinadas ao Laboratório Multidisciplinar da Universidade Federal de Sergipe, Campus Sertão, onde as análises microbiológicas foram realizadas.

### *Análise microbiológica do ar*

Para diagnosticar a qualidade microbiológica do ar dos ambientes de ordenha foi realizada a contagem de mesófilos aeróbios. Para a coleta das amostras no ambiente de ordenha foi utilizada a técnica de sedimentação simples, em que placas de *Petri* de 90 mm contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) (Acumedia, Brasil), sem a tampa foram deixadas próximo ao local de ordenha e tanque de refrigeração (Figura 1) durante o período de 15 min (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; CARELI *et al.*, 2003).



As placas foram incubadas a  $35 \pm 2$  °C por 24-48 h. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por cm<sup>2</sup> por semana (UFC/cm<sup>2</sup>/semana) (SOARES, 2013a), utilizando a Equação 1. Esta análise foi realizada em duplicata com duas repetições em todas as 20 propriedades.

$$\text{UFC/cm}^2/\text{semana} = \frac{\text{UFC} \times 10080}{\pi \cdot r^2 \times t} \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que  $r$ , representa o raio da placa de *Petri*, em cm; 10080 é o número de minutos de uma semana;  $\pi$ : 3,1415 e  $t$ , o tempo de exposição da placa em minutos. Em seguida, os resultados foram convertidos para log UFC/cm<sup>2</sup>/semana.

Figura 1 - Coleta de amostra de ar próxima ao local de ordenha em propriedades do alto sertão Sergipano



Fonte: Dos autores, 2019.

### Análise microbiológica de equipamentos e utensílios

A amostragem da borracha da ordenhadeira foi realizada de acordo com Amaral *et al.* (2004), pela técnica de esfregaço, cujo *swab*, previamente umedecido, é passado em toda área da borracha da ordenhadeira por meio de movimentos de ida e volta, totalizando quatro repetições (Figura 2). Esse processo foi realizado em duplicata com duas repetições em todas as 20 propriedades.

Para a coleta das amostras dos equipamentos e utensílios, foi utilizado a técnica do *swab* como descrito por Careli *et al.* (2003). O *swab* esterilizado foi umedecido em água peptonada 0,1% (Kasvi, Brasil) e o excesso removido. O *swab* foi esfregado na superfície dos equipamentos e utensílios, como a parte interna de tanques de refrigeração e de baldes de coleta de leite, utilizando-se um molde de 10 x 10 (100 cm<sup>2</sup>) fazendo movimentos de ida e volta totalizando em quatro ações.

Em seguida, após diluições adequadas, as amostras foram plaqueadas por *pour plate* em PCA (Acumedia, Brasil), e em meio seletivo *Ágar MacConkey* (Acumedia, Brasil), para a quantificação

de mesófilos aeróbios e enterobactérias, respectivamente, com posterior incubação a  $35 \pm 2$  °C por 24-48 h. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por  $\text{cm}^2$  (UFC/ $\text{cm}^2$ ) (SOARES *et al.*, 2013b).

Figura 2 – Amostragem da superfície de borracha da ordenhadeira



Fonte: Dos autores, 2019.

### *Análise estatística*

Os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva, explicitando-se as médias das contagens dos grupos microbianos. Cada análise foi realizada em duas repetições.

## **Resultados e Discussão**

### *Qualidade microbiológica do ar no ambiente de ordenha*

Os resultados para contagem de mesófilos aeróbios para as propriedades pesquisadas podem ser vistos na Tabela 1.

Não há na legislação vigente um padrão obrigatório, mas sim recomendação para a qualidade microbiológica do ar, como o recomendado pela *American Public Health Association* (APHA), que é de  $1,48 \text{ LOG} \cdot \text{cm}^2/\text{semana}$  ( $30 \text{ UFC} \cdot \text{cm}^2/\text{semana}$ ), com relação a mesófilos aeróbios (EVANCHO *et al.*, 2015). A contagem de mesófilos aeróbios no ambiente de ordenha apresentou resultados maiores que o recomendado em todas as propriedades avaliadas (Tabela 1).

A alta contagem de mesófilos aeróbios no ar do ambiente de ordenha encontrado na presente pesquisa pode estar relacionada, dentre outras razões, à forma como é realizada a higiene do local de

ordenha. Grande parte dos produtores só realizavam a raspagem das fezes ou em caso de piso de terra batida (Figura 3) retiravam apenas o excesso de esterco. Ademais, a presença de animais domésticos no ambiente de ordenha (Figura 3) também pode ser um fator que favoreceu a contaminação no ar deste ambiente.

Tabela 1 - Contagem de mesófilos aeróbios do ambiente de ordenha em diferentes propriedades rurais do Alto Sertão Sergipano

Produtor	Cidade (LOG/cm <sup>2</sup> /semana)				
	CSF	PR	PDF	MAS	NSG
1	4,34 ± 0,017	4,24 ± 0,076	4,24 ± 0,076	4,27 ± 0,09	4,30 ± 0,011
2	4,27 ± 0,025	4,28 ± 0,080	4,28 ± 0,079	4,31 ± 0,018	4,35 ± 0,016
3	4,31 ± 0,0018	4,27 ± 0,017	4,27 ± 0,017	4,31 ± 0,033	4,34 ± 0,014
4	4,21 ± 0,021	4,28 ± 0,002	4,28 ± 0,002	4,25 ± 0,025	4,28 ± 0,012

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: CSF: Canindé de São Francisco; PR: Poço Redondo; PDF: Porto da Folha; MAS: Monte Alegre de Sergipe; NSG: Nossa Senhora da Glória.

Figura 3 - Curral com piso de terra batida e presença de animais em uma das 20 propriedades visitadas no Alto Sertão Sergipano



Fonte: Dos autores, 2019.

Vale ressaltar que alguns fatores ambientais básicos são capazes de influenciar de forma negativa o equilíbrio do ambiente. Esses componentes podem ser de ordem física ou química, tais como solo, água, compostos químicos usados na higienização de tetos e de equipamentos. Além disso, os componentes socioeconômicos e culturais são capazes de alterar consideravelmente o ambiente em estudo como, por exemplo, hábitos sociais, condições tecnológicas e econômicas, estruturas sanitárias e natureza do trabalho, os quais afetam diretamente na taxa de multiplicação microbiana (BRANDIELLI *et al.*, 2017).

Na literatura, há uma escassez de estudos em ambientes abertos, como, por exemplo de ambiente de ordenha. Entretanto, pesquisas realizadas na indústria de alimentos, mesmo que em ambientes fechados, refletiram valores de mesófilos aeróbios acima do recomendado, como por exemplo, o estudo de Coelho *et al.* (2010) que avaliaram a contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais na cidade de Viçosa – MG e constataram que todas as amostras analisadas apresentaram contagens de mesófilos aeróbios superiores ao limite de 1,48 LOG·cm<sup>2</sup>/semana.

Para isso, a aplicação de Boas Práticas Agropecuárias surge como um viés para proporcionar uma melhoria das condições do leite brasileiro, sendo de responsabilidade do manipulador se atentar ao correto manejo da ordenha. Além disso, deve existir um cuidado com as condições físicas do local, pois este deve ser bem iluminado e ventilado, pisos limpos e com escoamento adequado (GUIMARÃES *et al.*, 2013; PETERS *et al.*, 2010). Dessa forma, o presente estudo enfatiza que o ambiente de ordenha também faz parte da cadeia produtiva, sendo essencial a frequente orientação técnica para os ordenadores.

#### *Quantificação de mesófilos aeróbios e enterobactérias em equipamentos e utensílios*

Os resultados para contagem de mesófilos em equipamentos e utensílios para as propriedades pesquisadas estão distribuídos na Tabela 2.

Os resultados foram interpretados seguindo o limite recomendado por Almeida *et al.* (2016) de 2,00 LOG/cm<sup>2</sup> (1,00 x10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup>) para contagem de mesófilos aeróbios em superfícies de equipamentos e/ou 2,00 LOG/utensílio (1,00 x10<sup>2</sup> UFC/utensílio) utensílios do ambiente de ordenha.

Para contagem de mesófilos aeróbios os resultados obtidos nas superfícies dos baldes utilizados para armazenamento de leite, mostraram-se insatisfatórios, visto que, a contagem de mesófilos aeróbios resultou em contagens fora do padrão recomendado para todos os produtores, independente da cidade.

Costa (2006) avaliou a interferência de práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares. Foram obtidos resultados semelhantes com o presente estudo, os quais todas as amostras apresentaram valores acima de 2 LOG/cm<sup>2</sup> antes e depois da adoção do protocolo de higienização de ordenha. Um fator que pode ter favorecido esta alta contagem de mesófilos aeróbios nesta pesquisa, é a forma e a frequência de higienização realizada além do local onde os baldes ficavam armazenados (Figura 4).

Tabela 2 - Contagem de mesófilos aeróbios em equipamentos e utensílios em diferentes cidades do Alto Sertão Sergipano

Produtor	Equipamento/ Utensílio	Cidade				
		CSF	PR	PDF	MAS	NSG
1		>2,39 *	3,23	>2,39 *	>2,39 *	3,22
2	Balde	>2,39*	>2,39*	>2,39 **	3,29	>2,39 *
3	(LOG/cm <sup>2</sup> )	>2,39*	3,29	>2,39 *	2,89	2,10
4		3,25	3,26	>2,39 *	2,71	>2,39 *
1		2,74	3,18	>2,39 *	NS	2,85
2	Tanque	2,74	N.S	>2,39 *	2,77	NS
3	(LOG/cm <sup>2</sup> )	N.S	N.S	>2,39 *	>2,39 *	1,82
4		N.S	3,04	>2,39 *	>2,39 *	>2,39 *
1		2,76	2,39 *	NS	NS	<1,00*
2	Teteira	N.S	N.S	NS	NS	<1,00 *
3	(LOG/teteira)	N.S	N.S	NS	NS	<1,00*
4		N.S	3.32	NS	NS	>2,39 *

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: CSF: Canindé de São Francisco; PR: Poço Redondo; PDF: Porto da Folha; MAS: Monte Alegre de Sergipe; NSG: Nossa Senhora da Glória; N.S: Não se aplica (ausência de tanque de refrigeração e/ou ordenha manual); \*: estimado (> 2,39 refere-se as contagens superiores a 250 UFC para todas as diluições estudadas).

Figura 4 - Local de armazenamento de baldes de coletas de leite em uma propriedade da cidade de Nossa Senhora da Glória/SE



Fonte: Dos autores, 2019.

Os resultados de mesófilos aeróbios para as superfícies de tanques de refrigeração para todos os produtores das cidades que faziam uso do mesmo apresentaram-se fora do padrão citado anteriormente (Tabela 2). A alta contagem de mesófilos aeróbios nos tanques de refrigeração pode ter sido influenciada pela falta e/ou inadequada higienização antes e depois do armazenamento do leite, o que favorece a multiplicação de microrganismos, uma vez que o leite é um ótimo substrato para o desenvolvimento dos mesmos, contribuindo para o processo de adesão microbiana e a formação de biofilmes indesejáveis (SOUSA *et al.*, 2009).

O estudo de Reche *et al.* (2015) analisou a contaminação microbiológica em superfícies de tanques de refrigeração de leite, ao qual a taxa de ocupação dos tanques não foi afetada pelos microrganismos, entretanto, a contaminação do leite nas primeiras horas pode influenciar na proliferação de alguns microrganismos, principalmente os psicrotróficos. Já no trabalho de Nogueira (2016) sobre a análise microbiológica de superfícies de manipulação de alimentos em cantinas de uma universidade, observou que 27% das amostras apresentaram resultados dentro do limite recomendado para mesófilos, enquanto 73% apresentaram maior nível de contaminação para contagem destes microrganismos.

Já os resultados encontrados na pesquisa realizada por Pinheiro, Wada e Pereira (2010) para contagem de mesófilos aeróbios em superfícies de tábuas de manipulação de alimentos, evidenciou que 70% obtiveram resultados insatisfatórios e somente 30% resultaram em contagens dentro do recomendado. Essa alta contagem pode ser explicada devido à adoção de práticas de higiene inadequadas e pela falta de capacitação apropriada e assertiva por parte dos responsáveis pela higienização, sendo o último constatado na presente pesquisa.

No que tange os resultados obtidos para a teteira (Tabela 2), possivelmente o processo de limpeza e sanitização desse equipamento é realizada de forma correta, uma vez que 42,86% dos produtores apresentaram média de mesófilos aeróbios dentro do limite recomendado de 2 LOG por utensílio.

No trabalho de Cavalcanti *et al.* (2010), no qual foi realizada a avaliação microbiológica em ordenhadeira mecânica antes e após a adoção de procedimento orientado de higienização, também apresentou resultados abaixo do limite recomendado antes e depois da orientação. Vale ressaltar que o nível tecnológico utilizado na ordenha não garante um leite com melhor qualidade microbiológica, devendo o manipulador se atentar para a realização da higienização adequada dos equipamentos de ordenha (GARCIA; RIBEIRO; ORSINE, 2014).

De maneira geral, no que tange a qualidade do leite cru produzido no Brasil, De Castro *et al.* (2014) cita que, apesar de existirem esforços por parte de órgãos regulamentadores para que haja

correto manuseio e higienização de utensílios e equipamentos durante a ordenha, é necessário uma conscientização coletiva e trabalho de campo para uma efetiva melhoria da qualidade.

Na Tabela 3 estão distribuídos os resultados para contagem de enterobactérias em equipamentos e utensílios para os 20 produtores em diferentes cidades do Alto Sertão Sergipano.

Vale ressaltar que não existem padrões legislatórios com relação à quantificação de enterobactérias em equipamentos e utensílios que entram em contato com os alimentos. Porém, encontram-se recomendações para mesófilos aeróbios e, para facilitar a interpretação de dados, neste estudo foi utilizado o mesmo parâmetro para enterobactérias.

Tabela 3 - Contagem de enterobactérias em equipamentos e utensílios em diferentes cidades do Alto Sertão Sergipano

Produtor	Equipamento	Cidade				
		CSF	PR	PDF	MAS	NSG
1		>2,39 *	3,08	>2,39 *	>2,39 *	>2,39 *
2	Balde	<1,00 *	3,06	3,43	>2,39 *	<1,00
3	(LOG/cm <sup>2</sup> )	<1,00 *	3,11	3,04	3,04	<1,00*
4		<1,00 *	2,94	>2,39 *	>2,39 *	2,85
1		>2,39 *	2,57	2,86	N.S	<1,00*
2	Tanque	>2,39 *	N.S	>2,39 *	>2,39 *	N. S
3	(LOG/cm <sup>2</sup> )	N.S	N.S	3,10	>2,39 *	<1,00*
4		N.S	>2,39 *	2,80	3,19	2,54
1		2,64	2,85	N.S	N.S	<1,00*
2	Teteira	N.S	N.S	N.S	N.S	<1,00*
3	(LOG/teteira)	N.S	N.S	N.S	N.S	<1,00*
4		N.S	2,67	N.S	N.S	>2,39 *

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: CSF: Canindé de São Francisco; PR: Poço Redondo; PDF: Porto da Folha; MAS: Monte Alegre de Sergipe; NSG: Nossa Senhora da Glória; N.S: Não se aplica (ausência de tanque de refrigeração e/ou ordenha manual); \*: estimado (> 2,39 refere-se as contagens superiores a 250 UFC para todas as diluições estudadas).

Com base nos resultados obtidos para a quantificação de enterobactérias (Tabela 3) na superfície dos baldes de coleta foi possível constatar que 75% dos produtores estavam acima do limite sugerido. Quanto aos resultados para a superfície dos tanques de refrigeração, a contagem para este grupo microbiano foi alta para 85,71% dos 14 produtores que faziam uso do mesmo, tendo predominância nas cidades de Canindé de São Francisco e Monte Alegre de Sergipe.

Na quantificação de enterobactérias para borracha da teteira apenas os produtores 1, 2 e 3 de Nossa Senhora da Glória, obteve média dentro do padrão sugerido de 2 LOG/cm<sup>2</sup>. Dessa forma, é possível pressupor que o processo de higienização das teteiras era realizado de forma ineficiente para todos os demais produtores (57,14%) que utilizavam ordenhadeira mecânica. Os microrganismos pertencentes à família das enterobactérias estão presentes no trato intestinal de animais de sangue quente e seres humanos (SERAFIM *et al.*, 2016), logo, a alta contagem deste grupo microbiano reportado na presente pesquisa, com destaque para a superfície de baldes de coleta e tanques de refrigeração, pode estar relacionado a má higiene das mãos dos ordenhadores.

Importante ressaltar que, de acordo com os critérios observados no presente estudo, foi possível constatar que grande parte dos produtores não realizavam a diluição correta dos agentes de limpeza e sanitização dos equipamentos, fator este que também pode ter favorecido a alta contagem de mesófilos aeróbios e enterobactérias aderidas nas superfícies avaliadas. Outro fator que pode ter interferido nos resultados encontrados é a possível presença de resquícios de leite do dia anterior no tanque de resfriamento, podendo justificar a elevada contagem tanto de mesófilos aeróbios quanto de enterobactérias na superfície do tanque (Tabela 2 e 3).

Além da utilização de detergentes específicos para equipamentos e utensílios, é recomendado o acompanhamento de procedimentos de higienização, os quais atendam a concentração ideal do detergente e sanitizante, bem como o tempo de contato da solução detergente com o equipamento e/ou utensílios para que o processo de higienização destes possa ser realizado de maneira eficiente (CAVALCANTI *et al.*, 2010).

## Conclusão

A partir da quantificação de mesófilos aeróbios, foi possível observar que todos os produtores obtiveram médias acima do limite sugerido de 1,48 LOG·cm<sup>2</sup>/semana para a quantificação de mesófilos aeróbios no ar. Quanto aos resultados para mesófilos aeróbios e enterobactérias em superfícies de baldes de coleta e tanques de refrigeração, a maior parte estava fora do padrão sugerido de 2 LOG/cm<sup>2</sup>, ao passo que, para a borracha da ordenhadeira, a maioria apresentou resultados dentro do limite sugerido.

Os elevados resultados microbiológicos encontrados neste estudo, são derivados da falta de cuidados higiênicos durante as etapas de obtenção e armazenamento do leite cru, o que pode prejudicar a qualidade do leite advindo das propriedades pesquisadas do Alto Sertão Sergipano. As inadequações do ambiente de ordenha observadas nesta pesquisa podem ser minimizadas através de capacitações dos ordenhadores em relação a hábitos de saúde e higiene pessoal, bem como



ênfatizando a importância da utilização correta de sanitizantes e limpeza adequada de utensílios e equipamentos. Além disso, ajustes estruturais podem ser realizados e a modernização da linha de ordenha pode ser aplicada.

## Referências

ALMEIDA, A. C. *et al.* Perfil sanitário de unidades agrícolas familiares produtoras de leite cru e adequação à legislação vigente. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 303-315, 2016.

AMARAL, L. A. *et al.* Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 173-177, 2004.

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 3, p. 590-596, 2003.

BRANDIELLI, M. C. *et al.* Quantificação de bactérias ácido-láticas durante a maturação de queijo regional produzido com cultura autóctone no sudoeste do Paraná. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 7., 2017, Curitiba. **Anais [...]**, Curitiba: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite, 2017. p. 54-55.

CALLEFE, J. L. R.; LANGONI, H. Qualidade do leite: uma meta a ser atingida. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 151-161, 2015.

CARELI, R. T. *et al.* Qualidade de água e condições higiênicas de manipuladores, equipamentos e utensílios em microindústrias de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 58, n. 333, p. 85-88, 2003.

CAVALCANTI, C. R. E. *et al.* Avaliação microbiológica em ordenha mecânica antes e após adoção de procedimento orientado de higienização. **Revista Brasileira de Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 3-6, 2010.

COELHO, A. I. M. *et al.* Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1597-1606, 2010.

COSTA, F. F. **Interferência de práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

COUTINHO, L. C. A. *et al.* Eficácia in vitro de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 61-65. 2012.

DE CASTRO, K. A. *et al.* Efeito da contagem de células somáticas sobre a qualidade dos queijos prato e mussarela. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1237-1250, 2014.



EVANCHO, G. M. *et al.* Microbiological monitoring of the food processing environment. *In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. (org.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* Washington: Apha Press, 2015. p. 27-44.

GARCIA, L. G. C.; RIBEIRO, J. G.; ORSINE, J. V. C. Condições higiênic-sanitárias da rotina de ordenha de leite bovino. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 2, p. 163-172, 2014.

GUERREIRO, P. K. *et al.* Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.

GUIMARÃES, F. F. *et al.* Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 5, p. 2866-2872, 2013.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2019.** Rio de Janeiro. 2019. (Produção da Pecuária Municipal, v. 47, p. 1-8). Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2019\\_v47\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2019_v47_br_informativo.pdf). Acesso em 21 jun. 2021.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite - 1º trimestre de 2021.** 2021. SIDRA – Banco de Tabelas Estatísticas. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/leite/brasil>. Acesso em 21 jun. 2021.

MARTINS, M. C.; BEDUSCHI, G.; MOSQUIM, M. C. A. A contribuição da indústria de laticínios no desenvolvimento da pecuária de leite. *In: VILELA, D. et al. (org.). Pecuária de leite no Brasil: Cenários e avanços tecnológicos.* Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2016. p. 47-51. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuaria-de-leite-no-Brasil.pdf>.

NETO, O. V. *et al.* Análise do conforto térmico e sua influência na produção e qualidade do leite em ambiente de domínio de cerrado. **Publicações Veterinárias e Zootecnia**, v. 12, n. 4, p. 1-6, 2018.

NOGUEIRA, J. P. **Análise microbiológica de superfícies de manipulação de alimentos em cantinas de uma universidade pública.** 2016. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

PETERS, M. D. P. *et al.* Manejo aversivo em bovinos leiteiros e efeitos no bem estar, comportamento e aspectos produtivos. **Arquivos de Zootecnia**, v. 59, n. 227, p. 435-442, 2010.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos. **Revista Simbiologia**, v. 3, n. 5, p. 115-124, 2010.

RECHE, N. L. M. *et al.* Multiplicação microbiana no leite cru armazenado em tanques de expansão direta. **Ciência Rural**, v. 45, n.5, p. 828-834, 2015.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importância e efeito de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

SANTOS, R. S. **Análise integrada da paisagem do geocomplexo alto sertão sergipano**. 2018. 127f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2018.

SERAFIM, C. R. L. M. **Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas de diferentes amostras provenientes do aterro controlado da cidade de Campos dos Goytacazes - RJ**. 2016. 154f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal na área de Doenças Infectocontagiosas e Parasitárias dos animais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2016.

SOARES, F. A. C. Composição do leite: Fatores que alteram a qualidade química. *In*: SEMINÁRIO A DISCIPLINA BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, 2013, Porto Alegre. **Anais [...]**, Porto Alegre: UFRGS, 2013a. p. 1-7.

SOARES, M. P. M. **Avaliação da eficiência de sabonetes com triclosan sobre suspensões bacterianas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* aplicadas sobre as superfícies das mãos de voluntários**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013b.

SOUSA, P. C. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista Atenção Primária a Saúde**, v. 9, n. 1, p. 83-88, 2009.



# 06 Capítulo

Provas bioquímicas  
para identificação de  
*Staphylococcus aureus*,  
*Salmonella spp.* e *Listeria  
monocytogenes* em  
leites CMT positivo



## Capítulo 6

### Provas bioquímicas para identificação de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em leites CMT positivo

Fernanda Pereira\*<sup>1</sup>; Anderson Henrique Venâncio<sup>2</sup>; Bruna Azevedo Balduino<sup>3</sup>; Danilo José Machado de Abreu<sup>4</sup>; Roberta Hilsdorf Piccoli<sup>5</sup>

#### Resumo

Os microrganismos desempenham importantes funções nos alimentos, que vão desde funções benéficas, até a ocorrência de doenças causadas por estes microrganismos. Microrganismos patogênicos quando presentes nos alimentos oferecem riscos à saúde, podendo afetar tanto o homem quanto os animais. A mastite bovina é um dos principais problemas de ordem infecciosa de bovinos leiteiros, acometendo diretamente a qualidade e segurança do leite, sendo que as causadas por *Staphylococcus aureus* são as que mais prevalecem mundialmente. Bactérias do gênero *Salmonella* spp. são responsáveis por diversos surtos alimentares no Brasil, sendo transmitida através dos alimentos como, ovo cru, leites não pasteurizados e carne malpassada. Já a bactéria *Listeria monocytogenes* possui conjunto de características próprias de desenvolvimento que faz com que seja um patógeno emergente de grande interesse na área de alimentos. Os testes bioquímicos são uma ferramenta amplamente utilizada na microbiologia para auxiliar na identificação de bactérias, pelas diferentes vias metabólicas de obtenção de energia e enzimas específicas utilizadas pelos microrganismos. O presente estudo objetivou avaliar a presença de *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em leite *in natura* com resultados positivos no teste de CMT (*Card Mastitis Test*). A identificação das cepas isoladas foi realizada por meio de testes morfológicos e bioquímicos, como: testes de catalase, oxidase, coagulase, motilidade e metabolismo de carboidratos (manitol). Das 20 amostras analisadas, todas apresentaram resultados favoráveis a presença dos microrganismos patogênicos analisados. Os resultados obtidos evidenciaram péssimas condições de higiene e qualidade dos rebanhos leiteiros estudados, já que amostras de leite apresentaram contaminação por *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*, o que pode representar riscos à saúde pública.

**Palavras-chave:** Mastite. Qualidade microbiológica. Testes bioquímicos.

<sup>1</sup>Mestranda em Microbiologia Agrícola, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras.

<sup>2</sup>Mestrando em Ciência dos Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

<sup>3</sup>Mestranda em Ciência dos Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

<sup>4</sup>Doutorando em Microbiologia Agrícola, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras.

<sup>5</sup>Professora Doutora, Departamento de Ciência dos Alimentos/Universidade Federal de Lavras.

\* E-mail para correspondência: fernanda.pereira8@estudante.ufla.br

## Introdução

Microrganismos patogênicos quando presentes nos alimentos oferecem riscos à saúde, podendo afetar tanto o homem quanto os animais. O *Staphylococcus aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. As intoxicações causadas por *S. aureus* apresentam sintomas como náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça e prostração (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). As peculiaridades do seu habitat tornam sua presença largamente distribuída na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite (BALABAN; RASOOLY, 2000).

A mastite bovina é um dos principais problemas de ordem infecciosa de bovinos leiteiros, acometendo diretamente a qualidade e segurança do leite, sendo que as causadas por *Staphylococcus aureus* são as que mais prevalecem mundialmente. A mastite é caracterizada por um processo inflamatório da glândula mamária relacionado a agressões físicas, químicas, térmicas ou microbianas, sendo que 90% das mastites são causadas por bactérias (RAMALHO *et al.*, 2012). Devido ao risco de transmissão dos microrganismos patogênicos ao consumidor, seja pelo leite ou derivados, a mastite merece importância no meio científico. A mastite, seja ela clínica ou subclínica, traz prejuízos econômicos e à saúde pública, tornando a doença, uma das maiores preocupações dos profissionais de diversas áreas da saúde humana e animal (BALABAN; RASOOLY, 2000).

A bactéria *Salmonella* spp. é um gênero bacteriano pertencente à família *Enterobacteriaceae*, onde a maioria das bactérias reside no trato intestinal de seres humanos e animais, fazendo parte da microbiota natural, entretanto, podem causar infecções. A *Salmonella* spp. já foi responsável por diversos surtos alimentares no Brasil, sendo transmitida através dos alimentos como, ovo cru, leites não pasteurizados e carne malpassada. Em geral, esse gênero infecta apenas o trato gastrointestinal do hospedeiro, podendo causar dor abdominal, vômitos, fadiga e diarreia durando um período de quatro a sete dias. Em casos mais graves, a infecção pode entrar na corrente sanguínea contaminando outros órgãos, como o fígado, causando a febre tifoide (BRASIL, 2011).

O patógeno *Listeria monocytogenes* é um coco bacilo Gram-positivo, não-esporulado, não produtor de ácidos, aeróbio e anaeróbio facultativo, de ampla distribuição. É patogênica para o homem e diversos animais, e sua ampla distribuição ambiental é favorecida pela sua capacidade de se desenvolver entre 0 °C e 44 °C e, embora sua faixa ótima seja entre 30 °C e 37 °C. Tolerância a pH extremos de 5 e 9, baixa atividade da água e concentrações de NaCl de 10%. Este conjunto de características faz com que a *L. monocytogenes* seja um patógeno emergente de grande interesse na área de alimentos e explica o destaque que estes microrganismos vêm ocupando nos últimos anos no



controle de qualidade na indústria de alimentos, visto as dificuldades de sua eliminação, assim como, a possibilidade de causar uma doença grave no consumidor, a listeriose (NOJIMOTO *et al.*, 1994; LANDGRAF, 1997; CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018).

Em tipos raros de listeriose, vias de infecção exógenas são proeminentes, incluindo infecção ascendente do úbere na mastite (STARIČ *et al.*, 2008; HOF, 2017). A listeriose geralmente ocorre esporadicamente, mas casos de surtos em animais foram relatados (WIEDMANN *et al.*, 1999; WAGNER *et al.*, 2005; BUNDRANT *et al.*, 2011; DREYER *et al.*, 2015). Qualidade e armazenamento da ração, saúde animal, prática de higiene e prática de manejo agrícola estão associados à ocorrência de *L. monocytogenes* no ambiente da fazenda e à incidência de listeriose animal (SANAA *et al.*, 1993; NIGHTINGALE *et al.*, 2005; CASTRO *et al.*, 2017).

O presente estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Listeria* spp. e *Salmonella* spp. em leite in natura com resultados positivos no teste de CMT (*Card Mastitis Test*). Mediante o exposto torna-se importante avaliar a presença destes patógenos em alimentos, gerando informações que auxiliem no controle dos microrganismos e assegurem a comercialização de alimentos com qualidade higienico-sanitaria.

## Material e Métodos

Amostras de leite com resultados positivos no teste de CMT foram coletadas em tubo de ensaio estéril e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Lavras para realização de análises microbiológicas. As coletas foram realizadas em diferentes propriedades leiteiras do município de Lavras – MG – Brasil, totalizando 20 amostras de leite com resultado de CMT+++ em março de 2021.

No laboratório, as amostras já identificadas foram homogeneizadas e posteriormente adicionadas alíquotas de 1 mL e transferidas para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada estéril a 0,1% (p/v), e então realizadas as diluições seriadas. Após as diluições, foi realizado o plaqueamento das amostras em Ágar Tripton de Soja (TSA) e mantidas em estufa à temperatura de 36 °C em ambiente de aerobiose. As amostras que apresentaram desenvolvimento bacteriano foram submetidas aos testes de esfregaço corado por Gram e posteriormente aos testes bioquímicos apropriados. Todas as análises foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Silva *et al.* (2010).

Para a detecção de *S. aureus*, foram utilizadas alíquotas de 1 mL diluídas em água salina peptonada 0,1% até obtenção de soluções de diluição  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ . De cada uma das diluições transferiu-se 0,1 mL para placa contendo ágar Baird-Parker, as quais foram incubadas a 37 °C por 48 horas. Em

seguida, foi realizada a contagem presuntiva do número de colônias que apresentavam características típicas como: colônias circulares, pequenas (máximo 1,5 mm em diâmetro), lisas, convexas, com bordas perfeitas e massa de células esbranquiçada. O número da raiz quadrada do número de colônias típicas e atípicas formadas nas placas foi utilizado para a coleta de colônias que foram transferidas para caldo Brain Heart Infusion (BHI), e incubadas a 37 °C/24-48 horas. A cultura foi purificada empregando-se ágar TSA (37 °C/24-48 horas). Após esta etapa, os isolados foram mantidos em temperatura ambiente para posterior identificação por meio de coloração de Gram. Os cocos Gram-positivos foram submetidos às provas de catalase, coagulase em plasma de coelho-EDTA e manitol para confirmação.

Para a detecção de *Salmonella* spp., uma alíquota de 1 mL foi diluída em caldo lactosado e incubada a 35 °C por 18-20 horas (pré-enriquecimento). Posteriormente, alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo selenito cistina e caldo tetracionato e incubados a 35 °C (enriquecimento seletivo). Após 24 horas, foram realizados repiques em placas de ágar entérico de Hectoen (HE), ágar bismuto sulfito (BS) e ágar xilose lisina desoxicicolato (XLD), e incubação a 35 °C por 18-24 horas. Colônias típicas, re-isoladas em tubos inclinados de ágar lisina ferro (LIA) e ágar tríplice açúcar ferro (TSI), foram incubadas a 35 °C por 18-24 horas. Os microrganismos isolados foram submetidos à coloração Gram e posterior identificação bioquímica por testes de catalase, produção de H<sub>2</sub>S e de descarboxilação da lisina em caldo.

A técnica tradicional para detecção de *Listeria monocytogenes* em alimentos é baseada no método clássico de presença ou ausência, sendo realizadas as etapas de pré-enriquecimento seletivo, plaqueamento em meio seletivo e diferencial, seleção das colônias típicas para a confirmação por testes bioquímicos. O cultivo inicialmente foi colhido, alíquotas de 1 mL, semeado em caldo BHI enriquecido com extrato de levedura e incubados por 24 horas a 35 °C. Após esse período as culturas do caldo BHI enriquecido foram semeadas em ágar Palcam e ágar Oxford para posterior provas bioquímicas de catalase, oxidase e motilidade tipo guarda chuva. As colônias isoladas das placas de meios seletivos e diferenciais foram escolhidas para uso nos testes de identificação. Porções de tamanho semelhante foram inoculadas em cada tubo da série bioquímica proposta. Os tubos foram então incubados por 24 horas a 35 °C antes da leitura e interpretação dos resultados.

Para a confirmação dos resultados, foram utilizadas cepas padrão dos microrganismos em estudo como controle positivo, sendo elas: *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Staphylococcus aureus* ATCC 13565 e *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

## Resultados e Discussão

Os resultados das provas bioquímicas de identificação de *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* e *Salmonella* spp., estão descritos nas Tabela 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 1 - Resultados das provas bioquímicas utilizadas na identificação de *L. monocytogenes*

Amostras	Gram	Catalase	Oxidase	Motilidade
1	+	+	-	+
2	+	+	-	+
3	+	+	-	+
4	+	+	-	+
5	+	+	-	+
6	+	+	-	+
7	+	+	-	+
8	+	+	-	-
9	+	+	-	+
10	+	+	-	+
11	+	+	-	+
12	+	+	-	+
13	+	+	-	+
14	+	+	-	+
15	+	+	-	+
16	+	+	-	-
17	+	+	-	+
18	+	+	-	+
19	+	+	-	+
20	+	+	-	+
ATCC 19117	+	+	-	+

Fonte: Dos autores, 2021.

Tabela 2 - Resultados das provas bioquímicas utilizadas na identificação de *S. aureus*

Amostras	Gram	Catalase	Coagulase	Manitol
1	+	+	3+	+
2	+	+	3+	+
3	+	+	4+	+
4	+	+	4+	+
5	+	+	4+	+
6	+	+	3+	+
7	+	+	3+	+
8	+	+	3+	+
9	+	+	4+	+
10	+	+	4+	+

Continuação Tabela 2 - Resultados das provas bioquímicas utilizadas na identificação de *S. aureus*

Amostras	Gram	Catalase	Coagulase	Manitol
11	+	+	4+	+
12	+	+	3+	+
13	+	+	4+	+
14	+	+	3+	+
15	+	+	3+	+
16	+	+	3+	+
17	+	+	4+	+
18	+	+	4+	+
19	+	+	4+	+
20	+	+	3+	+
ATCC 19117	+	+	4+	+

Fonte: Dos autores, 2021.

Tabela 3 - Resultados das provas bioquímicas utilizadas na identificação de *Salmonella* spp.

Amostras	Gram	H <sub>2</sub> S	Catalase	Lisina
1	-	+	+	+
2	-	+	+	+
3	-	+	+	+
4	-	+	+	+
5	-	+	+	+
6	-	+	+	+
7	-	+	+	+
8	-	+	+	+
9	-	+	+	+
10	-	+	+	+
11	-	+	+	+
12	-	+	+	+
13	-	+	+	+
14	-	+	+	+
15	-	+	+	+
16	-	+	+	+
17	-	+	+	+
18	-	+	+	+
19	-	+	+	+
20	-	+	+	+
ATCC 13076	-	+	+	+

Fonte: Dos autores, 2021.

O processo de identificação dos microrganismos é efetuado através da determinação de um número mínimo de propriedades. Portanto, quanto menor o número de observações efetuadas, maior o risco de erros de identificação. Usualmente é necessário utilizar organismos como controles

positivos e negativos para a execução de cada teste, como cepas padrão ATCC. Na identificação preliminar de bactérias, devemos primeiramente fazer a coloração de Gram, para verificar a morfologia e cor das bactérias – gram positivas ou gram negativas. É uma coloração diferencial usada para demonstrar as propriedades tintoriais de todos os tipos de bactérias. Para os três patógenos em estudo, todas as amostras foram condizentes nos resultados de coloração Gram.

Das 20 amostras analisadas, todas apresentaram resultados favoráveis a presença dos microrganismos patogênicos analisados. Apenas duas amostras (8 e 16) resultaram negativo para o teste de motilidade tipo guarda-chuva para *L. monocytogenes*, entretanto para os demais testes bioquímicos o resultado foi positivo para o microrganismo.

As amostras de *Listeria monocytogenes* apresentaram-se como bastonetes Gram-positivo, móveis e com crescimento característico (formato de guarda-chuva) no meio de SIM, resultado positivo nos testes de produção de catalase e negativo para a produção de oxidase. O teste de motilidade teve como objetivo avaliar a motilidade do microrganismo, sendo realizado em meio SIM. O meio foi inoculado até dois terços com uma colônia isolada da bactéria (18 - 24 horas de incubação) e incubado a 25 °C, durante 7 dias. A motilidade é positiva quando o meio fica turvo e negativa quando o meio continua transparente e o crescimento bacteriano se restringe apenas ao longo da picada com formato de guarda-chuva característico (BARROW; FELTHAM, 1993).

O teste de oxidase objetiva verificar a presença da enzima citocromo C, uma das oxidases que participam do processo oxidativo de respiração celular. O princípio do teste consiste na detecção de indofenol (citocromo-oxidase). Tiras para reação de oxidase (Laborclin) foram utilizadas. Com o auxílio de um palito de madeira estéril, transferiu-se assepticamente uma ou duas colônias da amostra para a superfície da tira. A coloração violeta da tira caracteriza o teste de oxidase positivo (BARROW; FELTHAM, 1993). *L. monocytogenes* são produtoras de catalase e em placas TSA-YE suas colônias são opacas e incolores com as bordas definidas. A partir dos tubos de TSA-YE, transferiu-se uma alçada da cultura para uma lâmina de microscopia, adicionando uma gota de peróxido de hidrogênio 3% e observada a formação de borbulhamento ou efervescência devido à liberação do oxigênio, positivando a prova.

O habitat primário de *L. monocytogenes* é o solo e a água, entretanto pode ser encontrada nas fezes dos animais, no leite de vacas sadias ou com mastite. Acredita-se que a silagem de baixa qualidade fermentada inadequadamente seja a principal culpada pela listeriose animal. Os ruminantes domésticos atuam como importante reservatório desse grupo de bactérias, atuando como importante fonte de manutenção e disseminando o patógeno no ambiente (NIGHTINGALE *et al.*, 2004; GRAY, FREITAG; BOOR, 2006; MOHAMMED, 2009; WALLAND, 2015). Sendo a listeriose de ocorrência principalmente em indivíduos imunossuprimidos, idosos e gestantes, comumente se

comportando como doença muito severa, considerada uma das doenças bacterianas que mais causam mortes nos seres humanos (HOELZER *et al.*, 2012).

O bovino que apresenta mastite clínica ou subclínica, a população de *S. aureus* é predominante tendo em vista que o mesmo faz parte da flora normal do animal (BALABAN; RASOOLY, A., 2000). Os resultados encontrados neste trabalho sugerem elevada ocorrência de mastite subclínica por *Staphylococcus* coagulase positiva nas propriedades onde as amostras foram coletadas. Para confirmação da presença do *Staphylococcus aureus* é necessária a confirmação dos três testes bioquímicos (catalase, coagulase e Gram). Cepas de *S. aureus* coagulase positiva são capazes de produzir fator aglutinante que reage com o fator plasmático formando um complexo que atua no fibrogênio do plasma originando a fibrina. Das amostras analisadas, todas positivaram para o teste de coagulase.

A catalase é uma enzima que, na presença do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), destrói o mesmo, transformando-o em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. A liberação do oxigênio pode ser observada mediante a formação de bolhas (KONEMAN *et al.*, 1999). Na coloração Gram, identifica-se a bactéria pelo aspecto da colônia e observações feitas ao microscópio, por ser cocos Gram-positivo devem apresentar a coloração roxa ou azulada estando dispostos em grupos, com aspecto de “cachos de uva”. Em ambos os testes, todas as amostras obtiveram resultados positivos para *S. aureus*.

*S. aureus* utiliza o manitol anaerobicamente, sendo este um meio salino (7,5% de Cloreto de Sódio) com indicador de pH que provoca mudança da sua cor quando o manitol é fermentado e produzindo ácido, a única espécie capaz de realizar esta transformação da coloração do meio é *Staphylococcus aureus*. Sendo assim, a partir do tubo de TSA, o inóculo foi transferido para tubo de Caldo Púrpura Base com 0,5% de manitol, previamente desaerado e coberto com uma camada de 2,5 mm de óleo mineral estéril. Os tubos foram incubados por cinco dias a 37 °C. Foi observada a ocorrência de viragem ácida para amarelo (teste positivo) em todas as amostras.

O gênero *Staphylococcus* é o agente responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções no mundo. A contaminação com *Staphylococcus* spp., pode ocorrer durante os estágios de produção ou estocagem do alimento, por cepas de origem ambiental ou humana. Em condições favoráveis de temperatura, o microrganismo cresce, podendo produzir toxinas. O controle das enterotoxinoses é possível desde que se observem as boas práticas sanitárias de higiene nos estágios de obtenção, produção, estocagem e manuseio de alimentos (SHAHZAD, 2013).

*Salmonella* é o principal agente de doenças de origem alimentar em diversas partes do mundo e também no Brasil (BRASIL, 2011). Esse gênero pertence à família *Enterobacteriaceae*, sendo bacilos Gram-negativos e não esporulados. São anaeróbios facultativos, com produção de gás a partir de glicose e capazes de utilizar citrato como fonte exclusiva de carbono. A maioria é móvel por meio

de flagelos peritríquios. As cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* são o principal alvo das análises em alimentos e seu perfil bioquímico é o que, normalmente, se considera como típico nos ensaios de detecção sendo que 98% das cepas descarboxilam a lisina e 95% produzem H<sub>2</sub>S. Além disso, são catalase positiva (SILVA *et al.*, 2010).

Conforme resultados apresentados na Tabela 3, todas as amostras foram positivas para os testes bioquímicos realizados. Para o teste de lisina descarboxilase, as culturas foram inoculadas em um tubo de Caldo Descarboxilase 0,5% L-Lisina, logo abaixo da superfície do líquido e incubadas a 37 °C/24 horas. Foi observada a turvação com viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio para roxo azulado (teste positivo). A maioria das salmonelas são lisina-positivas, mas as cepas do sorotipo Paratyphi são negativas.

Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com achados anteriores. A ocorrência de mastite bovina causada por *L. monocytogenes* é pouco descrita na literatura. Em trabalho realizado por Gitter *et al.* (1980), *L. monocytogenes* sorotipo 4 foi isolada na amostra de leite colhida do quarto afetado. Porém, o exame histológico dos linfonodos e do tecido mamário não revelaram a presença da bactéria. A presença da *L. monocytogenes* no leite, segundo os autores, não significa que seja a causa da mastite. Foi realizado o rastreamento da fonte em uma fazenda de gado leiteiro na Eslovênia onde, revela uma alta ocorrência de mastite subclínica devido a complexos clonais hiper virulentos de *Listeria monocytogenes* (PAPIĆ *et al.*, 2019).

## Conclusão

No presente trabalho, os resultados obtidos permitiram inferir que *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. podem fazer parte da microbiota contaminante de leite positivo para mastite subclínica. O meio seletivo (Oxford e Palcam) possibilitou a identificação da *L. monocytogenes*, de forma que em 90% das amostras foi possível identificar bioquimicamente a presença desse microrganismo. Diferentemente da identificação da presença de *Salmonella* spp. e *S. aureus*, dos quais 100% das amostras foram identificadas a presença destes microrganismos. A *Salmonella* é uma bactéria muito comum no Brasil, responsável por patologias e os testes bioquímicos demonstraram ser uma ferramenta importante para identifica-las, assim como para *Staphylococcus aureus*. Os testes bioquímicos de identificação e confirmação demonstraram ser eficientes na identificação dos patógenos. Porém é apenas uma ferramenta preliminar, necessitando de testes confirmativos como o uso de técnicas moleculares, sendo inviável para produtores da cadeia produtiva do leite.

## Referências

- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins (review). **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p. 1-10, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11028954/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- BARROW, G. I.; FELTHAM, R. K. A. **Cowan and Steel's Manual for Identification of Medical Bacteria**. 3ª ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1993.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2011. p.16-39. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- BUNDRANT, B. N. *et al.* Listeriosis outbreak in dairy cattle caused by an unusual *Listeria monocytogenes* serotype 4b strain. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, n. 23, p. 155–158, 2011. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/104063871102300130>. Acesso em: 16 mai. 2021.
- CASTRO, H. *et al.* Longitudinal study of the occurrence, persistence and contamination routes of *Listeria monocytogenes* genotypes on three Finnish dairy cattle farms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 4, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5795088/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Pathogens: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 15, n. 5, p. 863, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29701663/>. Acesso em: 17 mai. 2021.
- DREYER, M. *et al.* Outbreak investigation identifies a single *Listeria monocytogenes* strain in sheep with different clinical manifestations, soil and water. **Veterinary Microbiology**, v. 179, n. 1-2, p. 69–75, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25726302/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- GITTER, M. *et al.* *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. **Veterinary Record**, v. 107, n. 17, p. 390-3, 1980. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6779410/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- GRAY, M. J.; FREITAG, N. E.; BOOR, K. J. How the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* Mediates the Switch from Environmental Dr. Jekyll to Pathogenic Mr. Hyde. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 5, p.2505–2512, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1459693/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- HOELZER, K. *et al.* Estimation of *Listeria monocytogenes* transfer coefficients and efficacy of bacterial removal through cleaning and sanitation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 2, p. 267-77, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22704063/>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- HOF, H. *Listeria* infections of the eye. **European Journal of Ophthalmology**, v. 27, n. 2, p. 115–121, 2017. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/ejo.5000884>. Acesso em: 15 mai. 2021.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7ª ed. New York: Springer Science and Business Media, New York, USA, 2005. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9780387231808>. Acesso em: 15 mai. 2021.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico – Texto y Atlas Color**. 5.ed. Buenos Aires; Editorial Médica Panamericana, 1999.

LANDGRAF, M. Novos patógenos de interesse em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 5 – 7, 1997.

MOHAMMED, H. O. *et al.* Identification of potential on-farm sources of *Listeria monocytogenes* in herds of dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 3, p. 383–388, 2009. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/19254151>. Acesso em: 17 mai. 2021.

NIGHTINGALE, K. K. *et al.* Ecology and Transmission of *Listeria monocytogenes* Infecting Ruminants and in the Farm Environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 8, p. 4458–4467, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15294773/>. Acesso em: 15 mai. 2021.

NIGHTINGALE, K. K. *et al.* Evaluation of farm management practices as risk factors for clinical listeriosis and fecal shedding of *Listeria monocytogenes* in ruminants. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 11, p. 1808–1814, 2005. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2005.227.1808>. Acesso em: 15 mai. 2021.

NOJIMOTO, I. T. I. *et al.* Susceptibilidade aos antimicrobianos de *Listeria* spp. isoladas de pacientes com aborto repetitivo. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 26, n. 3, p. 71 – 74, 1994.

PAPÍĆ, B. *et al.* Source tracking on a dairy farm reveals a high occurrence of subclinical mastitis due to hypervirulent *Listeria monocytogenes* clonal complexes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 5, p. 1349-1361, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31432571/>. Acesso em: 16 mai. 2021.

RAMALHO, C. A. *et al.* Eficácia in vitro de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente a *Staphylococcus* spp. isolados em rebanhos leiteiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 12, p. 1285-1288, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/8LrMP45xnnYkqJn8c8wjvkK/?lang=pt>. Acesso em: 15 mai. 2021.

SANAA, M. *et al.* Risk Factors Associated with Contamination of Raw Milk by *Listeria monocytogenes* in Dairy Farms. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 1, p. 2891–2898, 1993.

SHAHZAD, W. *et al.* Prevalence and molecular diagnosis of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis in lactating Nili-Ravi buffaloes (*Bubalus bubalis*) at livestock Experiment Station, Bahadurnagar, Okara, Pakistan. **Buffalo Bulletin**, v. 32, n. 6, p. 1041–5, 2013. Disponível em: <https://www.lib.ku.ac.th/KU/2558/IBBUSI201302177.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2021.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Ed. ITAL - Instituto de Tecnologia De Alimentos, São Paulo, 2010.

STARÍČ, J. *et al.* *Listeria monocytogenes* keratoconjunctivitis and uveitis in dairy cattle. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 52, n. 3, p. 351-355, 2008. Disponível em: <http://www.piwet.pulawy.pl/bulletin/images/stories/pdf/20083/20083351356.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2021.

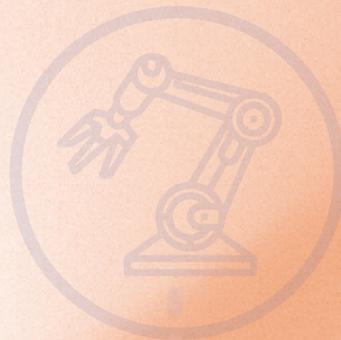
WAGNER, M. *et al.* Outbreak of clinical listeriosis in sheep: evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans. **Journal of veterinary medicine - Series B - Infectious diseases and veterinary public health**, v. 52, p. 278– 283, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16219091/>. Acesso em: 15 mai. 2021.

WALLAND, J. *et al.* *Listeria monocytogenes* infection in ruminants: Is there a link to the environment, food and human health? A review. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v. 157, p. 319–28, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26753347/>. Acesso em: 17 mai. 2021.

WIEDMANN, M. *et al.* Molecular investigation of a listeriosis outbreak in goats caused by an unusual strain of *Listeria monocytogenes*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, p. 369– 371, 1999.

# 07 Capítulo

Estudo da eficácia da  
radiação ultravioleta  
na pasteurização não  
térmica de leite



## Capítulo 7

### Estudo da eficácia da radiação ultravioleta na pasteurização não térmica de leite

Iuri Procópio Castro Brito<sup>1\*</sup>; Catrine Almeida<sup>1</sup>; Nicole Eduarda Rosa Oliveira<sup>1</sup>; Jean Pereira Coutinho<sup>2</sup>; Bruna Castro Porto<sup>2</sup>

#### Resumo

Ainda que haja uma tendência de mercado pelo consumo de alimentos frescos, o leite é um produto que não pode ser comercializado para o consumidor final na sua forma *in natura*, sob o risco de veicular alguma doença aos consumidores, sendo obrigatória sua submissão a um processo térmico de pasteurização ou esterilização em uma indústria alimentícia de beneficiamento. Todavia, os processos que têm o aquecimento como princípio de conservação, possuem a desvantagem de promoverem modificações nutricionais, físicas, químicas e sensoriais nos alimentos. Uma tecnologia que tem se apresentado como um método de pasteurização não térmico é a radiação ultravioleta (UV), a qual atua através da incidência de ondas eletromagnéticas sobre a superfície dos alimentos. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi investigar o uso da radiação UV como método de pasteurização não térmico do leite. Para isto, o leite foi submetido a radiação UV por 20 s, e 1, 5, 10, 15 e 20 min. e ao tratamento de pasteurização térmico convencional de 72 °C/20 s (controle). As amostras de leite submetidas aos diferentes processamentos e *in natura* foram investigadas quanto a contagem de enterobactérias, microrganismos-alvo do leite pasteurizado de acordo com a legislação brasileira vigente. As contagens médias de enterobactérias em log UFC/mL para o leite *in natura* e submetidos a radiação UV por 20 s, 1 min., 10 min., 15 min. e 20 min. foram de <1,00, 2,60<sup>a</sup>, 2,55<sup>a</sup>, 2,51<sup>a</sup>, 2,39<sup>a</sup>, 2,28<sup>ab</sup>, e 1,85<sup>b</sup>, respectivamente. A partir dos resultados, verificou-se que a radiação UV, no desenho de equipamento testado e nos tempos de processo utilizados, não pode ser caracterizada como método de pasteurização em leite. Contudo, o aumento no tempo de processo é capaz de reduzir significativamente a quantidade de enterobactérias em leite.

**Palavras-chave:** Gram negativas. Lácteos. Radiação não-ionizante.

---

<sup>1</sup> Discente do curso de graduação em Engenharia de Alimentos do IFNMG – *campus* Salinas.

<sup>2</sup> Docente do curso de graduação em Engenharia de Alimentos do IFNMG – *campus* Salinas.

\*E-mail para correspondência: iuripcb@gmail.com

## Introdução

O consumidor brasileiro está progressivamente assumindo uma posição de protagonista no mercado de lácteos. Antigamente, sua atuação era observada somente em relação ao seu comportamento de compra. Hoje em dia, eles ditam o que gostam e o que querem adquirir, enquanto as indústrias e as fazendas leiteiras estão atentas a essas demandas específicas e exigentes (EMBRAPA, 2019). Pesquisas demonstram que os consumidores de lácteos estão em busca de produtos seguros, menos processados, saudáveis, que promovam bem-estar e sejam sustentáveis (OLIVEIRA; ANJOS, 2012; EMBRAPA, 2019).

A média diária de produção de leite dos 100 maiores produtores brasileiros é de 19.238 L (EMBRAPA, 2019). Esse leite não é comercializado diretamente ao consumidor final, mas para as indústrias de beneficiamento. Um dos processos mais utilizados por essas indústrias é a pasteurização térmica, pois é uma etapa obrigatória na fabricação de diversos produtos lácteos, tais como: leite pasteurizado, manteiga, creme de leite pasteurizado, queijo fresco ou maturado por até 60 dias, leite em pó, iogurte, ricota e bebida láctea pasteurizada. Entretanto, por ser um processo baseado em altas temperaturas, promove modificações químicas e sensoriais no leite quando comparado ao alimento *in natura* (OLIVEIRA; ANJOS, 2012).

Define-se leite como um líquido esbranquiçado, opaco, homogêneo e de odor característico (BRASIL, 2018). Alimento de alto valor nutricional, o leite apresenta quantidades significativas de lactose, proteínas, lipídios, vitaminas, minerais e, sobretudo, água. As características nutricionais do leite, juntamente com a elevada umidade e o pH próximo a neutralidade, oferecem a esse produto condições favoráveis para o desenvolvimento microbiano (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; ARCURI *et al.*, 2006; FRAZIER; WESTHOFF, 1993; FRAZIER; TRONCO, 2010). No leite *in natura*, os microrganismos são provenientes da contaminação que ocorre durante e após a ordenha (ARCURI *et al.*, 2006).

Na microbiota do leite, é possível encontrar quatro grupos de bactérias: a) psicrófilas, aquelas que se desenvolvem em temperaturas inferiores a 7 °C; b) termodúricas, que resistem ao tratamento térmico; c) lácticas, aquelas que provocam acidificação do leite quando não refrigerado; e, d) patogênicas, que provocam doença, com destaque para as causadoras de mastite (ARCURI *et al.*, 2006). Os principais microrganismos patogênicos presentes em leite pertencem a família Enterobacteriaceae, a qual deve ser controlada para que esse alimento atinja o padrão de identidade e qualidade previsto na Instrução Normativa 76/2018 (IN 76/2018) (BRASIL, 2018). A comercialização de leite *in natura*, embora ainda seja observada, sobretudo em cidades menores, é uma prática proibida por lei federal. O consumo de leite *in natura* pode provocar diversos sintomas



e doenças causadas por microrganismos, tais como: diarreia, vômito, tuberculose, brucelose, toxoplasmose e listeriose (NERO *et al.*, 2003).

Dessa forma, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) não permite a venda de leite *in natura* ao consumidor final e sim às indústrias de beneficiamento sob serviço de supervisão oficial, em que a matéria-prima precisa estar em temperatura máxima de 7 °C no momento da recepção (até 9 °C em casos excepcionais), ser refrigerado na empresa a até 4 °C e ser submetido a um processo de conservação adequado (BRASIL, 2018), como pasteurização e esterilização. Essas medidas têm como finalidade garantir a qualidade e segurança do leite e seus derivados que serão adquiridos pelos consumidores (BERSOT *et al.*, 2010; ARCURI *et al.*, 2006). Sendo assim, um processo alternativo com potencial para substituir a pasteurização precisa ter efeito antimicrobiano contra enterobactérias e não utilizar aquecimento como forma de descontaminação a fim de gerar um produto com superior qualidade sensorial e nutricional.

Para que esse processo seja considerado adequado, cinco amostras de um mesmo lote de leite devem ser retiradas e apenas duas podem apresentar contagem de enterobactérias superior a <1 UFC/mL e inferior a 5 UFC/mL de leite (BRASIL, 2018). As enterobactérias são bactérias entéricas, ou seja, que “habitam o trato gastrointestinal do homem e de outros animais” (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). A família Enterobacteriaceae compreende 44 gêneros, dentre os mais importantes têm-se *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Pasteurellales*, *Pasteurella* e *Haemophilus* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Esses microrganismos são bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos, oxidase-negativos frequentemente envolvidos em casos de doenças gastrointestinais (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

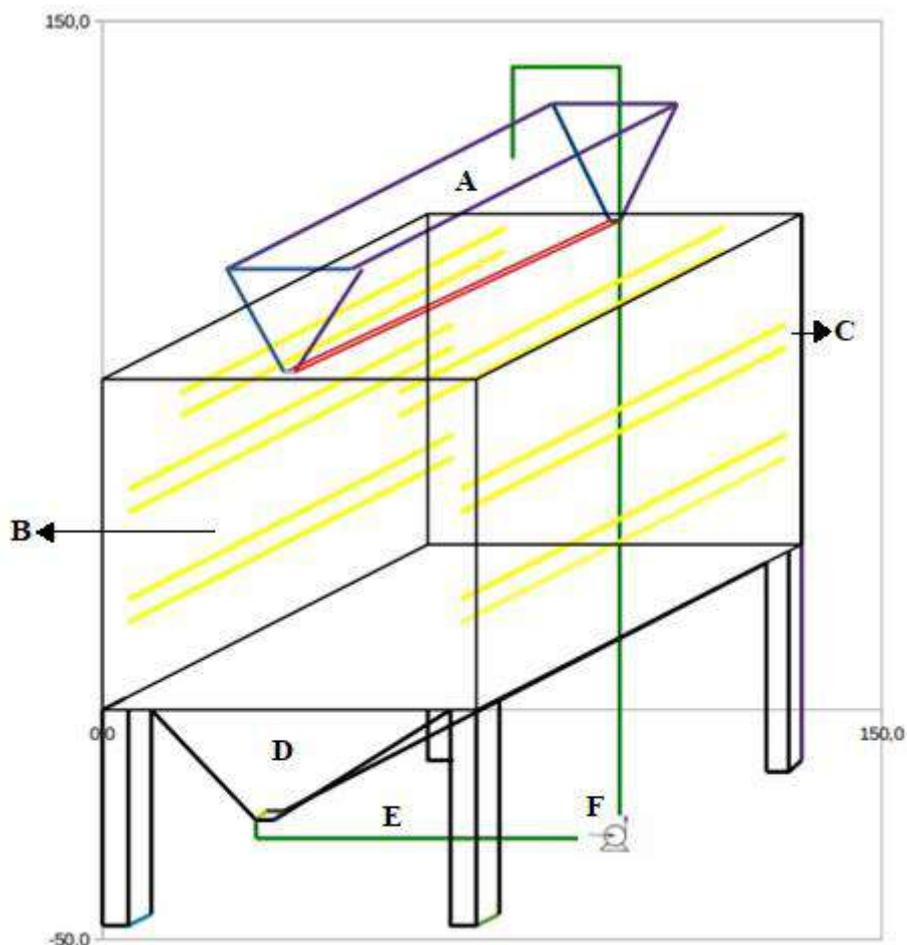
Uma tecnologia emergente que tem se apresentado com uma possível opção de pasteurização não térmica em leite e em diversos outros alimentos é a radiação UV. Vários estudos têm demonstrado a eficiência dessa tecnologia sobre microrganismos contaminantes presentes no leite, inclusive em espécies de bactérias que integram a família Enterobacteriaceae (ALTIC; ROWE; GRANT, 2007; PEREIRA *et al.*, 2014; OLIVEIRA; ANJOS, 2012; ENGIN; YUCEER, 2011; MATAK *et al.*, 2005). Entretanto, necessita-se de trabalhos no Brasil que investiguem o efeito antimicrobiano da radiação UV no grupo enterobactérias como um todo, característica imprescindível para classificar essa tecnologia como uma técnica de pasteurização não térmica.

Além do controle microbiano, o pasteurizador de leite fluido deve ser um processo contínuo, automático que possibilite o envase do leite em circuito fechado (BRASIL, 2018) e uma limitação da radiação UV é seu baixo poder de penetração. Sendo assim, docentes e acadêmicos do IFNMG – Campus Salinas desenvolveram uma câmara de radiação UV de fluxo contínuo em aço inoxidável



que possibilita o envase em circuito fechado em que o alimento passa por uma cortina de 2 cm de espessura conforme pode ser visualizado na Figura 1.

Figura 1 - Câmara de radiação UV de fluxo contínuo construída no IFNMG – *Campus* Salinas



Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: A - Estrutura em formato de prisma triangular onde a amostra é inserida na câmara como uma “cortina líquida”; B - Frente da câmara; C - Lâmpadas de radiação UV (cada duas linhas amarelas correspondem a uma lâmpada); D - Funil para saída da amostra para bombeamento ou acondicionamento; E - Mangueira para transporte da amostra; F - Bomba para o fluxo contínuo da amostra.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia da radiação ultravioleta na pasteurização não térmica de leite.

## Material e métodos

Todo o projeto foi desenvolvido no Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG) – *Campus* Salinas. A recepção e a pasteurização térmica do leite foram realizadas no Setor de

Laticínios. Enquanto a pasteurização por radiação UV e as análises microbiológicas foram executadas no Laboratório de Fenômenos de Transporte e no Laboratório de Microbiologia, respectivamente.

### *Material*

O leite integral *in natura* foi fornecido pela própria instituição. Os meios de cultura e reagentes utilizados foram de padrão analítico.

### *Métodos*

#### *Recepção do leite*

O leite ordenhado mecanicamente na propriedade rural do IFNMG – *Campus* Salinas foi transportado em latões plásticos isotérmicos até o Setor de Laticínios. Durante o recebimento, a temperatura do leite foi aferida para verificar sua adequação ao padrão estabelecido pela IN 76/2018 de 7 °C (excepcionalmente, 9 °C) (BRASIL, 2018). Além da temperatura, foi realizado o teste de estabilidade ao alizarol.

Para a determinação da estabilidade térmica das proteínas do leite, 2 mL da solução de alizarol e 2 mL de leite fluido foram adicionados em um copo descartável branco (50 mL). A mistura foi agitada e sua coloração e aspecto foram observados. O leite foi considerado adequado caso tenha apresentado coloração vermelho tijolo, sem grumos ou com ligeira precipitação; leite ácido, se apresentasse coloração marrom claro ou amarelada com coagulação; e, leite alcalino ou com mastite, se apresentasse coloração arroxeadada (BRASIL, 2006). O leite em conformidade com a legislação IN 76/2018 (BRASIL, 2018), foi armazenado a 4 °C até o momento do processamento por um período máximo de 48 h.

#### *Pasteurização térmica do leite*

Para o processamento de pasteurização térmica do leite (método convencional), inicialmente, o pasteurizador (trocador de calor a placas) foi sanitizado com circulação de água clorada (200 ppm de cloro ativo) a uma vazão de 100 L/h por 20 min. Em seguida, o equipamento foi enxaguado com água por 5 min. sob mesma vazão. Uma amostra de 50 L de leite *in natura* mantido sob refrigeração a 4 °C foi pasteurizado no trocador de calor a placas a 72 °C por 20 s. Após esse processo, o leite foi novamente resfriado a temperatura de 4 °C e mantido em latão plástico isotérmico (50 L) previamente



sanitizado com água clorada (200 ppm de cloro ativo) por um período máximo de 24 h até o momento da análise microbiológica.

#### *Processamento por radiação ultravioleta (UV)*

Para o processamento do leite por radiação UV, primeiramente, o equipamento foi sanitizado com circulação de água clorada (200 ppm de cloro ativo) a uma vazão de 21 L/min. por 20 min. e, em seguida, enxaguado com água por 5 min. a mesma vazão. Uma amostra de 5 L de leite *in natura* mantido sob refrigeração a 4 °C foi processado no equipamento de radiação UV contínua em fluxo intermitente, o qual possui seis lâmpadas UV de 15 watts cada e a amostra se apresenta na câmara como uma cortina de 2 cm de espessura de acordo com o demonstrado na Figura 1. Esse processo ocorreu nos tempos 20 s, e 1, 5, 10, 15 e 20 min. Por fim, as amostras foram armazenadas em embalagens de polietileno previamente higienizadas e armazenadas a 4 °C por um período máximo de 24 h até o momento da análise microbiológica.

#### *Análise microbiológica*

A contagem de enterobactérias foi realizada de acordo com o método de plaqueamento 21528-2 (ISO, 2004). Primeiramente, 25 mL do leite *in natura*, processado por pasteurização térmica (72 °C/20 s) e por radiação UV nos tempos 20 s, e 1, 5, 10, 15 e 20 min. foram inoculados em 225 mL de água peptonada tamponada (diluição  $10^{-1}$ ). Em seguida, 1 mL da diluição  $10^{-1}$  foi inoculado em 9 mL de água peptonada tamponada (diluição  $10^{-2}$ ), esse processo foi repetido até obtenção da diluição  $10^{-3}$ . Posteriormente, 1 mL das diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  foi transferido para cada duas placas de Petri previamente esterilizadas e 10 mL de ágar vermelho violeta bile com glicose (VRBG) foram vertidos sobre as placas. Após a completa solidificação do meio, mais 15 mL de ágar VRBG foram acrescentados às placas, que foram incubadas invertidas a 37 °C/24 h depois do restante do meio de cultura adicionado estar solidificado.

Para confirmação de colônias de enterobactérias, placas com até 150 colônias de cada amostra foram selecionadas. De cada placa, cinco colônias típicas (vermelho púrpura rodeados por halo avermelhado de precipitação de sais biliares ou esbranquiçadas) foram escolhidas. Cada colônia foi estriada em uma placa de ágar nutriente que foi incubada invertida a 37 °C/24 h. Em seguida, uma colônia isolada de cada placa seguiu para o teste de oxidase e teste de fermentação da glicose.

Para o teste de oxidase, colocou-se um disco de papel de filtro no interior de uma placa de Petri que foi embebido com o reagente de Kovacs. Parte de uma colônia em ágar nutriente foi retirada



com uma alça de platina e espalhada sobre o papel. Para o resultado positivo, observou-se o desenvolvimento de uma coloração azul intensa em aproximadamente 10 s. O teste negativo foi confirmativo para enterobactérias. No teste de fermentação da glicose, cada colônia foi inoculada com uma agulha de inoculação em um tubo contendo ágar glicose. Os tubos foram incubados a 37 °C/24 h com as tampas ligeiramente frouxas. Para o teste positivo, ocorreu a viragem da cor do meio de cultura para amarelo. As enterobactérias são fermentadoras de glicose. Todas as colônias oxidase negativas que fermentaram a glicose foram confirmadas para enterobactérias e a contagem foi determinada pelas Equações 1 e 2 (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2017).

$$a=b \frac{C}{A} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, C é o número total de colônias presentes em cada placa selecionada para contagem; A é o número de colônias submetidas à confirmação; e, b é o número de colônias confirmadas.

$$\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} = \sum \frac{a}{[v \cdot (n_1 + 0,1n_2) \cdot d]} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, v é o volume inoculado em cada placa; n<sub>1</sub> é o número de placas contadas da primeira diluição selecionada; n<sub>2</sub> é o número de placas da segunda diluição selecionada; e, d é a primeira diluição retida para contagem.

#### *Análise estatística*

O leite foi coletado em dois meses diferentes. No primeiro mês, foram obtidos: cinco amostras de 500 mL de leite *in natura* de um mesmo lote; cinco amostras de 500 mL de leite pasteurizado termicamente de um mesmo processo; e, cinco amostras de 500 mL de leite obtido por radiação UV no tempo 20 s e 1 min. No mês posterior, foram coletadas cinco amostras de 500 mL de leite *in natura* de um mesmo lote e cinco amostras de 500 mL de leite processado por radiação UV nos tempos 5, 10, 15 e 20 min. Todo esse processo ocorreu em três repetições. As médias das contagens de enterobactérias dos diferentes tratamentos juntamente com a média da amostra controle foram submetidas a Análise de Variância e Teste de Média de Tukey a um nível de 5% de significância através do software Statística<sup>®</sup> 12 (STATSOFT, 2014) a fim de comparar os processos e verificar sua adequação frente a IN 76/2018 (BRASIL, 2018).

## Resultados e discussão

### *Controle de recepção do leite*

Ao longo das etapas de recebimento do leite *in natura*, a temperatura se manteve adequada durante toda a realização do projeto, variando de 6 a 8 °C. Na Figura 2, é possível observar fotos do teste de estabilidade ao alizarol, os quais apresentaram a coloração vermelho tijolo sem grumos ou precipitação. Portanto, o leite estava apto para ser processado.

Figura 2 - Teste de estabilidade ao alizarol do leite *in natura*



Fonte: Dos autores, 2021.

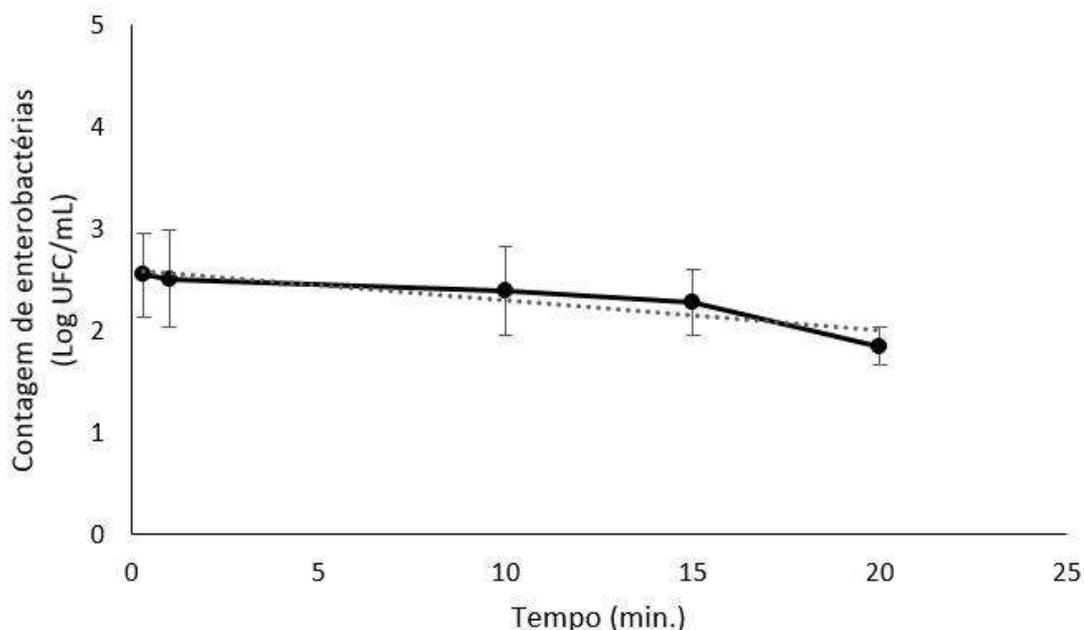
### *Contagem de enterobactérias*

A contagem de enterobactérias no leite *in natura* foi de  $2,60 \pm 0,38$  Log UFC/mL. Quando o leite foi submetido ao processo convencional de pasteurização térmica a 72 °C por 20 s, todas as cinco amostras, nas três repetições realizadas, não apresentaram crescimento de enterobactérias (<1 UFC/mL), demonstrando que o processo esteve de acordo com a IN 76/2018 (BRASIL, 2018). Em contrapartida, quando o leite foi submetido ao processo de radiação, foram observadas contagens microbianas em todos os tempos testados, conforme pode ser observado na Figura 3.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as contagens de enterobactérias do leite *in natura* e as contagens das amostras submetidas ao processo de radiação UV nos tempos 20 s, 1 min.,

5 min., 10 min. e 15 min. Somente no tempo de 20 min., observou-se uma redução média de 29% (0,8 Log UFC/mL) na contagem de enterobactérias quando comparada à amostra *in natura*.

Figura 3 - Contagem de enterobactérias (Log UFC/mL) em leite submetido a radiação UV



Fonte: Dos Autores, 2021.

Nota: Marcadores seguidos da mesma letra minúscula (comparação entre tempos) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). A linha pontilhada representa a regressão linear obtida a partir da contagem de enterobactérias.

O comportamento da radiação UV no número de enterobactérias determinadas em leite ao longo do tempo de 20 s a 20 min. sob as condições da câmara utilizada no presente estudo pode ser explicado através do modelo descrito pela Equação 3 ( $R^2 = 0,834$ ).

$$\text{Contagem de enterobactérias} \left( \text{Log} \frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right) = -0,0298 * \text{tempo} + 2,5922 \quad (\text{Eq. 3})$$

De acordo com a Equação 3, quanto maior o tempo de processo, menor será a contagem de enterobactérias. Se essa equação pudesse ser extrapolada para além do tempo utilizado nesse processo, sugerir-se-ia que o tempo de processo acima de 87 min. atingiria o valor estabelecido na IN 76/2018.

A radiação ultravioleta apresenta baixo poder de penetração em fluidos opacos, dessa forma, a baixa efetividade dessa tecnologia no leite pode estar relacionada a esse fenômeno (CHOUDHARY; BANDLA, 2012). Além disso, no caso de tratamentos mais prolongados com a luz ultravioleta, seria necessário realizar um estudo de viabilidade econômica para obtenção da relação de custo-benefício quando comparado a pasteurização térmica.

A maioria das investigações sobre a viabilidade da aplicação dessa tecnologia em leite aponta que ocorre a redução da carga microbiana em alguns ciclos logarítmicos (ALTIC; ROWE; GRANT, 2007; MATAK *et al.*, 2005; OLIVEIRA; ANJOS, 2012), entretanto, é pouco recorrente a eliminação completa desses microrganismos conforme observado na pasteurização térmica.

Uma das principais vantagens da radiação UV em alimentos em detrimento ao processo térmico é que as alterações sensoriais, na maioria dos alimentos, são minimizadas. Além disso, esse método atua na eliminação de microrganismos sem a utilização de substâncias indesejáveis (DOMÍNGUEZ; PARZANESE, 2011; GUEDES *et al.*, 2009), contribuindo para um processo sustentável. Em contrapartida, a utilização da radiação UV pode danificar a visão e provocar queimaduras nos manipuladores. Dessa forma, torna-se necessário um equipamento com design seguro e uma equipe treinada para manipulação dessa tecnologia.

## Conclusão

Diante do exposto, é possível concluir que a radiação UV apresentou uma redução de 0,8 log UFC/mL de enterobactérias em leite sob longo tempo de processo (20 min.). Contudo, quando se compara essa tecnologia no desenho de equipamento experimentado e nos tempos de processo operados, esta não apresentou a mesma eficácia que a pasteurização térmica em leite.

## Agradecimentos

Agradecimentos ao IFNMG – *Campus* Salinas pelo fornecimento do leite e disponibilização do uso dos Laboratórios de Microbiologia, Fenômenos de Transporte e Laticínios. Agradecimentos à instituição pelo financiamento de duas bolsas de iniciação científica a equipe executora do trabalho. Além de agradecimentos aos pesquisadores e acadêmicos no projeto de inovação “Desenvolvimento e aplicação de tecnologias de controle microbiológico na indústria de polpas de frutas naturais” da mesma instituição que desenvolveu o equipamento utilizado.

## Referências

ALTIC, L. C.; ROWE, M. T.; GRANT, I. R. UV light inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in milk as assessed by FASTPlaqueTB phage assay and culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 11, p. 3728-3733, 2007.

ARCURI, E. F. *et al.* Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.



BERSOT, L. S. *et al.* Quantificação de microrganismos indicadores de qualidade em leite cru e comportamento da microbiota ao longo do transporte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 373, p. 9-13, 2010.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. 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. 230 Ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076). Acesso em: 26 maio 2021.

CHOUDHARY, R.; BANDLA, S. Ultraviolet Pasteurization for Food Industry. **International Journal of Food Science and Nutrition Engineering**, v. 2, n. 1, p. 12-15, 2012.

DOMÍNGUEZ, L.; PARZANESE, M. Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. **Alimentos argentinos**, v. 52, n. 2, p. 70-76, 2011.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Anuário leite 2019: sua excelência, o consumidor**. Juiz de Fora – MG: Embrapa Gado de Leite, 2019. 53 p.

ENGIN, B.; YUCEER, Y. K. Effects of ultraviolet light and ultrasound on microbial quality and aroma-active components of milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 6, p. 1245-1252, 2011.

FRAZIER, W. C. D. C.; WESTHOFF, D. **Microbiología de los alimentos**. 4ª ed., Zaragoza: Editorial Acribia, 1993.

GUEDES, A. M. M. *et al.* Ultraviolet technology for food preservation [tecnologia de ultravioleta para preservação de alimentos]. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 59-70, 2009.

ISO, STN *et al.* Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. Part 2: colony-count method. **ISO Norm 21528-2: 2004**, 2004.

MATAK, K. *et al.* Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat's milk. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 10, p. 2212-2216, 2005.

NERO, L. A. *et al.* Hábitos alimentares do consumidor de leite cru de Campo Mourão – PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 21-26, 2003.

OLIVEIRA, P. H. B.; ANJOS, V. C. Efeitos do tratamento do leite por radiação ultravioleta (UV) em comparação à pasteurização. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 81-82, 2012.

ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnología de Alimentos: Alimentos de Origen Animal**. 2ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2005.

PEREIRA, R. V. *et al.* Evaluation of the effects of ultraviolet light on bacterial contaminants inoculated into whole milk and colostrum, and on colostrum immunoglobulin G. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 5, p. 2866-2875, 2014.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5ª ed., São Paulo: Blucher, 2017.

STATSOFT. **Statistica**. Versão 12.0. [Tulsa]: Statsoft, 2014.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.





# 08 Capítulo

Levantamento de perfil comportamental relacionado às medidas higiênico-sanitárias para conter a Covid-19 e adequação das Boas Práticas de Fabricação



## Capítulo 8

### Levantamento de perfil comportamental relacionado às medidas higiênico-sanitárias para conter a Covid-19 e adequação das Boas Práticas de Fabricação

Guilherme Nunes Luly\*<sup>1</sup>; Adriana Masson Parcianello<sup>2</sup>; Márcia Helena Scherer Kurz<sup>3</sup>; Itiara Gonçalves Veiga<sup>4</sup>; Meritaine da Rocha<sup>4</sup>; Fernanda Arnhold Pagnussatt<sup>4</sup>

#### Resumo

Diante da pandemia causada pelo Coronavírus (Covid-19) diversas medidas de controle foram recomendadas pelos órgãos competentes para garantir a segurança de trabalhadores e consumidores de alimentos e evitar a transmissão do Sars-CoV-2 na cadeia produtiva. Neste contexto, insere-se também a agricultura familiar que cultiva e produz alimentos para posterior comercialização, geralmente em feiras ou em cooperativas, sendo assim necessárias as adequações, tanto para a manutenção da qualidade do alimento, bem como para a segurança da comunidade em geral, diante da pandemia. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento sobre o perfil de comportamento dos agricultores familiares e clientes de uma feira agroecológica, a AgriSAP, realizada em Santo Antônio da Patrulha/RS, em relação às medidas de controle recomendadas pelos órgãos governamentais e que foram adotadas em função da pandemia, além do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação. O levantamento foi feito através da aplicação de dois questionários, o primeiro voltado para os clientes, e o segundo voltado para os trabalhadores da feira. Os resultados obtidos após a aplicação dos questionários evidenciaram que 96,4% da comunidade integrante da AgriSAP fizeram o uso de máscaras e 85,1% utilizaram agentes sanitizantes nas mãos; no entanto, apenas 46,4% realizava a limpeza correta das sacolas usadas para transporte e armazenamento dos alimentos adquiridos. Também foi realizada a aplicação de uma lista de verificação em uma das agroindústrias, que permitiu identificar que houve uma grande conscientização por parte dos integrantes da feira e que o perfil comportamental reflete a importância da divulgação das informações das medidas técnicas e dos cuidados necessários, possibilitando assim, que os ambientes usados para a produção e comercialização de produtos oriundos da agricultura

---

<sup>1</sup> Aluno, Engenharia Agroindustrial – Indústrias Alimentícias, FURG.

<sup>2</sup> Aluna, Engenharia Agroindustrial – Agroquímica, FURG.

<sup>3</sup> Técnica em Química, Dr<sup>a</sup>, FURG.

<sup>4</sup> Docente, Dr<sup>a</sup>, FURG.

\* E-mail para correspondência: guilhermeluly@hotmail.com

familiar estivessem dentro das normas estabelecidas pelos órgãos regulamentadores e os protocolos sanitários fossem cumpridos pela população, permitindo uma maior prevenção à Covid-19.

**Palavras-chave:** Agroindústria familiar. Alimento seguro. Notas técnicas da ANVISA. Coleta de dados. Doença infecciosa.

## Introdução

Diante da globalização e da crescente conscientização dos consumidores em procurar alimentos com qualidade, toda a cadeia produtiva deve estar preparada para o desafio de produzir alimentos seguros, com excelência em qualidade (SAMULAK *et al.*, 2011). Na indústria de alimentos, além do foco principal na satisfação que o produto proporciona aos seus clientes, a qualidade está diretamente relacionada à saúde e segurança alimentar. Além disso, uma eficiente gestão da qualidade impacta diretamente nos custos e, conseqüentemente, na rentabilidade das empresas (TELLES, 2014).

A produção de alimentos diferenciados, como os orgânicos, tem se apresentado de forma alternativa para que os pequenos produtores rurais tenham melhores condições de vida, contribuindo para o desenvolvimento local e regional (CARMO, 1999). Os agricultores familiares de Santo Antônio da Patrulha/RS que comercializam seus produtos na feira, conhecida como AgriSAP, em geral, têm buscado adequação à produção orgânica de alimentos, uso sustentável dos recursos naturais e técnicas apropriadas para o processamento das matérias-primas, com base na qualidade do produto final.

Desde o ano de 2010, estes agricultores vêm sendo amparados com auxílio técnico da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, que atua em parceria com a Emater, Prefeitura Municipal e Sindicato dos Trabalhadores Rurais no sentido de contribuir com o fortalecimento e a expansão do setor agroindustrial com a garantia de fornecer alimentos de qualidade e produzir com segurança.

Diante do contexto da pandemia, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Portaria nº 116, de 26 de março de 2020 definiu os setores essenciais para garantir o funcionamento das cadeias produtivas de alimentos e bebidas durante o estado de calamidade pública, decorrente da pandemia da Covid-19. O setor alimentício foi um dos 18 setores considerados como serviço essencial, sendo autorizado a funcionar mesmo com as restrições de isolamento impostas pela quarentena (BRASIL, 2020a).

Neste cenário pandêmico, causada pela Covid-19, é imprescindível que as indústrias de alimentos fortaleçam as medidas de higiene pessoal e forneçam treinamentos e atualizações sobre os princípios de higiene, eliminando ou reduzindo o risco da contaminação de superfícies alimentares e materiais de embalagem pelo vírus, que pode também estar presente nos trabalhadores do setor de alimentos. Desta forma, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) divulgou algumas Notas Técnicas com o objetivo de prestar esclarecimentos e orientações para o setor alimentício (PAHO, 2020a).

Assim, o auxílio técnico e científico prestado pela FURG em parceria com os demais órgãos da cidade de Santo Antônio da Patrulha permitiu a realização de um levantamento de informações, através da aplicação de questionários para avaliar o quanto as pessoas envolvidas na AgriSap estavam cientes da necessidade de adoção de medidas higiênico-sanitárias para conter o avanço da pandemia. Essa pesquisa foi elaborada na forma de questionários, como o intuito de atender as normas referentes às Notas Técnicas recomendadas pela ANVISA, como a NT 48/2020, que apresenta em detalhes as medidas que devem ser adotadas na fabricação e manipulação de alimentos durante a pandemia, abordando questões como a avaliação do estado de saúde dos colaboradores, aumento do espaçamento físico entre os colaboradores e maior divisão dos turnos de trabalho, higienização das mãos, ambientes, equipamentos e utensílios e higiene e conduta pessoal (BRASIL, 2020b). Já a NT 49/2020 traz recomendações para os serviços de alimentação voltados para o atendimento ao cliente, tratando do uso de luvas e máscaras em estabelecimentos no contexto do enfrentamento da Covid-19 (BRASIL, 2020c). Desta forma, considerou-se imprescindível a continuidade da execução fiel das Boas Práticas de Fabricação (BPF) pelas unidades produtoras e comercializadoras, mesmo já estando comprovado que os alimentos não são vetores dessa contaminação (BRASIL, 2020b).

O presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento sobre o perfil de comportamento dos agricultores familiares e clientes de uma feira agroecológica, a AgriSAP, realizada em Santo Antônio da Patrulha/RS, em relação às medidas de controle recomendadas pelos órgãos governamentais e que foram adotadas em função da pandemia, além da verificação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação.

## **Material e Métodos**

Para um melhor entendimento do comportamento dos clientes e dos comerciantes que circulam na feira agroecológica e também das condições atuais das agroindústrias familiares, foram criados dois diferentes questionários na plataforma Formulários Google e uma lista de verificação,



com questões pertinentes à pandemia. O estudo respeitou os princípios éticos de pesquisa envolvendo seres humanos e o trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-FURG) (nº CAAE: 39623220.5.0000.5324). O primeiro questionário (Quadro 1) foi destinado para os clientes que frequentam a feira, contendo 19 questões de múltipla escolha de cunho pessoal e relacionadas à Covid-19, o segundo, (Quadro 2) para os agricultores que comercializam seus alimentos na AgriSAP, com 23 questões relacionadas ao cumprimento dos protocolos e questões de higiene.

Quadro 1 - Questionário para levantamento do perfil dos clientes da AgriSap

Perguntas
1. Qual a sua idade?
2. Qual é o seu sexo?
3. Qual a sua cidade?
4. Você está ciente das causas da Covid-19?
5. Você está ciente dos sintomas da Covid
6. Você é do grupo de risco (gestante, lactantes, idade acima de 60 anos, diabético, asmático ou doente crônico)?
7. Você usa máscara sempre que necessita sair de casa?
8. Você faz a lavagem e/ou troca de máscara com frequência recomendada (a cada 2 horas)?
9. Você respeita o distanciamento entre as pessoas?
10. Você tem o hábito de usar álcool em gel ou álcool glicerinado sempre que necessita sair de casa?
11. Você tem conhecimento da existência e eficácia de álcool glicerinado?
12. Você leva sacolas de casa (ecobags ou similares) para evitar utilizar sacolas de plástico cedidas pelos feirantes?
13. Após o uso, você realiza a higienização de sacolas plásticas ou similares?
14. Você manipula os produtos da feira durante o processo de escolha?
15. Você prioriza realizar pagamentos por meio de aplicativos ou transferência bancária?
16. Você tem algum receio/medo de frequentar a feira?
17. Na sua família, a responsabilidade de fazer as compras é delegada a somente uma pessoa?
18. Você evita sair de casa durante a pandemia?
19. Você higieniza os itens comprados quando chega em casa?

Fonte: Dos autores, 2021.

Quadro 2 - Questionários de práticas higiênicas e cumprimento de protocolo pelos feirantes

Perguntas
1. Os funcionários estão utilizando máscaras que criam uma barreira contra os respingos respiratórios?
2. Os funcionários estão usando luvas e aventais descartáveis para todas as tarefas do processo de limpeza, incluindo o manuseio do lixo?
3. Os funcionários estão seguindo o protocolo de lavagem das mãos recomendado pela Anvisa?
4. Foram estabelecidas rotinas de medição de temperatura dos funcionários?
5. Há um espaçamento mínimo de pelo menos 1,5 metros entre os trabalhadores?
6. Há orientação e controle das rotinas de higiene dos ambientes comuns (refeitórios, vestiários, sanitários, entre outros), assim como dos equipamentos?
7. A área do piso está limpa?
8. Todas as janelas estão limpas?
9. Os banheiros e mictórios estão limpos e higienizados?
10. Todas as paredes estão limpas e higienizadas?
11. Todas as portas estão limpas e higienizadas?
12. Há equipamentos que promovam a ventilação do ambiente?
13. O estabelecimento oferta álcool em gel e/ou álcool glicerinado com no mínimo 70% de concentração aos trabalhadores?
14. Você tem conhecimento da existência e eficácia de álcool glicerinado?
15. Já houve algum caso confirmado de Covid-19 na agroindústria?
16. Caso a resposta anterior tenha sido positiva, o funcionário foi imediatamente isolado?
17. Os funcionários estão cientes dos sintomas da Covid-19?
18. Os funcionários considerados do grupo de risco foram afastados, respeitando cada situação?
19. Os trabalhadores doentes são encorajados a ficar em casa?
20. As situações de contato presencial foram substituídas por contato virtual?
21. Foi estabelecido dias de trabalho alternados ou novos turnos para reduzir o número de pessoas presentes em um mesmo local?
22. As viagens não essenciais foram reduzidas durante a pandemia?

Fonte: Dos autores, 2021.

Foram realizadas visitas à AgriSAP, para aplicar os questionários, acompanhar a rotina dos agricultores e também observar o comportamento dos clientes, respeitando todos os protocolos de segurança estabelecidos.

Os questionários foram aplicados nas terças-feiras de tarde e aos sábados pela manhã, nos dias da AgriSAP. Um grupo devidamente identificado de 2 alunos e 1 professor fez a abordagem para entrevista aos clientes da feira e todos os feirantes, tomando todos os cuidados em relação ao distanciamento social, usando máscara e higienizando as mãos com álcool.

As respostas geradas pelo Formulários Google após a aplicação dos questionários foram avaliadas e os principais resultados encontrados serviram de base para as sugestões de melhorias, que foram realizadas de forma conjunta com a observação da rotina da AgriSAP.

Outra etapa da pesquisa foi constituída da aplicação de uma lista de verificação. A RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002 apresenta essa lista de verificação de BPF, sendo o ato normativo complementar à Portaria nº 326, introduzindo o controle contínuo de BPF e os procedimentos operacionais padronizados durante a pandemia (TRÄSEL, 2014). Com base nessa legislação, a lista de verificação foi elaborada, sendo constituída de 21 questões, que tiveram como resposta, uma das três opções descritas: sim, não ou não se aplica.

Para aplicar a lista de verificação, foi solicitado aos agricultores que participam da AgriSAP que gravassem vídeos mostrando as instalações industriais e a rotina durante a produção, e encaminhassem via e-mail, para verificar o cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e implantação de medidas de contenção à Covid-19. No entanto, a adesão a essa etapa do trabalho foi baixa, e num total de 10 feirantes, apenas 1 enviou o vídeo. Essa lista também foi usada para promover um melhor entendimento da realidade específica em que a agroindústria se encontra, pois contém 21 itens que abrangem as medidas de contenção que devem ser tomadas pelas agroindústrias, de acordo com a Nota Técnica Nº 48/2020 da ANVISA.

## **Resultados e Discussão**

### *Perfil comportamental dos clientes e feirantes da AgriSAP*

Durante o segundo semestre de 2020, foram realizadas duas visitas semanais na AgriSAP pelos alunos, professores e técnicos da FURG, onde foi possível aplicar os questionários, para um total de 10 feirantes e 223 clientes.

Através da aplicação dos questionários, foi possível perceber que a proporção entre homens e mulheres que frequentavam a AgriSAP era bem próxima, sendo 52,5% homens. Além disso, foi observado que todos os feirantes, e a grande maioria dos clientes (96,4%) entrevistados faziam o uso de máscara, porém apenas 70% trocavam de máscara a cada duas horas e faziam a higienização correta. Vale salientar que é recomendado pela ANVISA que a troca da máscara seja realizada sempre que ela apresentar sujidades ou umidade, e devem ser lavadas regularmente, entretanto, deve se evitar mais de 30 lavagens e a higienização deve ser feita seguindo as seguintes instruções: a) a máscara deve ser lavada separadamente; b) lavar previamente com água corrente e sabão neutro; c) deixar de molho na água, sabão e água sanitária ou equivalente (recomenda de 20 a 30 minutos); d) secar; e) passar com ferro quente; f) guardar em um recipiente fechado (BRASIL, 2020d).

As máscaras faciais não-hospitalares não oferecem total proteção contra infecções, mas reduzem sua incidência. Especialistas apontam que mesmo pequenas medidas para reduzir transmissões têm grande impacto na atual pandemia, especialmente quando combinadas com medidas preventivas adicionais, que são absolutamente necessárias, como lavar as mãos com frequência; se tossir ou espirrar, cobrir o nariz e a boca com cotovelo flexionado ou lenço de papel; utilizar lenço de papel descartável para higiene nasal e evitar tocar mucosas de olhos (BRASIL, 2020d).

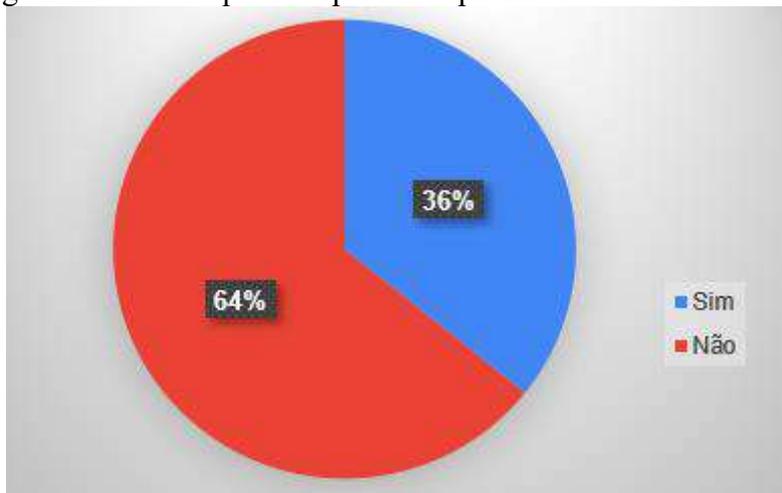
Em 80% das bancadas da feira, era fornecido antisséptico para os clientes no momento da aplicação do questionário, e 85,1% dos clientes entrevistados responderam que utilizam antissépticos de forma contínua. Isso evidencia a preocupação dos integrantes da AgriSAP em cumprir as determinações estabelecidas pelos órgãos municipais no sentido de contribuir com a execução dos protocolos, dentre eles, do uso do antisséptico.

Um fato preocupante é que foi identificado que 64% dos clientes continuam manipulando os produtos na hora de escolher (Figura 1), mesmo após o recebimento de orientações dos próprios feirantes para evitar essa prática. Embora a probabilidade de transmissão da Covid-19 por meio dos alimentos ou suas embalagens seja baixa, esses produtos podem ser contaminados quando manuseados por pessoas infectadas com Covid-19 se as medidas de higiene não forem cumpridas corretamente. Por isso, é recomendado evitar a manipulação de alimentos durante a escolha, o que é muito comum em estabelecimentos como a AgriSAP (PAHO, 2020b).

Um ponto positivo observado na Figura 2 foi que 74% dos feirantes relataram limpar e higienizar os locais de acondicionamento de produtos, equipamentos e todos os utensílios utilizados na feira de forma frequente. Diversos estudos avaliaram o tempo de persistência do Sars-CoV em diferentes tipos de superfícies, chegando aos seguintes resultados: aço inoxidável: 4h a 5 dias; alumínio: 8 h; papel: 5 min a 5 dias; madeira: 4 dias; plástico: 8 h a 9 dias. As diferenças observadas

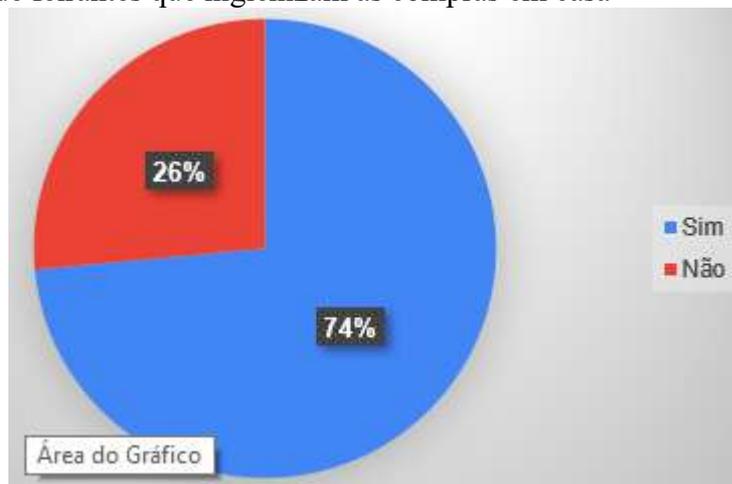
estão relacionadas não apenas ao tipo de material testado, mas também às linhagens de vírus utilizadas, nível de inóculo, temperatura de incubação e umidade relativa do ambiente, que influenciam na estabilidade do vírus. A persistência do Sars-CoV-2 em aço inoxidável é similar à de Sars-CoV, com resultados que podem variar de 3 a 7 dias. Em plástico, o resultado foi semelhante ao do aço inoxidável; e em papelão e cobre, partículas virais viáveis não foram detectadas após 24 h e 4 h, respectivamente (BIRYUKOV *et al.*, 2020; KAMPF, 2020; VAN DOREMALEN *et al.*, 2020).

Figura 1 - Porcentagens de clientes que manipulam os produtos no momento de escolha



Fonte: Dos autores, 2021

Figura 2 - Porcentagem de feirantes que higienizam as compras em casa



Fonte: Dos autores, 2021

Em 80% das bancas na feira existia um espaçamento mínimo de pelo menos 1,5 metros entre os trabalhadores e os clientes e 3 metros entre as bancas. O que não continha inicialmente eram as demarcações no chão que auxiliassem o distanciamento social, organizando filas. Este problema foi

corrigido através da realização dessas demarcações, durante a primeira semana de aplicação dos questionários. Essa medida corretiva contribuiu de forma significativa para evitar aglomerações, principalmente nos horários de maior movimento na feira.

Mais de 90% dos frequentadores da AgriSAP são moradores de Santo Antônio da Patrulha/RS, sendo que 62,4% possuem mais de 51 anos. Além disso, 53,5% são do grupo de risco da Covid-19. Estes dados apontam a importância do trabalho de conscientização da população, até mesmo em ambientes ao ar livre, como foi o caso na AgriSAP.

Foi relatado por 80% dos feirantes, que a comercialização de alimentos prontos para o consumo, como pastel, tapioca, lanches, refeições ou similares, estava sendo feita apenas com retirada em balcão e acondicionados para viagem e que cancelaram as degustações de produtos durante a pandemia. Estas ações mostram o comprometimento dos feirantes para evitar aglomerações dentro do espaço onde ocorre a feira.

Nenhum dos feirantes utilizava luvas no momento da aplicação do questionário. A luva é utilizada para minimizar os riscos de contaminação durante a manipulação do alimento, mas ela pode ser responsável por um erro bastante comum do utilizador, por dar uma falsa sensação de segurança, que é deixar de fazer a higienização das mãos por estar de luva. Vale salientar que a luva não substitui a higienização das mãos segundo a Nota Técnica nº 47/2020 da ANVISA, que trata do uso de luvas e máscaras em estabelecimentos de área de alimentos no contexto do enfrentamento da Covid-19. Nesse sentido, apesar da identificação desse ponto, não se pode afirmar que seja uma espécie de não conformidade, visto que a própria legislação não prevê a obrigatoriedade do uso dessa forma de proteção (BRASIL, 2020e).

Um resultado que causou certa preocupação foi que somente 46% dos frequentadores da feira responderam que higienizam as sacolas plásticas quando chegam em casa e apenas 21,3% fazem o uso de sacolas recicláveis. Além disso, apenas 75% fazem a sanitização dos produtos e embalagens.

#### *Lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação*

Devido às restrições impostas pela pandemia, a verificação das Boas Práticas de Fabricação foi realizada através de vídeos, enviados pelos responsáveis da agroindústria e que deveriam conter o processo produtivo e as instalações da agroindústria. Após alguns contatos, obteve-se o vídeo de uma agroindústria familiar, produtora de rapaduras, melado, açúcar mascavo e doces do município.

Durante a aplicação da lista de verificação (Quadro 3) foi considerado o fato de que a agroindústria possui apenas dois funcionários pertencentes à mesma família. Desta forma, alguns

itens presentes na lista de verificação (elaborada inicialmente para ser aplicada em diversas agroindústrias) foram desconsiderados, como a necessidade de impor medidas que reduzam o número de pessoas presentes em um mesmo local.

No geral, a agroindústria avaliada se apresentava em conformidade com a grande maioria (82,4%) dos itens aplicáveis presentes na lista de verificação. Com a exceção da falta de utilização de luvas pelos funcionários (que não é um item obrigatório, porém a utilização é recomendada), a utilização de adornos pelos funcionários durante a produção, e também a falta de orientação das rotinas de higiene no lavatório (como instruções de como fazer a higienização das mãos). Esta inconformidade é facilmente corrigida através da fixação de material explicativo próximo do local de lavagem das mãos, disponível na Nota Técnica N° 49/2020 da ANVISA (BRASIL, 2020c).

Em relação à pandemia, os responsáveis pela agroindústria tomaram precauções como a colocação de antissépticos pelas dependências das instalações, incluindo o setor de atendimento aos clientes, que preferencialmente estão sendo atendidos sem entrar nas dependências. Além disso, as embalagens estão sendo higienizadas antes de serem utilizadas. Isso evidencia a preocupação desses manipuladores com as questões que envolvem a qualidade e a segurança de alimentos, visto que nem todas as unidades produtoras estão cumprindo as atuais notas técnicas.

Essa triagem realizada em uma agroindústria deverá servir de modelo para que o levantamento técnico em relação ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação seja verificado em outras agroindústrias e assim, possibilite obter um maior número de informações para a continuidade dessa pesquisa, que possui um caráter fortemente extensionista, já que os dados obtidos são gerados a partir dessa interação com a comunidade.

Quadro 3 - Lista de verificação de medidas de contenção Covid-19 em agroindústrias

Questões	Sim	Não	NA*
Os funcionários estão utilizando máscaras que criam uma barreira contra os respingos respiratórios?	X		
Os funcionários estão usando luvas e aventais descartáveis para todas as tarefas do processo de limpeza, incluindo o manuseio do lixo?		X	
Os funcionários estão seguindo o protocolo de lavagem das mãos recomendado pela ANVISA?	X		
Os funcionários não utilizam adornos como brincos, anéis e pulseiras nas áreas de produção?		X	

*Continua...*

Quadro 3 - Lista de verificação de medidas de contenção Covid-19 em agroindústrias (continuação)

Questões	Sim	Não	NA*
Foram estabelecidas rotinas de medição de temperatura dos funcionários?			X
Há um espaçamento mínimo de pelo menos 1,5 metros entre os trabalhadores?			X
Há orientação e controle das rotinas de higiene dos ambientes comuns, assim como dos equipamentos?		X	
A frequência de higienização das instalações foi aumentada durante a pandemia?	X		
A área do piso está limpa?	X		
Todas as janelas estão limpas?	X		
Os banheiros e mictórios estão limpos e higienizados?	X		
Todas as paredes estão limpas e higienizadas?	X		
Todas as portas estão limpas e higienizadas?	X		
Há equipamentos que promovam a ventilação do ambiente?	X		
As embalagens são higienizadas logo após o recebimento?	X		
O estabelecimento oferta álcool em gel e/ou álcool glicerinado com no mínimo 70% de concentração aos trabalhadores?	X		
Seus funcionários estão cientes dos sintomas da Covid-19?	X		
Os funcionários considerados do grupo de risco do novo Coronavírus foram afastados por férias ou outra modalidade, respeitando a especificidade de cada caso?			X
Situações de contato presencial foram substituídas por contato virtual?	X		
Foi estabelecido dias de trabalho alternados ou novos turnos para reduzir o número de pessoas presentes em um mesmo local?			X
As viagens não essenciais foram reduzidas durante a pandemia?	X		
Total de questões:	14	3	4

Fonte: Nota Técnica Nº 48/2020 da ANVISA (adaptado).

Legenda: \*NA: não se aplica.

## Conclusão

Com o presente trabalho, foi possível identificar que o perfil comportamental dos clientes, feirantes e processadores de alimentos em agroindústrias familiares indica a preocupação com a pandemia e que o cumprimento das normas estabelecidas pelos órgãos regulamentadores na prevenção à Covid-19 foi realizado, o que torna a AgriSAP um ambiente seguro para a comercialização de alimentos.

Cabe destacar que 96,4% dos frequentadores da feira fizeram o uso de máscaras e 85,1% utilizaram agentes sanitizantes nas mãos. No entanto, recomenda-se uma maior atenção em relação à limpeza correta das sacolas usadas, pois apenas 46,4% dos entrevistados tomavam os cuidados corretos de higienização dessas embalagens.

Em relação à lista de verificação, a agroindústria avaliada apresentou 82,4% de conformidades, indicando o cumprimento das medidas básicas de higiene. As pequenas adequações se fazem necessárias para promover uma melhoria da qualidade e com isso, contribuir para o aumento da segurança desses alimentos, garantindo ao consumidor que os protocolos estabelecidos estão sendo cumpridos e que foram reforçados durante a pandemia.

## Agradecimentos

Agradecimento a Universidade Federal do Rio Grande (FURG), o Sindicato de Trabalhadores Rurais de Santo Antônio da Patrulha e EMATER pelo apoio, à AgriSAP por ceder o espaço para as pesquisas, o CNPq pelo auxílio e ao Grupo de Pesquisa em Qualidade e Segurança de Alimentos.

## Referências

BIRYUKOV, Jennifer *et al.* **Increasing temperature and relative humidity accelerates inactivation of SARS-CoV-2 on surfaces.** *MSphere*, v. 5, n. 4, p. e00441-20, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00441-20>. Acesso em 18 abr. 2021.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Portaria nº. 116, DE 26 de março de 2020: Dispõe sobre os serviços, as atividades e os produtos considerados essenciais pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o pleno funcionamento das cadeias produtivas de alimentos e bebidas, para assegurar o abastecimento e a segurança alimentar da população brasileira enquanto perdurar o estado de calamidade pública decorrente da pandemia da COVID-19. **Diário Oficial da União.** 2020a. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/CCIVil\\_03/Portaria/PRT/Portaria-116-20-mapa.htm](http://www.planalto.gov.br/CCIVil_03/Portaria/PRT/Portaria-116-20-mapa.htm). Acesso em 12 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Nota Técnica nº 48/2020/SEI/GIALI/GGFIS/DIRE4/ANVISA** Documento orientativo para produção segura de alimentos durante a pandemia de Covid-19, 05 jun. 2020b. Disponível em: <http://www.vigilanciasanitaria.sc.gov.br/index.php/download/category/83-alimentos?download=2047:nota-tecnica-n-48-2020-sei-giali-ggfis-dire4-anvisa>. Acesso em 12 de mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Nota Técnica Nº 49/2020/SEI/GIALI/GGFIS/DIRE4/ANVISA** Orientações para os serviços de alimentação com atendimento direto ao cliente durante a pandemia de Covid-19, 02 jun. 2020c. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/arquivos/arquivos-linha-do-tempo/7159json-file-1/view>. Acesso em 12 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 03 de abril de 2020. **ORIENTAÇÕES GERAIS – Máscaras faciais de uso não profissional**. 2020d. Disponível em: <https://agenciabrasilia.df.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/NT-M%C3%A1scaras-Tecido-Anvisa.pdf-2.pdf>. Acesso em 24 abr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Nota Técnica nº 47/2020–SEI/COSAN/GHCOS/DIRE3/ANVISA**. Recomendações sobre produtos saneantes que possam substituir o álcool 70% na desinfecção de superfícies, durante a pandemia da Covid-19, 23 abr. 2020e. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/arquivos-noticias-anvisa/586json-file-1>. Acesso em 09 mai. 2021.

CARMO, M. S. do. Cadeia produtiva da agricultura orgânica. In: SIMPÓSIO DE AGRICULTURA ECOLÓGICA E ENCONTRO DA AGRICULTURA ORGÂNICA, 2 e 1, 1999, Guaíba. **Trabalhos apresentados [...]**, Guaíba: Agropecuária, 1999.

KAMPF, G *et al.* Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. **Journal of Hospital Infection**, v.104, p.246-51, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.200.01.022>. Acesso em 18 abr. 2021

PAHO. **Covid-19 e a Segurança de Alimentos: Orientações para empresas do setor de alimentos**. 2020a. Disponível em: [https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com\\_docman&view=download&slug=guia-inocuidad-de-los-alimentos-y-Covid-19-portugues&Itemid=518#:~:text=%C3%89%20imprescind%C3%ADvel%20que%20a%20ind%C3%BAstria,que%20pode%20estar%20presente%20nos](https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&view=download&slug=guia-inocuidad-de-los-alimentos-y-Covid-19-portugues&Itemid=518#:~:text=%C3%89%20imprescind%C3%ADvel%20que%20a%20ind%C3%BAstria,que%20pode%20estar%20presente%20nos). Acesso em 08 de mai. 2021.

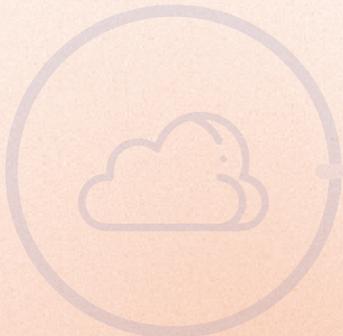
PAHO. **COVID-19 e inocuidade dos alimentos: conheça os infográficos sobre o tema**. 2020b. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/1-9-2020-Covid-19-e-inocuidade-dos-alimentos-conheca-os-infograficos-sobre-tema>. Acesso em 18 abr. 2021

SAMULAK, Renata *et al.* Padronização higiênica-sanitária em frigorífico de suínos, Ponta Grossa (PR). **Revista Gestão Industrial**, v. 7, n. 1, 2011. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/revistagi/article/viewFile/741/646>. Acesso em 18 abr. 2021

TELLES, Leomara Battisti. **Ferramentas e sistema de custo aplicados a gestão da qualidade no agronegócio.** 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1570/1/PG\\_PPGEPP\\_M\\_Telles%2c%20Leomara%20Battisti\\_2014.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1570/1/PG_PPGEPP_M_Telles%2c%20Leomara%20Battisti_2014.pdf). Acesso em: 05 maio. 2021.

TRÄSEL, K. **Implantação de Boas Práticas de Fabricação em empresa de chocolates artesanais em Arroio do Meio - RS.** Trabalho de Conclusão de curso para obtenção do título Técnico em Química. Lageado, 2014. Disponível em: <https://www.univates.br/tecnicos/media/artigos/Karoline.pdf> Acesso em 09 maio. 2021.

VAN DOREMALEN, N. *et al.* Aerosol and Surface Stability of Sars-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. **The New England Journal of Medicine**, v.382, p.1564-1567, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1056/NEJMc2004973> Acesso em: 18 abr. 2021.



# 09 Capítulo

Caracterização das  
condições higiênico –  
sanitárias no preparo  
de alimentos do setor  
hoteleiro da cidade  
de Itabirito – MG

## Capítulo 9

### Caracterização das condições higiênico – sanitárias no preparo de alimentos do setor hoteleiro da cidade de Itabirito – MG

Amanda Leão Cardoso<sup>\*1</sup>; Érica Granato Faria Neves<sup>2</sup>; Simone de Fátima Viana da Cunha<sup>3</sup>

#### Resumo

Devido à grande quantidade de turistas que visitam a região dos Inconfidentes, é possível encontrar em Itabirito inúmeros hotéis e pousadas onde é realizado o preparo de refeições. Uma das consequências mais graves do processamento inadequado dos alimentos é a ocorrência de doenças de origem alimentar. Este estudo teve como objetivo avaliar o cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e a qualidade das refeições produzidas no setor de hotéis e pousadas desse município. Foi realizada a identificação do universo hoteleiro. Os estabelecimentos foram convidados a participar da pesquisa por meio do envio de carta convite via e-mail e também por ligações telefônicas. Para avaliação das condições higiênico-sanitárias e estrutura física dos estabelecimentos foi elaborado um questionário estruturado com perguntas fechadas. Os estabelecimentos que aceitaram participar da pesquisa foram contatados para o agendamento de entrevistas e avaliação “*in loco*”. Os dados dos questionários foram inseridos em planilhas, com tabulação das questões, no programa estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Observou-se que todos os manipuladores do gênero feminino declararam utilizar algum acessório durante a manipulação, já os manipuladores do sexo masculino disseram não utilizar. Em relação a frequência com que ocorre a adoção do controle químico, em 20% o processo era realizado uma vez a cada seis meses, 20% uma vez por ano, 20% nunca realiza e 40% disseram realizar a cada três meses. Sobre a troca de uniforme, 80% relataram trocá-los todos os dias. Observou-se que os entrevistados com faixa etária superior a 60 anos conversavam durante o preparo dos alimentos, enquanto os mais jovens não possuíam esse hábito. Em todos os itens avaliados foi identificado a necessidade de realização de melhorias. É necessário o investimento nas instalações das cozinhas, mudanças de hábitos dos manipuladores e a implantação de documentos exigidos pela legislação.

**Palavras – chave:** Higiene. Hotelaria. Manipulação de alimentos. Produção de alimentos. Qualidade.

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências e Tecnologia de Alimento, Departamento de Alimentos - DEALI, Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP.

<sup>2</sup>Docente, Departamento de Alimentos - DEALI, Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP.

<sup>3</sup>Docente, Departamento de Alimentos - DEALI, Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP.

\*E – mail para correspondência: leaoamanda988@gmail.com

## Introdução

A importância das Boas Práticas de Fabricação (BPF) no preparo, manuseio, armazenamento e distribuição dos alimentos é a principal forma de prevenir e evitar doenças e enfermidades transmitidas pela manipulação e consumo de alimentos. As BPF são procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. Por meio da implementação das BPF, o setor alimentício passa a contar com uma excelente ferramenta de controle de qualidade, diminuindo os riscos de saúde associados ao consumo de alimentos contaminados (CASTRO, 2013).

Deve-se ainda salientar que o processo de preparo de alimentos em instituições exige o cumprimento de todas as medidas sanitárias estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (ALMEIDA; SOUZA, 2006). Neste sentido, pode-se destacar a Resolução - RDC ANVISA nº 216, de 15 de setembro, de 2004 que foi elaborada para proteger a saúde da população contra doenças provocadas pelo consumo de alimentos contaminados. Essa Resolução estabelece normas específicas de Boas Práticas para serviços de alimentação (BRASIL, 2004).

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são enfermidades causadas através da ingestão de água ou alimentos contaminados por diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários, vírus, substâncias danosas e partículas que não estavam presentes originalmente nestes alimentos (ROUGEMONT, 2007). Durante as etapas de produção, existem diversas condições que podem levar à introdução de microrganismos patogênicos nas refeições, o que pode comprometer a qualidade e a segurança alimentar. Alimentos contaminados por microrganismos ou por agentes químicos causam DTA que oferecem riscos à saúde do consumidor (SANTOS *et al.*, 2015). Seus sintomas são caracterizados por um conjunto de perturbações gástricas, envolvendo geralmente vômitos, diarreias, febres e dores abdominais, que podem ocorrer individualmente ou em combinação (FIDELIS, 2005).

As contaminações podem ocorrer desde a produção no campo e em qualquer uma das etapas da cadeia produtiva. As suas fontes podem ser os manipuladores, o ambiente de manipulação ou outros fatores que ocorrem acidentalmente quando não são adotadas boas condições higiênico-sanitárias. Portanto, garantir um alimento inócuo que não ofereça risco ao consumidor é sempre um desafio (ROUGEMONT, 2007).

Proceder a avaliação das condições higiênico-sanitárias em estabelecimentos onde ocorre a manipulação de alimentos é de fundamental importância para determinar se o nível de higiene adotado pelo estabelecimento é aceitável. Estudar, posteriormente, possibilidades de implantação de

futuras correções para manter o processo sob controle, são também fatores importantes (FIDELIS, 2005).

Nesse contexto em função dos problemas de saúde que surgem pelo consumo de alimentos que são produzidos em desacordo com a legislação vigente este estudo teve como objetivo avaliar o cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e a qualidade das refeições produzidas no setor de hotéis e pousadas da cidade de Itabirito – MG.

## **Material e Métodos**

### *Levantamento dos hotéis e pousadas localizados no município de Itabirito – MG*

Foi realizada a identificação do universo de hotéis e pousadas localizados no município de Itabirito, MG. Para a identificação dos meios de hospedagem existentes foram realizadas pesquisas na Internet, busca na associação comercial e empresarial da cidade, no sistema Fiemg e na Secretaria de Turismo. Após a identificação, todos os estabelecimentos foram convidados a participar do projeto através do envio de carta convite por e-mail e por ligações realizadas pelo telefone. Essas ligações por telefone foram necessárias com o intuito de explicar para os estabelecimentos qual era o objetivo dessa pesquisa.

### *Elaboração do questionário*

Foi elaborado um questionário estruturado em perguntas fechadas, cobrindo dados técnicos relevantes sobre as condições de preparo dos alimentos e estrutura física dos hotéis e pousadas. O questionário foi dividido em quatro blocos: 1) Edificações e Instalações, 2) Equipamentos, Móveis e Utensílios, 3) Manipuladores e 4) Documentação. Foi adotada como base a lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação, aplicada aos estabelecimentos produtores de alimentos, constante no anexo II da Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002).

Para avaliação dos blocos foram adotados os itens descritos abaixo:

Bloco 1 – Edificação e Instalações: foram observadas as condições físicas e a conservação do estabelecimento dando ênfase a: 1) área externa, 2) vias de acesso interna, 3) piso, 4) sistema de drenagem, 5) tetos, paredes e divisórias, 6) portas janelas e outras aberturas, 7) escadas, elevadores e outras estruturas auxiliares, 8) instalações sanitárias e vestiário, 9) lavatórios na área de produção, 10) iluminação e instalação elétrica, 11) ventilação e climatização, 12) controle integrado de vetores



e pragas urbanas, 13) abastecimento de água 14) manejo dos resíduos 15) esgotamento sanitário e 16) leite.

Bloco 2 – Equipamentos/móveis e utensílios: 1) equipamentos, 2) mesas e bancadas, 3) utensílios e 4) higienização.

Bloco 3 – Manipuladores: foi observada a rotina dos funcionários do restaurante durante a manipulação e produção das refeições por meio destes itens 1) vestiários, 2) hábitos higiênicos, 3) estado de saúde, 4) programa de controle de saúde, 5) Equipamentos de Proteção Individual, 6) programa de capacitação dos manipuladores e supervisão.

Bloco 4 – Documentação: foi verificada a existência de 1) Manual de Boas Práticas de Fabricação, 2) Procedimentos Operacional Padronizado (POP) além de avaliar se as operações executadas no estabelecimento estão de acordo com o disposto no documento apresentado.

Para cada item existiam três possibilidades de resposta: “sim”, “não” e “não aplicável”. A opção “não aplicável” foi quando o local não apresentava o espaço físico, o equipamento, o utensílio ou o produto ao qual o item se referia.

A inspeção e o preenchimento da ficha foram realizados pelo próprio estudante durante as visitas à unidade.

### *Entrevista estruturada*

Após elaboração dos questionários, os estabelecimentos que aceitaram participar da pesquisa foram contatados para o agendamento das entrevistas e avaliação “*in loco*” das condições físicas e higiênicas dos estabelecimentos. As entrevistas foram realizadas após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFOP, sob nº CAAE: 68387117.3.0000.5150. Juntamente com a aplicação do questionário, os estabelecimentos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), declarando estarem informados sobre a pesquisa e que concordavam em participar da mesma.

### *Análises estatísticas*

Os dados dos questionários obtidos para avaliação das condições das Boas Práticas de Fabricação foram inseridos em planilhas eletrônicas, com tabulação de todas as questões, no programa estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) (SPSS, 2018). Os dados foram tratados pela estatística descritiva por meio de frequências para cada variável do questionário. Foram

realizados alguns cruzamentos entre as variáveis pesquisadas, possibilitando, assim, a criação de gráficos e tabelas.

## Resultado e Discussões

Após a identificação dos meios de hospedagem existentes no município de Itabirito, foi possível realizar o levantamento de 10 estabelecimentos, sendo que 5 aceitaram participar do projeto e 5 manipuladores responderam ao questionário.

Posteriormente à aplicação dos questionários, observou-se que 60% dos manipuladores de alimentos eram do gênero masculino e 40% do gênero feminino. Em relação ao grau de escolaridade, 60% declararam possuir ensino médio completo, 20% ensino superior completo e 20% declararam ter realizado programas de pós-graduação. Em relação à faixa etária, prevaleciam manipuladores com idade entre 20 e 29 anos, correspondendo a 40% dos entrevistados, 20% declararam ter entre 30 e 39 anos, 20% entre 40 e 49 anos e 20% acima de 60 anos.

Em todos os meios de hospedagem a área externa dos ambientes em que ocorre a manipulação dos alimentos era livre de objetos em desuso, de vetores e outros animais, de focos de poeira, de acúmulo de lixo nas imediações e de água estagnada. Além disso, as vias de acesso interno apresentavam superfície pavimentada, adequada para o trânsito de veículos, com escoamento adequado e estavam limpas (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Em todas as cozinhas foi possível observar a presença de pisos constituídos de material de fácil higienização e em bom estado de conservação, sendo que em 80% deles havia a presença de ralos sifonados e com escoamento adequado. Em relação a frequência de limpeza, todos os estabelecimentos declararam realizar o procedimento todos os dias. Os pisos da área de manipulação devem ser constituídos de um material de fácil e apropriada higienização, antiderrapante e devem estar em adequado estado de conservação. Além disso, sua inclinação deve ser em direção aos ralos, não permitindo que a água fique estagnada. Os ralos, por sua vez, devem ser sifonados e com grelhas que permitam o seu fechamento (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Em 80% dos locais onde ocorre o preparo dos alimentos nos hotéis e pousadas observou-se que o teto apresentava acabamento liso e em cor clara, era impermeável, de fácil limpeza e desinfecção, além de encontrar-se em adequado estado de conservação, conforme exigido na Resolução RDC n° 275, de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002).

Todas as áreas de manipulação possuíam azulejos, sendo que em 40% a sua higienização era realizada uma vez por semana, em 40% o processo era realizado todos os dias e em 20% duas vezes por semana. De acordo com a RDC n° 216, de 15 de setembro de 2004, as paredes dos locais de

manipulação precisam ser de cor clara, acabamento liso, impermeável e de fácil higienização (BRASIL, 2004).

Em todos os estabelecimentos observou-se que as portas se encontravam em adequado estado de conservação, e eram constituídas de superfície lisa e de fácil higienização, contudo nenhuma das portas presentes na área de preparação e armazenamento de alimentos eram dotadas de fechamento automático e barreiras contra a entrada de animais.

Analisando as janelas e outras aberturas presentes nos locais de manipulação, todas encontravam-se em adequado estado de conservação, sendo constituídas de superfície lisa e de fácil higienização. Em apenas 40% foi possível observar a presença de tela de proteção contra a entrada de vetores. Sobre a frequência de limpeza em todos os estabelecimentos, os entrevistados disseram realizar o processo uma vez por semana.

Com relação às instalações sanitárias e vestiários dos manipuladores, 80% encontravam-se afastados da área de produção, uma característica importante para se evitar a contaminação cruzada entre os dois ambientes (FIGUEIREDO; NETO, 2001). Em todos os estabelecimentos visitados as portas externas dos sanitários e vestiários eram de acionamento manual, ou seja, é necessário que o manipulador coloque as mãos na fechadura da porta para abri-la ou fechá-la. Essa prática pode levar a contaminações (FIGUEIREDO; NETO, 2001). A legislação recomenda que as portas externas dos sanitários, da área de produção e do estoque sejam dotadas de fechamento automático (BRASIL, 2004).

Todas as instalações eram independentes para cada sexo, possuíam vaso sanitário e lavatório, piso de fácil higienização e azulejos nas paredes, ambos em bom estado de conservação. Os vestiários possuíam também sabonete líquido, álcool em gel 70%, toalhas de papel descartável, torneira com acionamento manual e encontravam-se conectadas a uma rede de esgoto ou fossa séptica. Todas as instalações sanitárias e vestiários dos manipuladores apresentavam lixeiras com tampas e acionamento no pedal, em 60% dos casos possuíam avisos com os procedimentos para higienização das mãos, 60% apresentavam armários para os manipuladores e 20% duchas ou chuveiros. Em relação a frequência de higienização dessas instalações, 60% eram limpas uma vez por semana, 20% realizam higienização duas vezes por semana e 20% todos os dias.

Observou-se a presença de um lavatório exclusivo para a higiene das mãos em apenas 40% dos meios de hospedagem, o que não é um resultado satisfatório já que consiste em uma medida que previne a contaminação do meio de produção (FIGUEIREDO; NETO, 2001). Na área de produção deve existir lavatório exclusivo para higiene das mãos localizado em posição estratégica em relação ao fluxo de preparações dos alimentos (BRASIL, 2002 e BRASIL, 2004). Um lavatório exclusivo para higienização das mãos localizado na entrada da área de produção permite que os manipuladores

lavem as suas mãos antes de entrarem na cozinha, ou seja, antes do início das atividades de preparação. Essa medida pode prevenir contaminações (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Dos estabelecimentos que responderam possuir lavatórios para essa finalidade, 50% estavam em posição adequada em relação ao fluxo de pessoas, em todos os estabelecimentos a torneira era com acionamento manual, 75% possuíam sabonete líquido e toalha de papel para secagem das mãos, e todos apresentavam lixeira com tampa e acionamento no pedal.

A iluminação do local de manipulação estava adequada à atividade desenvolvida, sem ofuscamento, reflexos fortes, sombras e contrastes excessivos em todas as cozinhas. Em 60% as luminárias apresentavam proteção adequada contra quebras e estavam em adequado estado de conservação e todas eram dotadas de instalações elétricas embutidas.

Em todos os ambientes inspecionados, foi possível observar que a ventilação e a circulação de ar garantem um ambiente livre de fungos, gases, fumaça e condensação de vapores, já que apresentavam equipamentos responsáveis pela circulação do ar, sendo eles exaustores e coifas. Esses equipamentos passavam por manutenção e limpeza periódica, sendo que o processo era realizado pelos próprios manipuladores e em 20% era feito o registro dos processos de manutenção e higienização.

Observou-se que em todos os estabelecimentos vistoriados a limpeza da cozinha é realizada pelos próprios manipuladores. Em relação a frequência de higienização, em 80% dos casos o processo era realizado uma vez por dia e em 20% três vezes por semana, sendo que em apenas 20% dos estabelecimentos existia o registro do processo de limpeza. A higienização do ambiente de manipulação garante um local livre de contaminações, devendo ser realizada de forma periódica e por um profissional capacitado (FIGUEIREDO; NETO, 2001)

Todos os estabelecimentos disponibilizam os produtos de higienização necessários à realização desta operação e possuíam os utensílios necessários, como escovas, buchas, esponjas e vassouras, estando em bom estado de conservação. Os produtos de higienização eram utilizados conforme as instruções recomendadas pelo fabricante e identificados e guardados em local adequado, sendo ele um armário específico para o armazenamento.

Em 20% dos meios de hospedagem visitados foi possível observar a circulação de animais domésticos e a presença de pragas urbanas na área de manipulação. Em relação a adoção de medidas preventivas para impedir a circulação de pragas urbanas nesses ambientes, 80% declaram adotá-las, sendo que 75% apresentavam um comprovante de execução do controle de pragas. Em relação a frequência com que ocorre a adoção do controle químico, em 20% dos meios de hospedagem o processo era realizado uma vez a cada seis meses, 20% uma vez por ano, 20% nunca realizavam e 40% disseram realizar a cada três meses.

Nos locais de manipulação devem ser implantados procedimentos para prevenir ou minimizar a presença de vetores e pragas como, insetos, roedores, aves e outros. O processo deve ser executado por empresa prestadora de serviço licenciada no órgão de vigilância sanitária (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006). Os produtos utilizados devem estar regularizados na ANVISA, jamais devem ser utilizados inseticidas domésticos ou outros por conta própria. O estabelecimento deve apresentar comprovante de execução de serviço fornecido por uma empresa especializada (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Dos meios de hospedagem visitados, todos afirmaram ter o sistema de abastecimento de água ligado à rede pública e apresentar um reservatório com fácil acesso para que seja realizada a sua higienização. Em 80% dos hotéis existia um profissional capacitado para a realização da limpeza do reservatório de água, nos demais os próprios funcionários responsáveis pela limpeza realizavam esse processo, sem passarem por uma capacitação para a realização de tal atividade. Ao manipular alimentos é importante o controle da potabilidade da água, pois ao utilizar água imprópria podemos prejudicar a segurança alimentar. Somado a isso, o reservatório de água deve ser acessível, de modo que permita uma apropriada frequência de higienização (FIGUEIREDO; NETO, 2001). Em 60% dos estabelecimentos era realizado o registro desse processo de higienização. O registro dessa atividade é extremamente importante pois permite o controle de frequência de realização da atividade, ou seja, nos permite identificar qual é o momento de realizar novamente a atividade (FIGUEIREDO; NETO, 2001). Em relação a frequência com que esse processo é realizado, 60% dos manipuladores declaram realizar uma vez a cada seis meses e 40% uma vez ao ano.

Todos os reservatórios de água estavam dotados de tampa, livres de vazamentos, infiltrações e descascamentos. Além disso, os encanamentos encontravam-se em estado satisfatório e com ausência de infiltrações.

Em 80% das cozinhas vistoriadas observou-se que a água utilizada para o preparo do gelo era potável e este estava estocado em condições higiênicas satisfatórias. Em 20% o gelo era preparado em formas e colocado no freezer junto com outros alimentos, ficando exposto e suscetível a sofrer contaminação.

Observou-se em 80% dos estabelecimentos que trabalham com alimentos e foram visitados, que as lixeiras eram dotadas de tampas e acionadas por pedais, que elas estavam em bom estado de conservação, eram de fácil higienização e em número suficiente para conter os resíduos. Em todos os estabelecimentos, os resíduos eram coletados regularmente e, posteriormente, armazenados em locais distantes da área de preparação e manipulação de alimentos, a fim de evitar contaminação e o favorecimento da instalação de pragas urbanas, como baratas e ratos (BRASIL, 2004).

Em relação a frequência de retirada do lixo das cozinhas dos hotéis e pousadas visitados, observou-se que em 60% o processo é feito uma vez ao dia e 40% duas vezes ao dia. Quando questionados sobre a frequência de higienização dos recipientes de coleta dos resíduos gerados, 40% dos manipuladores declararam realizar o processo uma vez por dia, 40% uma vez por semana e 20% declararam realizar com outra frequência.

Analisando a estrutura das cozinhas foi possível observar que todos os estabelecimentos apresentavam um local apropriado para guarda de matéria-prima, ingredientes e embalagens fora da área de produção dos alimentos. Sobre a estocagem do material de limpeza todos os meios de hospedagem relataram possuir um local apropriado e distante da área de produção para estocagem desse material. A implantação de um leiaute adequado no local de manipulação evita a ocorrência de contaminações cruzadas, além de proporcionar uma maior economia em diversos aspectos e beneficiar a produção (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Foi possível observar nos locais de estocagem dos gêneros alimentícios a implantação de medidas para evitar a entrada de pragas e vetores, como proteção nas portas e janelas, em 80% dos estabelecimentos visitados.

Em relação à forma de estocagem dos gêneros alimentícios, em 80% das cozinhas o processo é realizado em armários com prateleiras vazadas e 20% dos entrevistados responderam estocar os gêneros alimentícios em armários convencionais de cozinha. Em 20% dos estabelecimentos os alimentos estocados ficavam encostados na parede e em 80% existia espaço suficiente para a circulação, uma medida necessária para que possa haver circulação de ar entre os alimentos e facilitar a limpeza do local. Em estoques muito grandes é necessário que haja também espaço para circulação do manipulador em volta dos alimentos, essa medida facilita a limpeza do local (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Foi possível observar em 80% das cozinhas que as superfícies que entram em contato com os alimentos eram lisas, íntegras, impermeáveis, resistentes à corrosão, de fácil higienização e de material não contaminante. As porcentagens restantes se referem aos estabelecimentos nos quais a manipulação era realizada em superfícies de madeira. Além disso, os utensílios utilizados durante o preparo das refeições eram constituídos de aço inox, possuíam tamanhos e formas que permitiam higienização, estavam em adequado estado de conservação e em número suficiente e apropriado ao tipo de operação utilizada.

Por meio da análise dos dados observou-se que todas as cozinhas possuem geladeiras; 80% possuíam geladeiras e congeladores e nenhuma possuía câmara frigorífica. Os alimentos podem ser alvos de diferentes tipos de contaminação, dentre elas a biológica, que se caracteriza pela presença de microrganismos nas refeições. Eles podem se multiplicar em temperaturas entre 5 °C a 60 °C, dessa

forma, para inibir o seu crescimento alguns alimentos que possuem características favoráveis a sua proliferação devem ficar armazenados sob refrigeração (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

De acordo com os manipuladores entrevistados, todos os equipamentos de refrigeração presentes nas áreas de manipulação apresentavam um medidor de temperatura. Os equipamentos destinados a refrigeração dos alimentos devem apresentar em seu interior um medidor de temperatura, permitindo assim a realização de um controle adequado (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Em todos os estabelecimentos os próprios manipuladores realizavam o processo de limpeza dos equipamentos, utensílios e bancadas. A higienização correta dos equipamentos, utensílios e bancadas ajuda a prevenir a contaminação dos alimentos e assim, consequentemente a transmissão de doenças, devendo ser realizado de forma periódica (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Em relação a frequência de higienização dos equipamentos utilizados durante o preparo das refeições, 40% dos manipuladores realizam a atividade uma vez por dia, 20% duas vezes por dia e 40% após cada uso. Em relação a higienização dos utensílios, em 20% dos estabelecimentos o processo é feito uma vez por dia, 20% duas vezes por dia e em 60% após cada uso. Os utensílios, equipamentos e bancadas devem ser higienizados sempre que houver a troca de ingredientes, a fim de evitar contaminação cruzada e odores indesejados, devendo ser mantidos organizados e limpos, ação que auxilia na higienização por impedir o acúmulo de sujidades (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Dos estabelecimentos visitados, apenas 20% realizavam o processo conforme o exigido pela legislação, que consiste em lavar com água corrente e com o auxílio de bucha e detergente, seguida da imersão em solução de hipoclorito de sódio ou água sanitária por 15 minutos (BRASIL, 1997). Em 80% eram lavados com água corrente e com o auxílio de bucha e detergente.

Com relação a higienização das bancadas, 60% dos meios de hospedagem realizavam o processo de forma adequada, isto é, devem ser lavadas com o auxílio de bucha e detergente com posterior enxágue e por último borrifar álcool 70% ou solução clorada (BRASIL, 1997). Os manipuladores restantes declararam lavar as bancadas com o auxílio de bucha e detergente com posterior enxágue do detergente.

Por meio da análise dos dados observou-se que 80% dos funcionários utilizavam uniformes com as características descritas e em 80% dos casos ele era exclusivo para a área de manipulação. Em relação a frequência de troca dos uniformes, 80% trocavam todos os dias e 20% apenas quando estavam sujos. Quando o manipulador não utiliza técnicas de higiene adequadas, a segurança dos alimentos pode ser comprometida. Medidas de higiene pessoal devem ser seguidas, a fim de garantir a oferta de alimentos seguros e saudáveis para o consumo humano. Os uniformes devem ser de cor

clara, manga curta e sem botões acima da cintura; devem estar sempre limpos e em adequado estado de conservação e devem ser exclusivos para área de produção (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Foi possível observar em todos os estabelecimentos visitados que todas as pessoas, inclusive os visitantes, apresentavam os cabelos presos e cobertos por toucas. Pelos resultados obtidos podemos observar que todos os manipuladores do gênero feminino relataram utilizar algum acessório durante a manipulação, já os manipuladores do gênero masculino disseram não utilizar. Durante o preparo das refeições, recomenda-se que os manipuladores não utilizem nenhum acessório, uma vez que em contato com o alimento podem ser uma fonte de contaminação física como também microbiológica (FIGUEIREDO; NETO, 2001).

Analisando os resultados foi possível observar que todas as mulheres que manipulam alimentos relataram fazer uso de cosméticos, já os homens disseram não utilizar. Antes do preparo das refeições, recomenda-se que os manipuladores não utilizem loção pós-barba, perfumes, cremes hidratantes ou cosméticos do gênero, uma vez que em contato com o alimento podem ser uma fonte de contaminação química, transferindo assim cheiro para o alimento preparado (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Todos os manipuladores dos estabelecimentos entrevistados declararam realizar a lavagem das mãos depois de pegar em dinheiro, antes de iniciar o trabalho, depois de utilizar o sanitário, depois de usar panos ou materiais de limpeza, depois de recolher o lixo ou outros resíduos e depois de tocar nos sapatos. Quando questionados se realizavam a higienização das mãos quando iniciam um novo serviço ou trocam de atividade, apenas 80% responderam que sim, 60% declararam realizar a atividade depois de tossir ou espirrar e 80% depois de manipular alimentos não higienizados. As mãos podem conter microrganismos que vêm da boca, nariz ou de diferentes partes do nosso corpo. Por isso, antes de iniciar as atividades na área de manipulação se faz necessário a sua correta higienização (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Observou-se que todos os manipuladores que apresentavam idade superior a 60 anos relataram cantar e conversar durante o preparo dos alimentos, enquanto manipuladores mais jovens não possuíam esse hábito. Durante o preparo das refeições, os manipuladores devem evitar cantar ou conversar sobre os alimentos, para prevenir que saliva entre em contato com o produto preparado causando assim uma contaminação biológica (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Todos os manipuladores com idade entre 20 e 29 anos possuíam o hábito de fumar e manusear dinheiro durante o preparo dos alimentos, o que compromete a produção de um alimento seguro e de qualidade. Os demais entrevistados declararam não desempenhar tais atitudes.

Embora necessário, o controle da saúde dos manipuladores era realizado em apenas 80% dos meios de hospedagem. Essa atitude é essencial para prevenir a veiculação de doenças através dos

alimentos, dessa forma, nos locais de manipulação deve ocorrer a supervisão periódica do estado de saúde dos manipuladores (BRASIL, 1997).

Por meio da análise dos resultados observou-se que 20% dos manipuladores responderam realizar a manipulação dos alimentos mesmo apresentando esses problemas de saúde. Caso os colaboradores apresentem afecções cutâneas, feridas e supurações, infecções respiratórias, gastrointestinais e oculares, devem ser afastados dos locais de manipulação e colocados em uma outra atividade que não seja a manipulação direta dos alimentos (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Os funcionários entrevistados foram indagados se tomavam ou não as seguintes atitudes quando cortavam acidentalmente os dedos: 1) informam ao supervisor para que ele tome as devidas providências; 2) esperam o sangramento cessar e voltam às atividades; 3) fazem um curativo, colocam luvas e voltam às atividades; 4) fazem um curativo e voltam às atividades. Para cada item existia duas possibilidades de resposta: “sim” e “não”. Por meio da análise dos resultados, observou-se que 40% dos manipuladores informam ao supervisor para que ele tomasse as providências necessárias; nenhum manipulador declarou esperar o sangramento cessar para voltar as atividade; 60% faziam um curativo e voltavam às atividades após colocarem uma luvas; e 80% apenas faziam um curativo antes de voltarem a manipular os alimentos. Em caso de lesões nas mãos, deve ser feito um curativo no local, tampando bastante a ferida, e caso seja possível retornar às atividades se faz necessário o uso de luvas descartáveis (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Quando questionados sobre a utilização dos EPI's, 20% dos manipuladores declararam utilizar jalecos; todos declararam utilizar touca, avental e luvas de plástico; 60% utilizavam máscara, luvas de limpeza e luvas de látex; e nenhum manipulador declarou utilizar luvas de malha de aço e luvas térmicas. Alguns desses equipamentos, além de protegerem os manipuladores em caso de acidentes, também protegem os alimentos contra contaminação, garantindo o preparo de refeições seguras.

Analisando os resultados é possível observar que apenas um pequeno número de estabelecimentos apresentavam os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP), sendo que 40% declararam possuir POP relacionados às áreas exigidas pela legislação. De acordo com a Resolução RDC ANVISA nº 216, de 15 de setembro, de 2004, os serviços de alimentação devem implementar POP relacionados às áreas de Higienização de instalações, equipamentos e móveis; Controle integrado de vetores e pragas urbanas; Higienização do reservatório; Higiene e saúde dos manipuladores. Esses documentos devem estar acessíveis aos funcionários envolvidos e disponíveis à autoridade sanitária, quando requerido (BRASIL, 2004).

## Conclusão

Em todos os itens avaliados (Edificação e Instalações; Equipamentos/móveis e utensílios; Manipuladores e Documentação) foi identificado a necessidade de realização de melhorias. É necessário o investimento em melhorias nas instalações das cozinhas, mudanças de hábitos dos manipuladores e a implantação de documentos exigidos pela legislação. Esses fatores podem colaborar para condições insatisfatórias podendo aumentar a chance de contaminação dos alimentos e acidentes no trabalho.

Esse cenário reforça a necessidade da realização de capacitações para os envolvidos no preparo das refeições. Dessa forma, é imprescindível que os Hotéis e Pousadas realizem capacitações periódicas em seus manipuladores e invistam em programas para mantê-los atualizados e treinados. As capacitações devem abordar os assuntos: importância da higienização das mãos, saúde dos manipuladores, hábitos de higiene, doenças transmitidas por alimentos, contaminantes de alimentos, entre outros.

É importante que os responsáveis pelos meios de hospedagem façam melhorias contínuas na estrutura física dos locais de manipulação para que o seu estabelecimento ofereça as condições higiênico-sanitárias necessárias para ofertar alimentos íntegros e seguros para os seus clientes. Vale ressaltar também a necessidade de estarem em acordo com as regras estabelecidas pela vigilância sanitária evitando problemas com os órgãos fiscalizadores.

A implantação do manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e do Procedimento Operacional Padronizado (POP) é de fundamental importância para garantir a integridade das refeições servidas e a padronização das atividades. Com a implantação das BPF o estabelecimento poderá garantir a integridade dos alimentos que prepara e a saúde dos seus clientes. Com o POP os estabelecimentos conseguem realizar as atividades de higienização das instalações e equipamentos e de preparo das refeições de maneira padronizada. Independente de qual turno está realizando a atividade, todos executam da mesma maneira.

## Referências

ALMEIDA, F. H. D. S.; SOUZA, E. C. G. D. Alimentação escolar: as instituições de ensino do município de Muriaé e suas intervenções. *In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC*, 58., 2006, Florianópolis. **Anais [...]**, Florianópolis: SBPC/UFSC, 2006. p. 16-29.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.



BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de Julho de 1997. **Regulamento Técnico; "Condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.** Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 01 de jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RDC nº 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 Nesses Estabelecimentos.** Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 01 de jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 01 de jun. 2021.

CASTRO, R. S. D. **Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Tomate e Água em Restaurantes da Cidade de Botucatu-SP.** 2013. 78f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciência Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu - SP, 2013.

FIDELIS, G. A. **Avaliação das Boas Práticas de Preparação em Restaurantes Institucionais.** 2005. 148f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa – MG, 2005.

FIGUEIREDO, V. F.; NETO, P. L. O. C. Implantação do HACCP na Indústria de Alimentos. **Gestão e Produção**, v. 8, n. 1, p. 100-111, 2001.

ROUGEMONT, A. J. Alimentos seguros – necessidade ou barreira comercial?. **Perspectivas Online**, v. 1 n. 2, p. 62-70, 2007.

SANTOS, R. M. S. *et al.* Avaliação de restaurante universitário por meio do regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Revista Verde**, v. 10, n. 2, p. 26-32, 2015.

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences. Version 25. [S.l.]: IBM, 2018. Disponível em: <<https://www.ibm.com/br-pt/analytics/spss-statistics-software>>. Acesso em: 26 julho de 2018.

# 10 Capítulo

Avaliação do potencial  
biotecnológico de  
bactérias do gênero  
*Bacillus* isoladas de  
leite UHT



## Capítulo 10

### Avaliação do potencial biotecnológico de bactérias do gênero *Bacillus* isoladas de leite UHT

Raiane Rodrigues da Silva\*<sup>1</sup>; Rosângela de Freitas<sup>2</sup>; Nayara Aparecida da Silva Costa<sup>1</sup>; Gabriela Aparecida Nalon<sup>1</sup>; Antônio Fernandes de Carvalho<sup>2</sup>; Solimar Gonçalves Machado<sup>2</sup>

#### Resumo

As condições higiênico-sanitárias de produção de leite no Brasil ainda são muito precárias, com isso frequentemente ocorre a contaminação deste por diversos microrganismos, como por exemplo *Bacillus*. Esta contaminação dependendo da carga microbiana e do momento que ocorre, pode ser levada até mesmo para leites que passam por tratamento como é o caso do leite UHT. Com isso, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial biotecnológico de bactérias do gênero *Bacillus* isoladas de leite UHT, através da determinação da velocidade específica de crescimento ( $\mu_{max}$ ) e da produção de enzimas amilolíticas, lipolíticas e proteolíticas. Foram estudadas 12 estirpes de *Bacillus* e os estudos do potencial biotecnológico levaram em conta a determinação da velocidade específica de crescimento ( $\mu_{max}$ ) que foi verificada através da medição da densidade ótica do meio com a estirpe de *Bacillus* através do espectrofotômetro (ThermoFisher, Vantaa, Finlândia) e da atividade das enzimas hidrolíticas medida qualitativamente através da determinação de halos de hidrólise de meios específicos que continham azeite ou leite desnatado reconstituído ou amido. Não foi observada diferença significativa na velocidade específica de crescimento das estirpes de *Bacillus* para os tratamentos com e sem agitação. Dentro de um mesmo tratamento também não observou-se diferença significativa entre as estirpes. Estes resultados podem ser devidos aos altos valores de desvio padrão obtidos causando assim a redução do poder dos testes F e T que foram aplicados e também porque todas as estirpes de *Bacillus* analisadas apresentavam necessidades de crescimento semelhantes, o favorecendo todas de uma mesma forma não apresentando diferença significativa entre os  $\mu_{max}$ . Para a atividade enzimática, é notório que diversas estirpes apresentaram capacidade de produzir amilase, lipase e protease. Pode-se concluir que as estirpes de *Bacillus* apresentam potencial biotecnológico, porém são necessários mais estudos afim de melhorar as condições de cultivo destas enzimas para uma possível aplicação industrial.

**Palavras-chave:** Inibição; Lácteos; Perdas econômicas.

---

<sup>1</sup> Graduanda, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

<sup>2</sup> Professor (a) Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

\* Email de correspondência: raiane.r.silva@ufv.br

## Introdução

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições higiênicas, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). O leite é composto, principalmente, por água, lactose, lipídeos, proteínas, sais, vitaminas e enzimas e por sua riqueza em nutrientes e suas condições físico-químicas, é considerado um meio propício à multiplicação de micro-organismos (SOUZA, 2017). Quando obtido ou processado em más condições higiênico-sanitárias, pode tornar-se importante veículo de micro-organismos patogênicos ao homem (SEQUETTO *et al.*, 2017).

Para que o consumo de leite não represente riscos à saúde humana, é necessário a eliminação dos micro-organismos patógenos que possam estar presentes. O tratamento térmico é umas das formas mais efetivas e simples de reduzir o número de bactérias no leite e, conseqüentemente, garantir um consumo seguro do produto (SOUZA, 2017). Os dois principais tratamentos térmicos aplicados ao leite de consumo são a pasteurização e esterilização Ultra High Temperature (UHT) (TAMIME, 2009). A pasteurização é um tratamento térmico considerado brando, podendo ser realizada de forma rápida ou lenta. Na pasteurização lenta utiliza-se temperaturas de 63 °C a 65 °C durante 30 minutos. Já na pasteurização rápida emprega-se temperaturas de 72 °C a 75 °C, durante 15 segundos com o objetivo de inativar enzimas e reduzir contagem de micro-organismos deterioradores e patogênicos (VIDAL; NETTO, 2018). Por outro lado, no tratamento UHT emprega-se temperaturas de 130 °C e 150 °C, por um período de dois a quatro segundos e imediatamente resfriado a temperatura inferior a 32 °C. Este tratamento é utilizado com o objetivo de inativar todos os micro-organismos possivelmente presentes que apresentem capacidade de se desenvolver nas condições normais de estocagem (VIDAL; NETTO, 2018).

De acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do leite UHT, este produto se caracteriza por ser homogeneizado e submetido a uma temperatura de 130 °C por um tempo de 2 a 4 segundos, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL,1996). Adicionalmente, leite esterilizado não deve apresentar micro-organismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento e distribuição, após uma incubação na embalagem fechada a 35-37 °C, durante 7 dias (BRASIL, 2018). Contudo, alguns estudos têm demonstrado a presença de micro-organismos neste tipo de produto. Vidal-martins, Rossi e Rezende-lago (2005) identificaram a presença de micro-organismos aeróbios mesófilos em 8 das 11 marcas de leite UHT coletadas na região de São José do Rio Preto,

São Paulo. Neste estudo, a concentração populacional variou entre  $1,0 \times 10^2$  UFC/ml a  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL. Cioglia e De Freitas (2017), também verificaram a presença deste grupo de micro-organismos em amostras de leite UHT e reafirmam a importância da utilização de matéria prima de alta qualidade microbiológica para que se garanta a eficiência da esterilização.

A presença de micro-organismos em leite UHT pode ser causado pelo processamento de leite com alta contagem de micro-organismos, presença de biofilme na linha de produção, presença de micro-organismos formadores de esporos e possível contaminação pós tratamento térmico, seja pela utilização de embalagem inadequadamente higienizadas ou controle ineficiente da garantia do ambiente asséptico nas máquinas envasadoras (AIRES, 2007; CIOGLIA; DE FREITAS, 2017; LAGO, 2002; VIDAL *et al.*, 2015). Com relação à presença de micro-organismos esporulados, os principais gêneros de importância para este tipo de produto são *Bacillus* e *Clostridium* (TIIMUB *et al.*, 2020). As bactérias do gênero *Bacillus* são organismos pertencentes a família Bacillaceae. Em sua maioria apresentam morfologia de bastonetes, Gram +, aeróbias ou aeróbias facultativas, produtoras de esporos e apresentam motilidade devido à presença de flagelos peritríquios (RABINOVITCH; OLIVEIRA, 2015; SLEPECKY; HEMPHILL, 2006). Por se tratar de um micro-organismo amplamente presente no ambiente, solo e pastagens (PINTO *et al.*, 2018), a contaminação do leite cru pode ocorrer devido à falta de boas práticas na ordenha, contato do animal com o solo, poeira e diversas outras fontes.

Os esporos formados por *Bacillus* presentes no leite cru podem resistir ao tratamento térmico UHT e a germinação posterior dos esporos e a atividade das bactérias viáveis podem ocasionar grandes perdas econômicas para a indústria de lácteos (PINTO *et al.*, 2018). As perdas estão relacionadas principalmente porque várias cepas de *Bacillus* apresentam a capacidade de produzir enzimas, como lipases e protease, que podem apresentar efeitos indesejáveis aos construídos do leite (PINTO *et al.*, 2018) afetando diretamente sua vida de prateleira do leite UHT.

As lipases microbianas pertencem ao grupo das hidrolases e são responsáveis por converter os triacilgliceróis a ácidos graxos livres e glicerol (DE ANDRADE PAULO; MONTANHINI; RIBEIRO, 2021). No leite, a presença de ácidos graxos livres é responsável por conferir ao produto sabor e aroma desagradáveis (DE ANDRADE PAULO; MONTANHINI; RIBEIRO, 2021). Por outro lado, as proteases catalisam a hidrólise das ligações peptídicas das proteínas (CHAUD; ARRUDA; FELIPE, 2007) e pode gerar no leite UHT a desestabilização das proteínas, responsável pela formação de gel no fundo da embalagem ou sedimentação (PINTO *et al.*, 2018).

Apesar de representar um problema em leite UHT, as enzimas produzidas por micro-organismos têm sido empregadas em alimentos como aditivos com o objetivo de modificar e realçar propriedades sensoriais. Adicionalmente, estas substâncias têm sido utilizadas na fabricação de

detergente para hidrolisar gorduras, aumentando a eficiência do processo de limpeza. Em indústrias farmacêuticas, algumas enzimas estão sendo aplicadas na produção de lactonas sintéticas. Além disso, elas também podem ser usadas na produção de biodiesel no processo de transesterificação de triacilgliceróis e esterificação de ácidos graxos. Na indústria oleoquímica estas enzimas são também utilizadas para hidrólise de óleos e gorduras e para a síntese de biosurfactantes. (MESSIAS *et al.*, 2011; TAVARES, 2011). Com relação a enzimas produzidas por *Bacillus*, alguns estudos têm demonstrado que algumas cepas de *B. subtilis* apresentam capacidade de produzir lipases eficientes no tratamento de águas residuais com contaminação por óleo (IQBAL; REHMAN, 2015). Quanto a utilização industrial das proteases produzidas por *Bacillus*, diversas aplicações já foram relatadas, como a aplicação de proteases produzidas por *B. subtilis* para hidrólise de leite com a finalidade de diminuir a concentração de fenilalanina para pacientes fenilcetonúricos (SOUZA *et al.*, 2010), a utilização de proteases na maturação de queijos (CONTESINI; MELO; SATO, 2018) e produção de vários intermediários quirais chave na síntese de anti-inflamatórios, antivirais e agentes anti-leucêmicos a partir de serina de *Bacillus* sp. (MAHMOUDIAN, 2009).

Adicionalmente, algumas cepas de *Bacillus* apresentam a capacidade de produzir amilases. Este tipo de enzima tem como função hidrolisar moléculas de amido, resultando em oligossacarídeos de diferentes tamanhos, como as dextrinas e maltoses (COCA, 2019). Os *Bacillus* são responsáveis pela produção de importantes  $\alpha$ -amilases que vem sendo utilizada na indústria de alimento na liquefação de amido e produção de açúcares mais simples, como a glicose e dextrinas (COCA, 2019).

Visto a grande possibilidade de utilização dos metabólitos produzidos por *Bacillus* em diversas áreas, este trabalho teve como objetivo verificar o potencial biotecnológico de cepas de *Bacillus* isoladas de leite UHT.

## Material e Métodos

### *Cepas e condições de cultura*

Um total de 12 cepas de *Bacillus* pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Pesquisa em Leite e Derivados (INOVALEITE – UFV) foram utilizadas neste estudo. As cepas foram previamente identificadas através do sequenciamento parcial do gene 16SrDNA conforme identificado na Tabela 1 (MOREIRA, 2019).

Uma cepa de *Pseudomonas fluorescens* 07A foi incluída no estudo como controle positivo nos testes de atividade enzimática.



Tabela 1 - Codificação das espécies utilizadas

Espécie	Identificação da Cepa
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	IPS4 (V1) e 11 (V1)
<i>Bacillus cereus</i>	MoI 14 (3) e 10 (3)
<i>Bacillus licheniformes</i>	7 (3) e 79 (v1)
<i>Bacillus proteolyticus</i>	PAI 4 (1) e PAI 15 (v3)
<i>Bacillus subtilis</i>	17 (v3) e 24 (2)
<i>Bacillus velezensis</i>	4 (2) e 86 (v1)

Fonte: Autores,2020.

As ativações das culturas, para todas as análises, foram realizadas seguindo a proporção de 1% da cultura em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI, Oxoid, Hampshire, Reino Unido) incubados a 37 °C por 24 horas. Os isolados se encontram armazenados a -60 °C em ultrafreezer (Thermo Electon, Waltham, Estados Unido) em BHI acrescido de 20% de glicerol (v/v).

#### *Determinação da velocidade específica de crescimento*

Foram realizadas duas ativações das cepas de *Bacillus* em caldo BHI e incubados a 37 °C por 24 horas. A partir da segunda ativação foram realizadas diluições seriadas até concentração celular final de  $1 \times 10^4$  UFC/mL. O volume de 20 µL de cada cultura ativada foi transferido, em duplicata, a poços específicos em microplaca de 96 poços, adicionalmente 200 µL de caldo BHI (Oxoid) estéril foi adicionado a cada poço. O controle negativo foi realizado adicionando-se à microplaca 220 µL de caldo BHI (Oxoid) estéril. A placa foi acondicionada no espectrofotômetro (ThermoFisher, Vantaa, Finlândia) e incubada a 37 °C por 24 horas. O equipamento foi programado para realizar leitura da absorbância (600 nm) a cada uma hora em para dois tratamentos, com e sem agitação. A agitação da placa foi realizada pelo próprio equipamento com velocidade de 5 Hz durante todo o período de incubação. Para o tratamento sem agitação, o equipamento foi programado para realizar agitação de 3 segundos antes de cada leitura na mesma velocidade do tratamento com agitação.

#### *Determinação da atividade de enzimas hidrolíticas*

O teste da atividade amilolítica foi realizado Abdel-fattah *et al.* (2013). Adicionou-se um volume de 1% da cultura ativa em caldo BHI (Oxoid) acrescido de 5 g/L de amido de milho, 5 g/L extrato de levedura, 2,5 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,2 g/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 3 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, e 0,25 g/L

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . As culturas de *Bacillus* foram incubadas por 24 horas na temperatura de 37°C. Após o período de incubação, os tubos foram centrifugados a 4500 rpm por 10 minutos e, então, o sobrenadante foi inoculado em placas de petri contendo ágar BHI (Oxoid) acrescido de 1% de amido (Unilever, Garanhuns, Brasil) e, então, as placas foram incubadas a 32 °C por 24 horas. Passado o tempo de incubação, foi adicionado iodo 1% a placa e realizada a medição dos halos, sendo o resultado positivo um halo de cor clara.

O amido foi gelatinizado antes de ser autoclavado e após ser autoclavado foi misturado ao meio já esterilizado. Após este processo, o meio foi, então, vertido em placas de petri e poços para a aplicação do inóculo foram feitos.

Já para a atividade de enzimas lipolíticas, m volume de 1% da cultura ativa foi adicionada em caldo BHI (Oxoid) acrescido de 2% (v/v) de azeite de oliva, 5 g/L extrato de levedura, 2,5 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,2 g/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , e 0,25 g/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Após incubação a 37°C por 24 horas, os tubos foram centrifugados a 4500 rpm por 10 minutos e foi realizada picada com este sobrenadante em placa de petri adicionada de ágar BHI (Oxoid) suplementado com 1% de Tween 80 (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) adicionado à placa com posterior incubação a 32 °C durante 24 horas. A medição dos halos de hidrólise e o resultado positivo para este teste considerado quando observado presença de halos ao redor das colônias após o período de incubação. Este teste foi realizado de acordo com Merabti *et al.* (2019) com modificações.

O teste para verificação da produção de enzimas proteolíticas por *Bacillus* foi realizado de acordo com Merabti *et al.*, (2019) com modificações. Neste teste, após a primeira ativação em caldo BHI (Oxoid), 1% (v/v) das culturas ativas foram transferidas para caldo BHI (Oxoid) contendo 2% de leite desnatado reconstituído 10% (v/v), 2,5 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,2 g/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , e 0,25 g/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e incubadas a 37 °C por 24 horas.

Após o período de incubação, os tubos foram centrifugados a 4500 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi inoculado nos poços em placas de petri contendo Plate Countar Ágar (PCA) (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) com adição de 10% (v/v) de leite desnatado reconstituído 10% (v/v). As placas foram incubadas por 24 horas a 32 °C e após este período fez-se a medição dos halos positivos.

### *Análises estatísticas*

O efeito dos tratamentos com e sem agitação foi avaliado através do teste T de student com  $p < 0,01$  e com 95% de confiança. Para os micro-organismos dentro de um mesmo tratamento utilizou-se o teste F para verificar a igualdade entre as médias. Os testes foram feitos no programa R (R Core Team, 2015).



## Resultados e Discussão

### *Velocidade específica de crescimento*

A taxa de crescimento dos micro-organismos pode ser descrita em função de diversos parâmetros que podem influenciar o crescimento (GALVÃO; SANTANA; FONTES, 2011). A velocidade de específica de crescimento ( $\mu_{max}$ ) é determinada a partir da inclinação da reta tangente na fase Log do gráfico da curva de crescimento (ROSARIO, 2017).

Através da medida de densidade ótica (D.O) de culturas ativas de *Bacillus*, as velocidades específicas de crescimento foram calculadas e os resultados estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Velocidade específica de crescimento ( $\mu_{max}$ ) de cepas de *Bacillus*

Identificação da cepa	Espécie	Sem agitação		Com agitação	
		$\mu_{max}$	Desvio Padrão	$\mu_{max}$	Desvio Padrão
11 (v1)	<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,959	0,034	1,248	0,055
IPS4 (v1)	<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,951	0,144	1,218	0,111
10 (3)	<i>B. cereus</i>	0,880	0,181	1,075	0,020
MoI 14 (3)	<i>B. cereus</i>	0,704	0,211	1,008	0,026
7 (3)	<i>B. cereus</i>	0,751	0,139	1,320	0,140
79 (v1)	<i>B. cereus</i>	0,847	0,116	1,204	0,068
PAI 15 (v3)	<i>B. proteolyticus</i>	0,938	0,09	1,339	0,401
PAI 4 (1)	<i>B. proteolyticus</i>	1,193	0,107	1,223	0,047
17 (v3)	<i>B. subtilis</i>	0,759	0,357	1,110	0,027
24 (2)	<i>B. subtilis</i>	0,919	0,234	1,209	0,046
4 (2)	<i>B. velezensis</i>	0,976	0,022	1,282	0,036
86 (v1)	<i>B. velezensis</i>	0,673	0,188	0,130	0,100

Fonte: Autores, 2020.

Através do teste F foi possível verificar que não existe diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os valores de velocidade específica de crescimento das cepas de *Bacillus* nos tratamentos (com e sem agitação) analisados. O meio de cultura utilizado e as condições ambientais testadas permitiram a multiplicação das diferentes espécies de *Bacillus*, no entanto a agitação não influenciou no valor de  $\mu_{max}$ . (RABINOVITCH; OLIVEIRA, 2015). Genckal e Tari (2006) demonstraram que o processo

de agitação pode influir positivamente no crescimento de cepas de *Bacillus* sp. através do aumento da taxa de transferência de oxigênio e de nutrientes. A velocidade específica de crescimento, importante parâmetro em estudos de cinética de crescimento dos micro-organismos, é específico de cada cepa microbiana e varia conforme as condições físico-químicas e ambientais utilizadas. A aplicação deste parâmetro possibilita a determinação de melhores condições de multiplicação microbiana e produção de compostos de interesse (LEE, 2015).

#### Atividade enzimática

Na Tabela 3 é possível verificar a medida dos halos para os ensaios de atividade amilolítica, lipolítica e proteolítica.

Tabela 3 - Determinação da atividade enzimática por cepas de *Bacillus*

Identificação das cepas	Espécie	Medida dos halos (cm)		
		Amilolítica	Proteolítica	Lipolítica
4 (2)	<i>B. velezensis</i>	1,3	0,125	0,6
86 (v1)	<i>B. velezensis</i>	1,7	0,45	0,4
10 (3)	<i>B. cereus</i>	1,4	***	1,0
MoI 14 (3)	<i>B. cereus</i>	1,5	***	1,0
24 (2)	<i>B. subtilis</i>	0,0	***	0,0
17 (v3)	<i>B. subtilis</i>	0,9	***	0,4
PAI 15	<i>B. proteolyticus</i>	0,9	***	0,0
PAI 4 (1)	<i>B. proteolyticus</i>	1,5	0,575	1,0
79 (v1)	<i>B. licheniformes</i>	0,0	0,775	0,0
7 (3)	<i>B. licheniformes</i>	1,2	***	0,0
IPS4 V1	<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,9	***	0,9
11 v1	<i>B. amyloliquefaciens</i>	1,1	***	0,6

Fonte: Dos autores, 2020.

Através dos resultados encontrados para a análise de atividade da enzima amilase (produção de amilase) disponíveis na Tabela 3, pode-se perceber que as cepas 79 (v1) (*B. licheniformes*) e 24 (2) (*B. subtilis*) não apresentaram capacidade de hidrolisar amido. Adicionalmente, foi verificado que cepas de mesma espécie, cepa 79 (v1) e 7 (3), pertencentes a espécie *B. licheniformes*, apresentaram resultados diferentes, demonstrando que a capacidade de produção da enzima pode ser cepa-dependente. Wu *et al.* (2018) identificaram a produção de  $\alpha$ -amilase por *B. licheniformes*. Além disso, a enzima identificada, pelos pesquisadores, demonstrou resistência a baixos valores de pH e a estabilidade a temperatura, indicando que esta enzima apresenta propriedades promissoras para sua utilização nas indústrias de processamento de amido e outras indústrias alimentícias.

Em nosso estudo, as cepas de *B. subtilis* demonstram notável diferença com relação a produção de amilase. Resultados similares foram identificados por Elumalai *et al.* (2019), que demonstraram que cepas de *B. subtilis* hidrolisaram diversas fontes de amidos, como amido de milho, amido de batata, amido de trigo, além de diversas outras fontes. Complementarmente, foi descrito aumento da performance na produção de enzimas amilolíticas quando meio continha íons, como o  $\text{Na}^+$ . Estudos realizados por outros pesquisadores demonstram a capacidade de produção de amilases por bactérias das mesmas espécies testadas no nosso estudo. Vaikundamoorthy *et al.* (2018) verificaram a produção de amilases por cepas de *B. cereus* isolados de ambiente marítimo e evidenciou que estas amilases poderiam ser utilizadas como um composto eficiente para evitar a formação de biofilme. Chaudhary *et al.* (2019) também reportaram uma boa produção de amilase por *B. cereus* isolados de nascentes de água quente na Índia. A produção de amilase por cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* também vai de acordo com estudos anteriores que relatam uma boa produção de enzimas por estirpes desta bactéria (DEB *et al.*, 2013; TANYILDIZI; ÖZER; ELIBOL, 2007). Estes estudos também relatam a importância da composição do meio e da temperatura a que os microrganismos são expostos para produção desta enzima. Bhatt *et al.* (2020) em seu estudo relatam uma produção eficiente de amilase por estirpes do gênero *B. velezensis* a partir de resíduos agrícolas o que vai de encontro com o presente estudo que também evidenciou a produção dessas enzimas pela mesma espécie.

Quanto a atividade lipolítica, as cepas 4(2), 86 (v1), PAI 4 (1) e 79 (v1), demonstraram capacidade de produzir lipases, confirmado pela medição dos halos de hidrólise (Tabela 3) em meio de cultura específico. Diversos estudos vêm mostrando a habilidade de cepas de *Bacillus* de produzirem lipases. Shaoxin, Lili e Bingzhao, (2007) relataram a purificação de enzimas lipolíticas produzidas por cepas de *B. cereus*. Segundo os autores este foi o primeiro relato de lipases produzidos por *B. cereus*. Para *B. subtilis* e *B. licheniformes*, também já houve relatos da produção de enzimas lipolíticas por estudos anteriores (LESUISSE, SCHANCK e COLSON, 1993; MA *et al.*, 2006;

NTHANGENI *et al.*, 2001). Adicionalmente, foi descrito que estas enzimas produzidas por *Bacillus* apresentam estabilidade térmica, possibilitando seu uso em indústrias.

Durante a realização das análises para verificação de atividade lipolítica, a identificação e medição dos halos de hidrólise para as cepas pertencentes a espécie *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, PAI 15 da espécie *B. proteolyticus* e a cepa 7 (3) pertencente a espécie *B. licheniformes* foi considerada inconclusivo devido a formação de colônias bacterianas sobre a superfície da placa impedindo a visualização dos halos de hidrólise, sendo assim, são necessários mais estudos com a finalidade de definir a melhor metodologia para verificação de produção de lipases por estes micro-organismos.

Baseado na determinação de halos proveniente da hidrólise do ágar leite apresentadas na Tabela 3 é possível perceber que as cepas da espécie *B. licheniformes* 79 (v1) e 7(3) não apresentaram produção de proteases nas condições empregadas nesse estudo. Hadjidj *et al.* (2018) demonstraram em seu estudo que a cepa *B. licheniformis* K7A demonstrou capacidade de produção de proteases. Neste estudo, a bactéria foi exposta a um meio de cultura com diferentes componentes para comparar sua atividade proteolítica e foi observado perceber que as condições de produção ao qual as estirpes foram expostas podem alterar a produção das enzimas, comprovando que as condições ambientais e o substrato disponível podem interferir na produção de enzimas. Salem *et al.* (2016) confirmaram pela técnica de eletroforese a produção de proteases por *B. licheniformis*.

No nosso estudo, a produção de proteases não foi comprovada para uma das cepas e *B. subtilis* (24 (2)). Por outro lado, foi observado um halo de hidrólise de 0,4 cm para a cepa 17 (v3), mostrando que a produção de uma determinada enzima pode ser dependente da capacidade metabólica de cada cepa e não necessariamente relacionada diretamente à espécie. Resultado semelhante foi observado para as cepas de *B. proteolyticus*. Diversos estudo tem observado produção de proteases para estas espécies. Si *et al.* (2018) comprovam a produção de proteases pela cepa *B. subtilis* FBL-1 e sua potencial aplicação na indústria. E Bhaskar *et al.* (2007) mostraram que *Bacillus proteolyticus* CFR3001 é capaz de produzir proteases com potencial aplicação na agricultura.

Por fim, *B. cereus*, *B. velezensis* e *B. amyloliquefaciens* analisadas apresentaram produção de proteases, com medição de halos semelhantes nas duas cepas da mesma espécie.

## Conclusão

Através dos testes realizados, no presente estudo foi possível perceber que as espécies do gênero *Bacillus* isoladas de leite UHT podem apresentar potencial tecnológico quanto a produção de enzimas para aplicação industrial. No entanto, são necessários mais estudos com o intuito de

determinar as condições ótimas de produção, bem como conhecer a estrutura química destes compostos, suas condições de aplicação, seguridade e assim futuramente verificar sua aplicação em processos industriais.

## Referências

ABDEL-FATTAH, Y. R. *et al.* Production, Purification, and characterization of Thermostable  $\alpha$ -Amylase Produced by *Bacillus licheniformis* Isolate AI20. **Journal of Chemistry**, v. 13, 2013.

AIRES, G. S. B. **Avaliação de diferentes tratamentos térmicos e condições de embalagem sobre a vida-de-prateleira do leite fluido com ênfase no julgamento de defeitos de sabor.** 2007. 202f. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

BHASKAR, N. *et al.* Partial purification and characterization of protease of *Bacillus proteolyticus* CFR3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 14, p. 2758-2764, 2007.

BHATT, K.; LAL, S.; RAMAKRISHNAN, S.; JOSHI, B. Bioconversion of agriculture wastes to produce  $\alpha$ -amylase from *Bacillus velezensis* KB 2216: Purification and characterization. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 28, p. 101703 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT (UHT). Anexo XI - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1996.

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 do leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta do leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 dez. 2011, n. 251, p. 6-11. Seção1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 38 de 19 de abril de 2018. Aprova o Regulamento Técnico De Identidade E Qualidade De Leite Cru Refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2018.

CHAUD, L.; ARRUDA, P.; FELIPE, M. Considerações sobre a produção microbiana e aplicações de proteases. **Nucleus**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2007.

CHAUDHARY, M. *et al.* Original article Partial purification, immobilization and characterization of amylase produced from *Bacillus cereus*. **Annals of Phytomedicine: An International Journal**, v. 8, n. 1, p. 153-159, 2019.

CIOGLIA, C. R.; DE FREITAS, M. T. Qualidade microbiológica de leites UHT comercializados na cidade de Ouro Preto, MG. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 74, 2017.



COCA, B. C. C. **Otimização da produção e caracterização de  $\alpha$ -amilase produzida por *Bacillus amyloliquefaciens***. 2019. 103f. Trabalho de conclusão de curso (Pós-graduação) – Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, 2019.

CONTESINI F. J.; MELO, R. R.; SATO, H. H. An overview of *Bacillus* proteases: from production to application. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 321-334, 2018.

DEB, P. *et al.* Production and partial characterization of extracellular amylase enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* P-001. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2013.

DE ANDRADE PAULO, I.; MONTANHINI, M. T. M.; RIBEIRO, L. F. Consequência da presença de bactérias psicrotróficas em leite e derivados. **Revista GeTeC**, v. 10, n. 25, 2021.

ELUMALAI, P. *et al.* Enhanced amylase production by a *Bacillus subtilis* strain under blue light-emitting diodes. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 49, n. 2, p. 143-150, 2019.

GALVÃO, R. M., SANTANA, T. S., C. H. O. FONTES, E. A. S. Estudo da Taxa de Crescimento de Microorganismos e Proposta de Modelo para Produção de Biomassa de *Haematococcus pluvialis*. **3<sup>rd</sup> International Workshop**, São Paulo, 2011.

GENCKAL, H.; TARI, C. Alkaline protease production from alkalophilic *Bacillus* sp. isolated from natural habitats. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 4, p. 703-710, 2006.

HADJIDJ, R. *et al.* Purification, biochemical, and molecular characterization of novel protease from *Bacillus licheniformis* strain K7A. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1033-1048, 2018.

IQBAL, S. A.; REHMAN, A. Characterization of lipase from *Bacillus subtilis* I-4 and its potential use in oil contaminated wastewater. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 5, p. 789-797, 2015.

LAGO, N. C. M. DE R. **Bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite e estudo enterotoxigênico das cepas isoladas**. 2002. 83f. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, São Paulo, 2002.

LESUISSE, E.; SCHANCK, K.; COLSON, C. Purification and preliminary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme. **European Journal of Biochemistry**, v. 216, n. 1, p. 155-160, 1993.

LEE, B. H. Fundamentals of food biotechnology, 2. ed.: **Wiley-Blackwell**, 2015.

MA, J. *et al.* Overexpression and characterization of a lipase from *Bacillus subtilis*. **Protein Expression and Purification**, v. 45, n. 1, p. 22-29, 2006.

MAHMOUDIAN, M. Biocatalytic Production of Chiral Pharmaceutical Intermediates. **Biocatalysis and Biotransformation**, v.18, n.2, p. 105-118, 2009.

MERABTI, R. *et al.* First Insight into the Technological Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Fermented Wheat Lemzeiet. **Current Microbiology**, v. 76, n. 10, p. 1095-1104, 2019.

MESSIAS, J. M. *et al.* Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

MOREIRA, I. M. F. B. **Microbiological quality of Brazilian UHT milk and genetic biodiversity of sporulated bacteria.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2019, 74 p.

NTHANGENI, M. B. *et al.* Over-expression and properties of a purified recombinant *Bacillus licheniformis* lipase: A comparative report on Bacillus lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, n. 7-8, p. 705-712, 2001.

ÖZER, M. S.; ELIBOL, D. M. Production of bacterial  $\alpha$ -amylase by *B. amyloliquefaciens* under solid substrate fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 3, p. 294-297, 2007.

PINTO, C. L. O. *et al.* Microbiological quality of Brazilian UHT milk: Identification and spoilage potential of spore-forming bacteria. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 1, p. 20-26, 2018.

R CORE TEAM (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RABINOVITCH, L.; OLIVEIRA, E. J. DE. Coletânea de procedimentos técnicos e metodologias empregadas para o estudo de Bacillus e gêneros esporulados aeróbios correlatos. **Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 2015.

ROSARIO, C. G. A. **Avaliação da degradação bacteriana de cianeto usando cepas isoladas de rejeito de mineração.** Dissertação (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. 130 p.

SALEM, R. B. *et al.* Thermophilic *Bacillus licheniformis* rbs 5 isolated from hot tunisian spring co-producing alkaline and thermostable  $\alpha$ -amylase and protease enzymes. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.5, n.6, 2016.

SEQUETTO, P. L. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais da zona da mata mineira. **Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável**, v.7, n. 1, 2017.

SHAOXIN, C.; LILI, Q.; BINGZHAO, S. Purification and properties of enantioselective lipase from a newly isolated *Bacillus cereus* C71. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 988-994, 2007.

SI, J. *et al.* Purification and Characterization of Microbial Protease Produced Extracellularly from *Bacillus subtilis* FBL-1. **Biotchnology and Bioprocess Engineering**, v. 23, p. 176-182, 2018.

SLEPECKY, R. A.; HEMPHILL, H. E. The Genus Bacillus—Nonmedical. **Prokaryotes**, v. 4, p. 530-562, 2006.

SOUZA, E. F. DE. **Aplicação de proteases e amilases produzidas por bacillus sp. smia-2 na remoção de manchas de tecidos.** 2012. 60f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo do Goytacazes, 2012.

SOUZA, M. W. *et al.* Emprego Do Carvão Ativado E De Uma Protease Do *Bacillus Subtilis* Na Obtenção De Hidrolisados Proteicos De Leite Com Baixo Teor De Fenilalanina\*. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n.1, p. 37-46, 2010.

SOUZA, L. M. DE. **Boas práticas agropecuárias voltadas ao manejo de ordenha e seu impacto na qualidade do leite: uma revisão de literatura**. 2017. 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.

TAMIME, A. Y. Milk Processing and Quality Management. **Wiley-Blackwell**, 2009.

TIIMUB, B. M. *et al.* Public Health Risk of Cow Milk Microbial Contamination Versus Hygiene Habits Impact Analyses of Cow Milkers. **EAS J Parasitol Infect Dis**, v.2, p. 51-59, 2020.

TAVARES, L. L. P. **Produção de lipases por *Bacillus Licheniformes* (UCP 1014) a partir de meios a base de resíduos da indústria de sorvete**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2011.

VAIKUNDAMOORTHY, R. *et al.* Development of thermostable amylase enzyme from *Bacillus cereus* for potential antibiofilm activity. **Bioorganic Chemistry**, v. 77, p. 494-506, 2018.

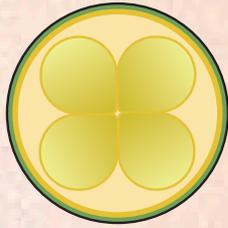
VIDAL-MARTINS, A. M. C.; ROSSI, O. D.; REZENDE-LAGO, N. C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 396-400, 2005.

VIDAL, A. M. C. *et al.* Detection of *Bacillus cereus* isolated during ultrahigh temperature milk production flowchart through random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, p. 286-292, 2015.

VIDAL, A. M. C. NETTO, A. S. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. Pirassununga: Ed. USP, 2018.

WU, X. *et al.* Purification and biochemical characterization of a thermostable and acid-stable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* B4-423. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 329-337, 2018.

YE, M. *et al.* Characteristic and application of a novel species of *Bacillus*: *Bacillus velezensis*. **ACS Chemical Biology**, v.13, n.3, p. 500-505, 2018.



# SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia  
de Alimentos

[www.simeali.com](http://www.simeali.com)

ORGANIZAÇÃO:

**ICA**  
INSTITUTO  
DE CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS

**UFMG**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE MINAS GERAIS

APOIO:



ISBN: 978-65-88389-11-9

