



UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO DE JANEIRO



**AVALIAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E  
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM UMA INDÚSTRIA DE  
TAPIOCA.**

ALOYSIO BESSA GUILHERME

RIO DE JANEIRO

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
ESCOLA DE QUÍMICA – CENTRO DE TECNOLOGIA

AVALIAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E  
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM UMA INDÚSTRIA DE TAPIOCA.

ALOYSIO BESSA GUILHERME

Projeto Final de Curso submetido ao  
Corpo Docente da Escola de Química,  
da Universidade Federal do Rio de  
Janeiro, como parte dos requisitos  
necessários à obtenção do grau de  
bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadoras:

Prof<sup>a</sup> Karen Signori Pereira, D.Sc.

Prof<sup>a</sup> Marselle Marmo do Nascimento Silva, D.Sc.

RIO DE JANEIRO

2021

# AVALIAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM UMA INDÚSTRIA DE TAPIOCA.

Projeto Final de Curso apresentado à banca examinadora na Escola de Química/UFRJ, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Aprovado por:

---

Orientadora: Karen Signori Pereira, D.Sc.

---

Orientadora: Marselle Marmo do Nascimento Silva, D.Sc.

Banca Examinadora:

---

Prof.

---

Prof.

---

Prof.

## **AGRADECIMENTOS**

A meus pais, Janete Bessa e Aloysio do Carmo, meus irmãos Camila, Leonardo e Lucas e à Luciene França pelo apoio incondicional durante tantos anos.

A todos os meus amigos, feitos ao longo da vida e na faculdade, que muitas vezes trouxeram o incentivo necessário para continuar progredindo.

A UFRJ e a EQ, seu corpo docente e direção pela oportunidade de cursar engenharia de alimentos.

Ao técnico do laboratório, João, por toda ajuda ao longo dos experimentos.

E especialmente as minhas orientadoras professora Karen Signori e professora Marselle Marmo pela eterna paciência, profissionalismo e incentivo.

Sem vocês nada disso seria possível.

Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

## **AVALIAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM UMA INDÚSTRIA DE TAPIOCA.**

As boas práticas na fabricação de alimentos são essenciais para garantir a segurança do produto, algo muito importante para o estabelecimento e fortalecimento de uma indústria. Este trabalho teve como objetivo utilizar um *checklist*, uma ferramenta da qualidade derivado do apresentado pela RDC 275/2002 da ANVISA, para fazer uma avaliação do nível de operação, de uma indústria de tapioca (goma de mandioca hidratada). O resultado final apresentou um índice de conformidade de apenas 36%, classificando a indústria como ruim, tendo ainda como piores classificações os subgrupos relacionados a equipamentos, móveis e utensílios com índice de 23% de conformidade, produção e transporte com índice de 24% de conformidade e documentação com índice de 22% de conformidade.

Foram cedidas amostras que apresentavam deterioração (estufamento) precoce para serem analisadas quanto a presença e tipos de microrganismos, em que foi utilizada uma legislação antiga (e já revogada) para comparação, visto que não existe legislação sobre limites desses microrganismos nesse tipo de alimento, estando todas as amostras analisadas dentro dos limites previstos, porém houve identificação de *Escherichia coli* e bactérias dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*, que também podem ser de origem fecal, constatando uma necessidade de revisão higiênico-sanitária nos procedimentos de fabricação. Além disso foram identificados microrganismos comumente deterioradores de alimentos, incluindo leveduras e alguns tipos de bactérias, indicando a necessidade do uso de conservantes para sua inibição.

Foi ainda feita análise e comparação a partir de amostras de produtos deteriorados e produtos em boas condições de atividade de água, encontrando-se respectivamente os valores 0,954 e 0,942, considerados altos, mas que representam a natureza do produto (hidratado); e valores de pH iguais a, respectivamente, 3,93 e 3,89, valores abaixo dos encontrados em outros estudos, sugerindo problemas na padronização do produto ou adição não declarada de acidulantes e/ou conservantes.

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de obtenção da fécula.....	12
Figura 2 - Fluxograma de produção da goma hidratada .....	13
Figura 3 - Esquemático do filtro rotativo a vácuo .....	14
Figura 4 – Gráfico de evolução da produção de raiz de mandioca no Brasil .....	15
Figura 5 – Gráfico de evolução da balança comercial – Fécula de mandioca (US\$ FOB).....	16
Figura 6 - Placas de Petrifilm®.....	21
Figura 7 - Modelo esquemático do funcionamento do MALDI-TOF .....	23
Figura 8 - Analisador de atividade de água.....	24
Figura 9 - Jarra de anaerobiose (a) e sachê com pastilha indicadora (b) .....	29
Figura 10 - Fluxo laminar contendo balança e diluições.....	30
Figura 11 - Petrifilms® na lupa iluminada para contagem .....	31
Figura 12 - Técnica de esgotamento por estrias .....	32
Figura 13 - Coloração por Gram (a) e por Lactofenol (b).....	33
Figura 14 - Analisador de atividade de água em processo (a) e estável (b).....	34
Figura 15 - Desenho esquemático da fábrica visitada.....	36
Figura 16 - Placa de MRS incontável na lupa iluminada.....	49

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Limites de tolerância para derivados da raiz de mandioca.....	18
Tabela 2 – Padrões microbiológicos para derivados de féculas.....	19
Tabela 3 – Identificação das amostras.....	27
Tabela 4 - Análises aplicadas.....	28
Tabela 5 - Meios de inoculação e diluições por amostra .....	30
Tabela 6 - Checklist de edificações e instalações.....	37
Tabela 7 - Checklist de equipamentos, móveis e utensílios.....	40
Tabela 8 - Checklist de manipuladores.....	42
Tabela 9 - Checklist de produção e transporte .....	44
Tabela 10 - Checklist de documentação.....	46
Tabela 11 - Checklist de avaliação geral .....	47
Tabela 12 - Intervalo de contagens médias por lote .....	48
Tabela 13 - Microrganismos identificados com pontuação acima de 1.999 .....	50
Tabela 14 - Microrganismos identificados com pontuação entre 1.700 e 1.999 .....	51
Tabela 15 - Valores de atividade de água do lote 5.....	52
Tabela 16 - Valores de atividade de água do lote 6.....	52
Tabela 17 - Valores de pH de amostras do lote 5 .....	53
Tabela 18 - Valores de pH de amostras do lote 6 .....	53

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 .....	9
1. INTRODUÇÃO .....	9
1.1. Objetivos gerais .....	10
1.2. Objetivos específicos .....	10
1.3. Justificativa .....	10
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	11
2.1. Definição .....	11
2.2. Histórico .....	11
2.3. Produção Industrial .....	12
2.3.1. Obtenção da Fécula .....	12
2.3.2. Produção da goma hidratada .....	13
2.4. Mercado .....	14
2.4.1. Mandioca .....	14
2.4.2. Fécula de Mandioca .....	15
2.5. Qualidade e Segurança de Alimentos .....	16
2.5.1. Boas Práticas de Fabricação .....	17
2.5.1.1. <i>Checklist</i> .....	17
2.6. Padrões e análises microbiológicas .....	18
2.6.1. Microrganismos deterioradores .....	20
2.6.2. Plaqueamento em profundidade e em superfície .....	20
2.6.3. Placas de <i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> .....	21
2.7. Métodos de identificação .....	21
2.7.1. Coloração de Gram (método de Hucker) .....	21
2.7.2. Coloração com Lactofenol Azul Algodão .....	22
2.7.3. Espectrometria de Massa (MALDI-TOF) .....	22
2.8. Determinação da atividade de água .....	23
2.9. Determinação do pH .....	24
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
3.1. Aplicação do <i>checklist</i> .....	26
3.2. Identificação das amostras .....	26
3.3. Análises Microbiológicas .....	27
3.3.1 – Preparo de placas .....	28
3.3.2 – Diluições e inoculação de microrganismos .....	30

3.3.3 – Contagem de microrganismos.....	31
3.3.4. Identificação de microrganismos.....	31
3.3.4.1. Coloração de Gram (método de Hucker) e Lactofenol Azul Algodão.....	32
3.3.4.2. MALDI-TOF .....	33
3.4. Determinação da atividade de água .....	34
3.5. Determinação do pH.....	35
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1. Aplicação do <i>checklist</i> .....	36
4.1.1. Edificações e instalações (bloco 1).....	36
4.1.2. Equipamentos, móveis e utensílios (bloco 2).....	40
4.1.3. Manipuladores (bloco 3) .....	42
4.1.4. Produção e transporte (bloco 4) .....	44
4.1.5. Documentação (bloco 5).....	46
4.1.6. Avaliação geral .....	47
4.2. Análises Microbiológicas.....	48
4.2.1. Contagem total, enterobactérias e DRBC.....	48
4.2.2. Microrganismos identificados por MALDI-TOF .....	50
4.3. Determinação da atividade de água .....	52
4.4. Determinação do pH.....	53
CAPÍTULO 5.....	55
5. Conclusão.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56
APÊNDICE A – <i>CHECKLIST</i> APLICADO.....	61
APÊNDICE B – MÉDIAS DE CONTAGENS ESPECÍFICAS POR AMOSTRA E LOTE .....	73

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

Há alguns anos, se espalhou pelo Brasil um prato típico das regiões Norte e Nordeste. A tapioca venceu as barreiras regionais e hoje pode ser encontrada em quase qualquer supermercado de todo o país, sendo um prato de simples preparo, sem um custo muito elevado e com características nutricionais interessantes. O nível calórico menos elevado (100g de tapioca tem cerca de 120 kcal contra 280 kcal em 100g de pão francês), a ausência de glúten e de gorduras tornou a tapioca uma escolha certa para quem está mudando os hábitos alimentares, porém é importante frisar que, assim como qualquer alimento, é ideal que essas mudanças sejam acompanhadas por um(a) nutricionista (PROTESTE SAÚDE, 2016).

Por ser um produto industrializado relativamente novo, a inexistência de uma legislação específica sobre o padrão de qualidade do produto e, portanto, de uma fiscalização mais assertiva, gera inconsistências entre as várias marcas comercializadas. Por vezes rótulos possuem informações inconsistentes sobre a presença e quantidade de ingredientes e também há variação no nível de presença de microrganismos (PROTESTE SAÚDE, 2017).

A adequação de uma indústria para conseguir o melhor resultado na fabricação de seu produto depende de muitos fatores que podem passar despercebidos. Para superar essas barreiras, a utilização de ferramentas de qualidade pode ser um caminho simples e muito eficiente, direcionando investimentos para onde mais são necessários.

Proteger a saúde do consumidor é claramente um dos objetivos mais importantes dentro da indústria de alimentos. Também importante é garantir a estabilidade e durabilidade do produto, visto que problemas, mesmo que não nocivos à saúde, podem causar afastamento e perda de confiança dos consumidores, gerando não só o enfraquecimento da marca, como também uma diminuição no aporte financeiro, podendo eventualmente levar à necessidade de encerrar as atividades da mesma.

### 1.1. Objetivos gerais

O trabalho teve como objetivo analisar a planta de processamento de uma fábrica de fécula de mandioca hidratada de médio porte, localizada no Rio de Janeiro, a fim de determinar pontos críticos que poderiam estar interferindo na durabilidade do produto, bem como determinar as áreas que necessitam de ajustes para se enquadrar dentro da legislação vigente e ainda analisar as amostras de tapioca deterioradas (estufadas), visando encontrar o nível de contaminação microbiológica, bem como determinar os microrganismos deterioradores, determinar parâmetros de caracterização do produto deteriorado e do produto em condições de consumo.

### 1.2. Objetivos específicos

- Aplicação de *checklist* na fábrica de fécula de mandioca hidratada visando obter um diagnóstico;
- Realizar análises de contagem microbiológica dos produtos deteriorados;
- Identificar as morfologias, classificando os microrganismos isolados como bactérias, leveduras ou fungo filamentosos, e através de espectrometria de massa (MALDI-TOF) identificar o gênero e espécie dos microrganismos;
- Determinar a atividade de água e o pH do produto deteriorado e do produto em condições normais.

### 1.3. Justificativa

O controle de qualidade é um dos pontos mais críticos na indústria de alimentos. Garantir a segurança do consumidor, bem como um bom aspecto físico do produto são fatores-chave na sobrevivência de qualquer empresa. Por muitas vezes um problema nessa área, principalmente se houver danos à saúde do consumidor, pode significar o fim da empresa, mas mesmo problemas que gerem, por exemplo, apenas o recolhimento e descarte do produto, podem causar grandes danos à imagem e às finanças da mesma (Colleto, 2012).

## CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Definição

A popularização do termo tapioca, originalmente referindo-se ao produto final pronto para consumo, gerou uma espécie de metonímia, fazendo com que o termo seja amplamente utilizado para se referir tanto a produtos prontos derivados de mandioca, como em rótulos e propagandas comerciais de produtos industrializados. O termo correto para definir o produto com o qual estamos trabalhando é *goma de mandioca hidratada*, ou seja, trata-se de fécula de mandioca à qual foi previamente adicionada água.

### 2.2. Histórico

Segundo Mattos et al. (2006), a mandioca é uma planta de origem sul-americana que vem sendo cultivada pelos povos nativos do continente. Devido a sua origem de uma região tropical, seu desenvolvimento encontra boas condições em climas tropicais e subtropicais.

Existem estudos datando a domesticação da mandioca por nativos do continente americano em mais de 8 mil anos antes do século XV, quando os europeus chegaram ao continente (Silva et al., 2014). Ao longo desse tempo, seu cultivo foi disseminado principalmente na América do Sul, o que tornou a mandioca um dos principais alimentos consumidos pelos nativos.

Porém, durante o século XX, a importância da mandioca como base alimentar de grandes civilizações foi ignorada pelos historiadores europeus, sendo regularmente referida como base de culturas selvagens, primitivas e regularmente medíocres.

Apenas os historiadores que se aprofundaram em lugares como o Brasil, por exemplo, conseguiram enxergar o tamanho da contribuição da mandioca como alimento básico para cerca de 800 milhões de habitantes da zona tropical. Tendo ainda em vista que os próprios nativos desenvolveram a técnica agrícola de valiosas plantas comestíveis como milho, batata, mandioca e várias leguminosas, foi concluído que essas contribuições tiveram participação ativa no desenvolvimento que gerou o surgimento da civilização moderna (Rodrigues, 2017).

A técnica desenvolvida pelos nativos é chamada de agricultura de coivara, ou ainda, agricultura de corte e queima, onde são utilizadas cinzas de matéria vegetal queimada da Floresta como forma de fornecer nutrientes ao solo (Silva et al., 2014).

Interessante ressaltar que, no Brasil, o plantio, colheita e processamento eram tarefas exclusivas das mulheres nativas. Após colhida, o processamento primário da mandioca consistia em curtir a mesma em água pelo período de 3 a 4 dias, sendo então espremida em uma espécie de tela rudimentar, de modo a separar todo o veneno contido. A raiz era então descascada, ralada e, posteriormente, a massa era espremida. As mulheres então a cozinhavam em frigideiras de barro, de modo a gerar dois tipos de farinha, uma mais dura e resistente, mais utilizada durante viagens e expedições guerreiras e uma menos cozida e mais macia, geralmente utilizada para consumo imediato (Rodrigues, 2017).

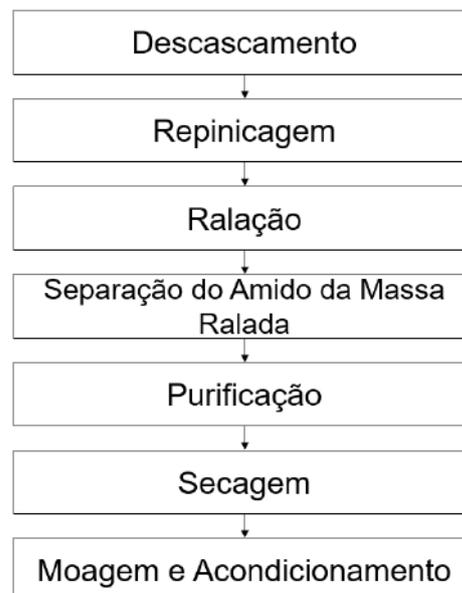
Entre as formas de preparo da farinha para consumo imediato, já existia a confecção de “panquecas” da massa previamente hidratada e aquecida nas grandes frigideiras de barro, ou seja, desde épocas muito antigas, a tapioca já era um prato consumido pelos indígenas (Rodrigues, 2017).

## 2.3. Produção Industrial

### 2.3.1. Obtenção da Fécula

O processamento da mandioca a fim de obter a fécula segue como demonstrado no fluxograma da Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma de obtenção da fécula



Fonte: Fernandes et al., 1995

O processo descrito pelo manual do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1995), diz que as raízes recém chegadas do campo são acompanhadas de muitas sujidades

como terra e pedras, por isso inicialmente são colocadas em lavadores-depedradores, que eliminam as camadas de sujeira, separam outros materiais que estejam presentes e ainda promovem o descascamento das raízes.

Por conta do formato irregular entre elas, é necessária uma operação chamada repinicagem para eliminar sujidades e cascas que permaneçam nas raízes. Segue-se então para uma operação de ralação que gera uma massa de menor granulometria.

A próxima operação é a separação da fécula, onde a massa proveniente dos raladores é encaminhada para um tanque agitador através de peneiras vibratórias e realizando em cada estágio uma lavagem e separação da fécula. Ela é então encaminhada para separadores centrífugos de pratos que resultam na concentração do leite de fécula, que segue para filtros rotativos a vácuo.

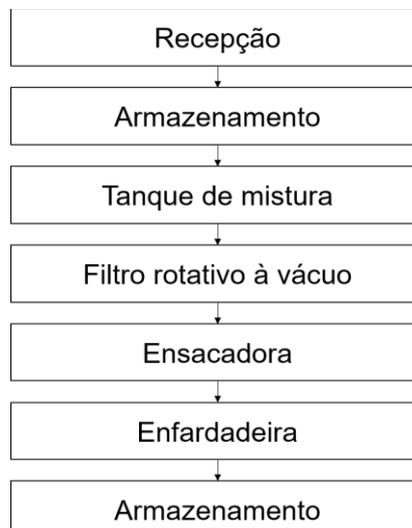
O material proveniente do filtro, que acaba se esfarelado pela própria raspagem do filtro, segue para um secador pneumático, recebendo ar quente a 100-110°C em corrente paralela. Por fim a fécula é recuperada em ciclones e seguem para o ensacamento.

Uma indústria de grande capacidade e com instalações adequadas para o processo consegue um aproveitamento de mais de 90% de fécula retirada das raízes de mandioca.

### 2.3.2. Produção da goma hidratada

O processo é bem simples e semelhante a determinada parte do próprio processo de obtenção da fécula, estando demonstrado no fluxograma da Figura 2.

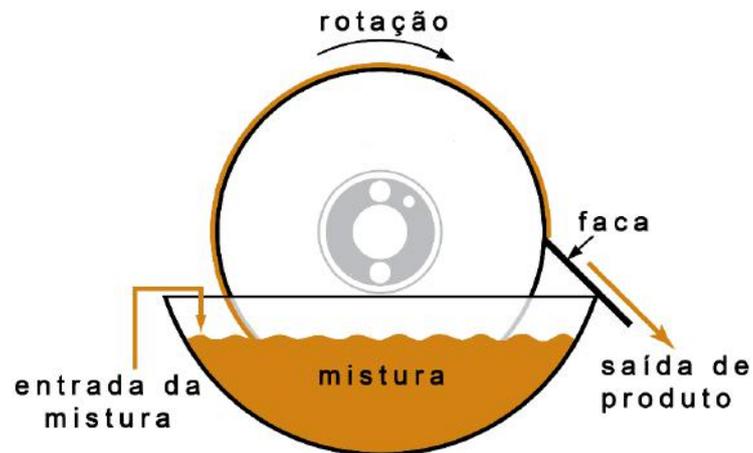
Figura 2 - Fluxograma de produção da goma hidratada



Fonte: O autor.

A fécula é recebida em grandes sacos e armazenada na área de estocagem de matérias primas. Para iniciar o processo, a fécula é adicionada ao tanque com agitação já contendo água, permanecendo em mistura por um tempo pré-determinado. Sendo então bombeada para o filtro rotativo a vácuo que é envolto por um tecido, onde se elimina o excesso de água através da sucção a vácuo (Figura 3), fazendo com que seja criada uma camada de massa do produto sobre o tecido.

Figura 3 - Esquemático do filtro rotativo a vácuo



Fonte: O autor.

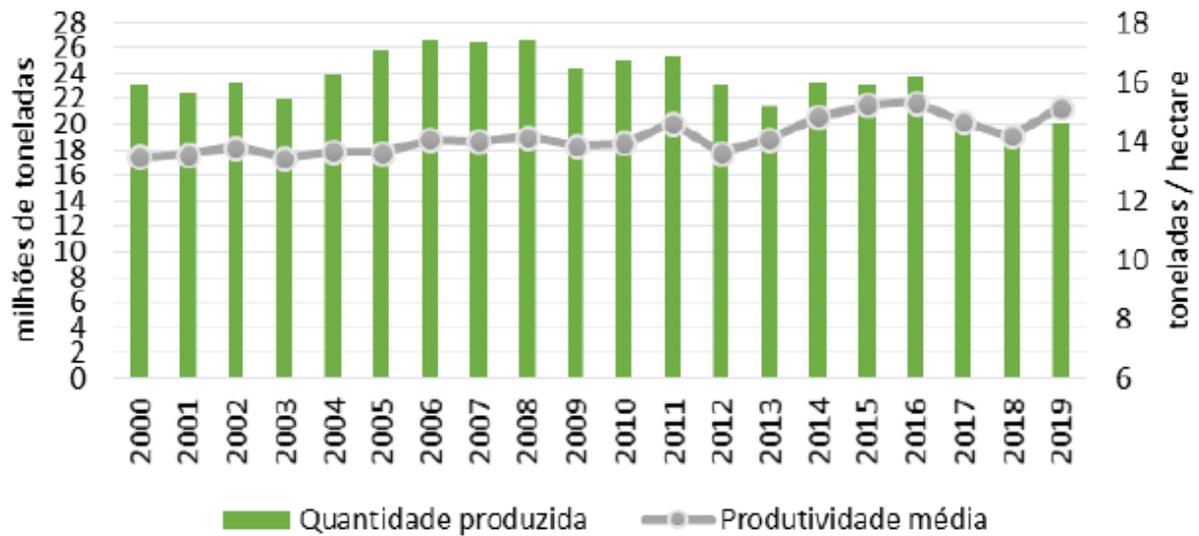
A massa é então raspada do tecido por uma faca, caindo num recipiente acoplado ao tanque com sistema de rosca infinita que despeja o produto em uma pequena esteira, levando-o até a ensacadora. Após ensacados, os pacotes são levados a uma nova esteira que os encaminham para a enfardadeira. Os fardos são, finalmente, encaminhados para a área de armazenamento de produtos finalizados.

## 2.4. Mercado

### 2.4.1. Mandioca

Segundo dados do IBGE (julho/2019), foi estimada uma produção nacional para o ano de 2019 de cerca de 20,1 milhões de toneladas da raiz de mandioca, subindo quase 4% de uma produção de 19,39 milhões de toneladas em 2018. O gráfico na Figura 4 demonstra a evolução da quantidade produzida nos últimos anos.

Figura 4 – Gráfico de evolução da produção de raiz de mandioca no Brasil



Fonte: IBGE, Julho/2019

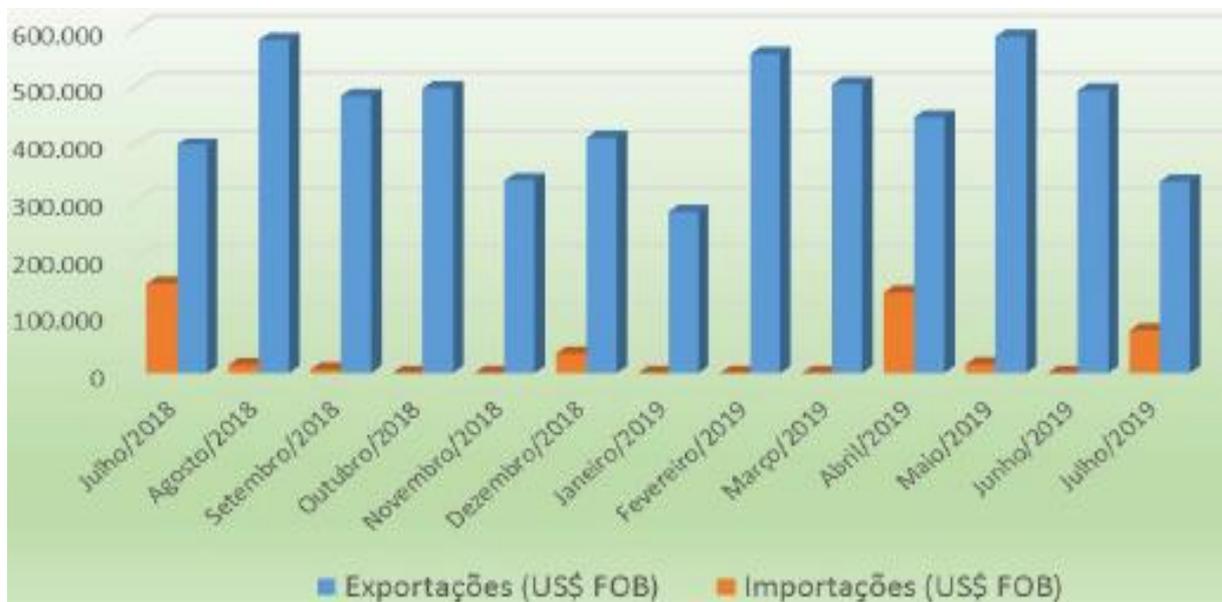
No quesito de produção, a região norte é a com maior produção de mandioca, sendo responsável por 36,1% da safra. Na sequência temos a região nordeste com 25,1% e então a região sul com 22,1% da produção nacional. A região nordeste possuía tradicionalmente a maior produção, porém por volta de 2010, com queda na produção local, perdeu o posto para a região norte, onde houve um aumento de produção (IBGE, 2017).

#### 2.4.2. Fécula de Mandioca

Dados da Conab de julho de 2019, demonstraram que o mercado da fécula teve bastante movimento e boa liquidez, fazendo com que a indústria conseguisse repassar o aumento da matéria-prima, tal cenário favoreceu as fecularias, que conseguiram ainda aumentar a produção.

Mesmo fechando com saldo positivo, o mês apresentou o pior desempenho da balança comercial de fécula de mandioca dos últimos 12 meses. O maior comprador da fécula nacional foi a Bolívia, seguida dos Estados Unidos e então Portugal. Entretanto, houve um volume de importação expressivo vindo da Tailândia (Figura 5).

Figura 5 – Gráfico de evolução da balança comercial – Fécula de mandioca (US\$ FOB)



Fonte: Relatório da Conab (Julho, 2019)

## 2.5. Qualidade e Segurança de Alimentos

A ideia geral de qualidade remete a dois pontos: qualidade percebida, ou seja, o conjunto de atributos físicos e sensoriais identificáveis pelo consumidor, e qualidade intrínseca, ou seja, a segurança do consumo de determinado produto (Colleto, 2012).

Existem cerca de 250 tipos de doenças transmitidas através de alimentos, majoritariamente por conta de microrganismos patogênicos, gerando grandes problemas para a saúde pública e perdas econômicas expressivas (Oliveira et al., 2010).

A confiança na segurança de um alimento é um fator primordial para qualquer consumidor e, portanto, algo que a indústria deve tomar sempre como uma de suas maiores prioridades, bem como o governo que estabelece normas de funcionamento visando, especialmente, a manutenção da saúde da população.

Para a indústria, igualmente importante é apresentar um produto cujas características físicas e sensoriais estejam dentro daquilo que o consumidor espera. Um produto que apresenta deterioração antes de atingir o prazo de validade, não só não será comprado, como necessitará de toda uma logística e custo de retorno e/ou descarte.

Aprimorar a cadeia produtiva de forma a evitar, ou pelo menos minimizar, esse tipo de problema, é a solução mais assertiva para um melhor estabelecimento da confiança sobre o produto e a empresa.

### 2.5.1. Boas Práticas de Fabricação

É definido pela Portaria SVS/MS nº326 como os procedimentos necessários para garantir a qualidade dos alimentos. O documento estabelece os requisitos gerais e de boas práticas de fabricação a que todo estabelecimento com finalidade de obter alimentos aptos para o consumo humano devem se adequar (BRASIL, 1997).

O documento abrange as mais diversas áreas de uma indústria, incluindo: abastecimento de água, vestiários e banheiros, ventilação, equipamentos e utensílios, edifícios, instalações, desenho higiênico, armazenamento, controle de pragas, higiene pessoal, controle de qualidade da matéria-prima, entre outros. Sendo ainda complementado pela RDC 275/2002, onde são estabelecidos os Procedimentos Operacionais Padrão (POP) e o *checklist* das boas práticas de fabricação (BRASIL, 2002).

#### 2.5.1.1. *Checklist*

O *checklist* funciona como uma pesquisa onde são avaliados tópicos que envolvem vários âmbitos da produção de alimentos em indústrias ou serviços de alimentação, como por exemplo estrutura, iluminação e limpeza, de forma a atribuir um grau de conformidade em relação à legislação vigente, referente às Boas Práticas daquele segmento.

O *checklist* se demonstra uma ferramenta eficiente para apontar as áreas problemáticas de uma indústria, servindo como um bom ponto de partida na hora de tomar decisões sobre reformas ou melhorias, como demonstrado no estudo de Santos (2009), realizado numa indústria produtora de queijos minas frescal e ricota, onde a análise identificou um índice de conformidade inicial de 43,10%, classificando a indústria no grupo ruim (nível mais baixo) e através de medidas corretivas direcionadas, apresentou um índice de conformidade subsequente de 78,89%, classificando a indústria no grupo bom (nível mais alto).

Silva (2011) utilizou a ferramenta em uma indústria de produtos cárneos embutidos no município de São Jerônimo (RS), alcançando um índice de 62,00% de conformidade no primeiro diagnóstico, classificando a indústria como regular (nível

intermediário) e, após as medidas corretivas, atingindo um índice de 69,00%, ainda classificada como regular, quando foram estabelecidas novas metas. Em sua terceira visita, o índice alcançado foi de 81,00%, classificando a indústria como boa e constatando uma maior adesão às medidas corretivas a serem aplicadas nas áreas identificadas como mais necessitadas.

## 2.6. Padrões e análises microbiológicas

A Instrução Normativa 23/2005, do MAPA, que regulamenta a identidade e qualidade de produtos amiláceos derivados da raiz de mandioca, define a fécula como produto amiláceo extraído das raízes de mandioca, não fermentada, obtida por decantação, centrifugação ou outros processos tecnológicos adequados. Ainda distingue a fécula em três tipos em função dos parâmetros e respectivos limites de tolerância, sendo representados na Tabela 1 (BRASIL, 2005).

Tabela 1 – Limites de tolerância para derivados da raiz de mandioca

Tipos de Fécula	1	2	3
pH	4.50 a	4.50 a	4.00 a
	6.50	6.50	7.00
Amido % (g/100g)	>84.00	>82.00	>80.00
Cinzas %	<0.20	<0.25	<0.75
Umidade % (g/100g)	<14.00	<14.00	<14.00
Odor	Peculiar	Peculiar	Peculiar

Fonte: Instrução Normativa 23/2005, Brasil

A resolução RDC 331/2019, que estabelece os padrões microbiológicos de alimentos e suas aplicações, direciona para a Instrução Normativa 60/2019 onde temos acesso à Tabela 2 (BRASIL, 2019).

Tabela 2 – Padrões microbiológicos para derivados de féculas

Grupo de Alimentos	Microorganismo/ Toxina/ Metabólito	Tolerância para amostra representativa			
		n	c	m	M
Produtos à base de amidos, farinhas, féculas e fubás, semi elaborados e misturas em pó com ou sem ovos para bolos, pães, tortas, empatas, pizzas, preparações para empanar, estáveis a temperatura ambiente	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Ausência	-
	<i>Bacillus cereus</i> presuntivo/g	5	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	3	10	10 <sup>2</sup>

Fonte: Instrução Normativa 60/2019, Brasil.

A maioria dos sorotipos de *Salmonella* são patogênicas para o ser humano, podendo os casos serem divididos em: febre tifóide, contando com sintomas muito graves incluindo septicemia, febre alta, diarreia e vômitos, podendo evoluir a óbito; febre entérica, tendo sintomas mais brandos que a febre tifóide, incluindo septicemia, gastroenterite, febre e vômitos; infecções entéricas, desenvolvendo infecção gastrointestinal e tendo sintomas como dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito, sendo raros os casos clínicos fatais (Shinohara et al., 2008).

Surtos causados por *B. cereus*, geralmente estão associados a falhas na conservação de alimentos, geralmente por conta de exposição a tempos e temperaturas inadequados, podendo desencadear dois tipos de doença: a síndrome emética, tendo como sintomas náusea, seguido de vômito e mal estar, podendo gerar casos graves e até fatais; e a síndrome diarreica, tendo sintomas como náusea (geralmente sem vômito), dores abdominais intermitentes, tenesmo e fezes aquosas, geralmente sem febre (Dos Santos Mascarenhas, 2018).

Microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a possível presença de patógenos ou sobre a potencial deterioração do alimento. Podendo ainda servir como indicadores de condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento do alimento. *E. coli* é utilizada como indicador, visto que é a única que tem o trato intestinal humano e animal como *habitat*

primário, mas ainda fazem parte dos chamados coliformes termotolerantes (ou fecais) outras bactérias dos gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* (Franco; Landgraf, 1996).

A *E. coli* ainda dispõe de vários sorotipos que implicam em doenças diarreicas e considerado um grave problema de saúde no mundo, resultando em milhões de mortes relatadas por ano (Sousa, 2006).

#### 2.6.1. Microrganismos deterioradores

Outro grande problema na indústria de alimentos são os microrganismos deterioradores, ou seja, aqueles que estão relacionados com a redução palatável dos alimentos, estando associados com modificações na cor, textura, odor e sabor dos mesmos, gerando grandes prejuízos relacionados ao desperdício alimentar e *recall* de produtos. Tornando-se essencial a identificação desses deteriorantes para ser possível aderir à processamentos que permitam a redução ou ausência do crescimento desses microrganismos (De Alcântara Pontes et al., 2020).

Dentre os microrganismos deterioradores, podemos ter fungos, como *Penicillium*, *Ehizopus*, *Aspergillus* e *Mucor*; leveduras, como *Candida* spp., *Yarrowia lipolytica* e *Meyerozyma guilliermondii*; bactérias termófilas como *Bacillus* spp. e *Geobacillus* spp.; bactérias do ácido láctico, como *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Oenococcus*; e microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, como espécies do gênero *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* e *Serratia* (De Alcântara Pontes et al., 2020).

#### 2.6.2. Plaqueamento em profundidade e em superfície

O plaqueamento em profundidade tem como aplicações a contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de clostrídios sulfito redutores, contagem de enterococos e contagem de bactérias lácticas, tendo como principal limitação a necessidade de fusão do meio de cultura antes do uso, visto que alguns meios são suplementados com componentes sensíveis ao calor depois da esterilização, não podendo ser reaquecidos (Silva, 2017).

A diferença para o plaqueamento em superfície, é que a amostra e/ou suas diluições são inoculadas diretamente sobre a superfície do meio já solidificado. Entre as vantagens desse método, temos a não exposição dos microrganismos ao calor do meio fundido, visualização das características morfológicas e diferenciais de colônias, facilitação na transferência de colônias e utilização de meios não translúcidos, tendo como desvantagem a limitação do volume máximo de inoculação. É principalmente

utilizada para contagem total de aeróbios psicrotróficos, contagem de bolores e leveduras, contagem de *S. aureus* e contagem de *B. cereus* (Silva, 2017).

### 2.6.3. Placas de *Petrifilm*®

Os *Petrifilm*® da 3M (Figura 6) são utilizados como alternativas a métodos tradicionais de utilização em placas de Petri de meios como, por exemplo, o *Plate Count Agar* (PCA) ou o *Orange Serum Agar* (OSA), tendo como principal vantagem a praticidade e facilidade de uso, bem como tempos menores necessários para o crescimento dos microrganismos (3M, 2019). São compostos de dois filmes estéreis e contém substâncias geleificantes solúveis em água fria, meio de cultura e um indicador que torna as colônias vermelhas, o que facilita a visualização e contagem (SILVA et al., 2017).

Figura 6 - Placas de *Petrifilm*®



Fonte: 3M, 2019

O *Petrifilm*® para Contagem Aeróbica é utilizado para a contagem total de aeróbios, ajudando a determinar a população bacteriana, enquanto o *Petrifilm*® para Contagem de Enterobactérias permite determinar, de forma rápida, fontes potenciais de contaminação como coliformes, *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* (3M, 2019).

## 2.7. Métodos de identificação

### 2.7.1. Coloração de Gram (método de Hucker)

A coloração de Gram recebe esse nome em homenagem a seu descobridor, o médico Hans Cristian Joaquim Gram, da Dinamarca, que em 1884 observou que as bactérias adquiriram cores diferentes quando tratadas com diferentes corantes. Com isso foi criada uma classificação entre elas, sendo denominadas Gram positivas as

bactérias que adquiriram a coloração roxa e Gram negativas as bactérias que adquiriram a coloração vermelha. O método sofreu modificações ao longo do tempo, de forma a utilizar corantes e fixadores melhores, mais seguros e mais simples de se encontrar (BRASIL, 1997).

### 2.7.2. Coloração com Lactofenol Azul Algodão

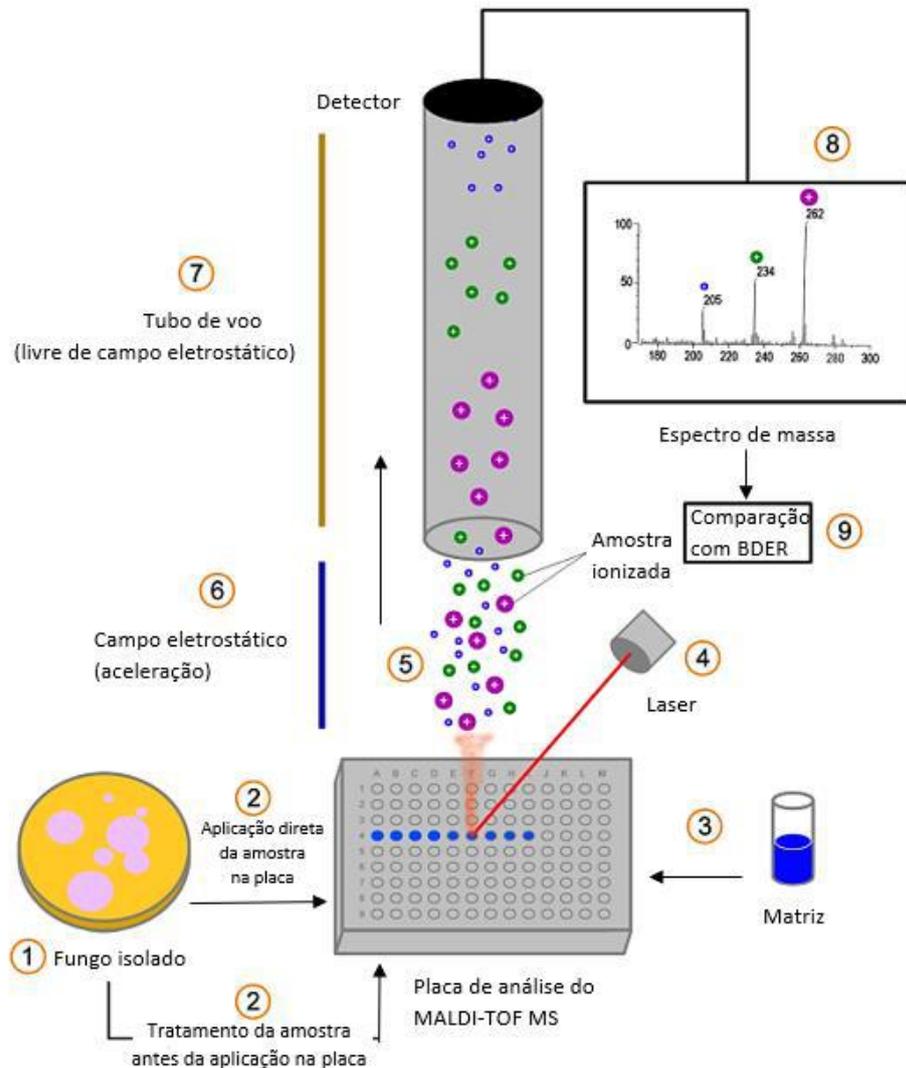
A coloração com lactofenol azul algodão é utilizada principalmente em fungos filamentosos e leveduras. O lactofenol consiste em três componentes, sendo o fenol responsável por matar qualquer organismo vivo na amostra, o ácido láctico responsável por preservar as estruturas dos fungos e leveduras e o azul algodão que colore a parede celular, facilitando a visualização sob microscopia (LECK, 1999).

### 2.7.3. Espectrometria de Massa (MALDI-TOF)

O MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight*) é um método de espectrometria de massa em que se utiliza uma placa onde o microrganismo é adicionado junto a uma matriz (uma solução saturada de um ácido orgânico de baixo peso molecular). Essa placa é levada ao equipamento onde é irradiada por um laser UV que faz com que a matriz seja sublimada, e em seguida a amostra é ionizada (COSTA, 2016). As moléculas ionizadas são alinhadas e aceleradas ao serem submetidas a um campo elétrico no vácuo para dentro do tubo de tempo de voo, chegando a detectores que medem o tempo de deslocamento e quantidade de material deslocada, gerando um espectro que é específico a cada microrganismo. O perfil do espectro é comparado com diversos perfis do banco de dados, de onde são selecionados e listados os microrganismos em ordem de maior compatibilidade. O grau de compatibilidade também é registrado, informando o quão significativo foi o resultado, garantindo níveis de informação diferentes em cada caso analisado (SANTOS e LIMA, 2010).

Quando pontuação determinada se encontra na faixa entre 3.000 e 2.300, a confiabilidade do resultado é extremamente alta, praticamente garantindo a identificação da espécie. Na faixa entre 2.299 e 2.000, a confiabilidade do resultado é alta, resultando numa provável identificação da espécie e assegurando a identificação do gênero. Na faixa entre 1.999 e 1.700, apenas a identificação do gênero é provável. Por fim, na faixa entre 1.699 e 0.000, o resultado não é confiável.

A Figura 7 possui uma representação esquemática do procedimento. Figura 7 - Modelo esquemático do funcionamento do MALDI-TOF



Fonte: COSTA, 2016

## 2.8. Determinação da atividade de água

A atividade de água é um parâmetro importante, pois determina a quantidade de água livre, ou seja, disponível, no alimento e que pode ser utilizada para o desenvolvimento de microrganismos (Ferreira Neto et al., 2005). Podemos então relacionar a capacidade de deterioração de um alimento com sua atividade de água, uma vez que valores intermediários, entre 0,55 e 0,85, já podem gerar escurecimento não enzimático, oxidação de lipídeos, reações enzimáticas e desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos, tendo um potencial de deterioração ainda maior em valores altos, ou seja, superiores a 0,85 (Schmitz et al., 2008).

Para a determinação da atividade de água, é utilizado um analisador de atividade de água (Figura 8).

Figura 8 - Analisador de atividade de água



Fonte: O autor.

## 2.9. Determinação do pH

O pH é outro parâmetro importante a ser analisado quando tratamos da conservação de alimentos, uma vez que age diretamente na limitação da capacidade de desenvolvimento de vários microrganismos. Tendo o valor de 4,5 com uma medida expressiva, uma vez que abaixo desse valor não há desenvolvimento de *Clostridium botulinum*, nem, de modo geral, bactérias patógenas. Em valores acima de 4,5, há ótimas condições para o desenvolvimento de leveduras, bolores e da maioria das bactérias, enquanto valores abaixo de 4,0 restringem o desenvolvimento a leveduras, bolores e, eventualmente, bactérias lácticas e acéticas (Hoffmann, 2001).

A manipulação do pH é muito utilizada na indústria de alimentos, visando a redução ou atraso do processo de deterioração, seja por processos fermentativos do próprio alimento ou pela adição de acidulantes (Hoffmann, 2001). É ainda importante para garantir a alta eficácia de conservantes (Almeida, 2007; Costa, 2015) que também podem ser adicionados visando combater a deterioração e aumentar a vida de prateleira do produto.

O pH, de acordo com Sørensen, é definido como o logaritmo negativo da concentração de íon  $H_3O^+$ .

$$pH = -\log [H_3O^+]$$

De acordo com essa expressão, percebemos que variações do íon, mesmo que de valores não tão altos, resultarão em variações no valor do pH.

Existem muitas formas de determinar o valor do pH de uma amostra, a utilização de medidores de pH digitais facilita o dia-a-dia de quem precisa fazer muitas análises e/ou precisa de resultados de forma precisa e rápida. Porém, o que é efetivamente medido por um sensor de pH é a atividade dos íons hidrônio ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) na solução, sendo na maioria das ocasiões uma boa aproximação da concentração. A atividade é influenciada pela temperatura, por isso é importante que a mesma seja medida e controlada durante o teste (METTLER TOLEDO, 2020).

## CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia de Alimentos (MicrAlim), em parceria com o Laboratório de Engenharia de Sistemas Biológicos (Biose) e com o Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica (LIMM).

Todas as análises foram feitas com amostras de goma de mandioca hidratada.

### 3.1. Aplicação do *checklist*

Os itens do *checklist* foram elaborados tomando como base o Anexo II da RDC 275 de 21 de outubro de 2002 do Ministério da Saúde, sendo divididos por categorias, onde há a possibilidade de serem classificados como “Conforme”, “Não conforme” ou “Não aplicável”. Ao fim de cada categoria, é gerada uma porcentagem de conformidade e ao fim do *checklist* completo, uma porcentagem de conformidade geral, que categoriza, ainda segundo a RDC 275/2002, em grupo III (ruim), caso esteja entre 0 e 50% de conformidade; grupo II (regular), caso esteja entre 51 e 75% de conformidade; grupo I (bom), caso esteja entre 76% e 100% de conformidade (BRASIL, 2002).

Durante a visita à fábrica, o *checklist* foi respondido com base em observações na planta de processamento em conjunto com o auxílio de informações fornecidas por um funcionário responsável pela produção e, ainda, informações fornecidas por um dos sócios da empresa.

Os dados coletados foram então transferidos ao *software Microsoft Excel*<sup>®</sup>, onde foram somados dentro de suas respectivas categorias e na categoria geral.

### 3.2. Identificação das amostras

As amostras (pacotes) foram fornecidas pela própria indústria de fécula de mandioca hidratada entre junho e dezembro de 2019, sendo ao total 22 amostras de lotes que apresentaram deterioração e 5 amostras de um lote em condições normais (Tabela 3).

Tabela 3 – Identificação das amostras

Lote	Identificação	Validade	Número de amostras	Data das análises	Observações gerais
1	0000071	28/10/19	5 (A, B, C, D e E)	08/07/19	- Amostras muito estufadas - Odor característico - Pequenas manchas amarelas na amostra B
2	0000073	10/11/19	5 (A, B, C, D e E)	23/07/19	- Amostras pouco estufadas - Odor característico
3	0000081	14/01/20	5 (A, B, C, D e E)	01/10/19	- Amostras pouco estufadas - Odor característico
4	0000077	10/12/19	2 (A e B)	09/09/19	- Amostras amareladas e empedradas - Odor característico
5	0000113 / 0000114	10/03/20	4 (A, B, C e D / E)	06/12/19	- Amostras pouco estufadas - Odor característico
6	0000112	19/03/20	5 (A, B, C, D e E)	12/12/19	- Grupo de controle (amostras não estufadas)

### 3.3. Análises Microbiológicas

As análises aplicadas foram abrangentes, feitas com o intuito de identificar a maior quantidade de microrganismos possível, uma vez que a deterioração (estufamento) estava ocorrendo antes do produto chegar ao consumidor final e sua causa era desconhecida. Cada análise aplicada às amostras está demonstrada na Tabela 4.

Tabela 4 - Análises aplicadas

<b>Amostra</b>	<b>Deterioração</b>	<b>Análises aplicadas</b>
Lote 1	Estufamento	Aeróbios totais, enterobactérias, leveduras e fungos filamentosos
Lote 2	Estufamento	Aeróbios totais, enterobactérias, leveduras e fungos filamentosos
Lote 3	Estufamento	Aeróbios totais, enterobactérias, leveduras e fungos filamentosos
Lote 4	Amarelamento	Leveduras e fungos filamentosos
Lote 5	Estufamento	Anaeróbios, atividade de água e pH
Lote 6	Condição Normal	Anaeróbios, atividade de água e pH

Todas as análises foram conduzidas seguindo os protocolos descritos no Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água de Silva et al. (2017).

Todas as preparações de placas, diluições, inoculações e isolamentos de microrganismos foram feitos em fluxo laminar (Grupo VECO, modelo BIOSEG-09 classe 11, tipo A1), previamente limpo com álcool 70% (v/v) e deixado sob luz UV por 15 minutos.

### 3.3.1 – Preparo de placas

Para a análise de leveduras e fungos filamentosos, é recomendada a utilização do Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), principalmente em alimentos com atividade de água alta. A faixa de temperatura ideal para crescimento é entre 25 e 28 °C. Recomenda-se o plaqueamento em superfície, para garantir exposição ao oxigênio e evitar o stress que o meio de cultura quente pode causar (Silva et al., 2017).

No plaqueamento em superfície é necessário autoclavar previamente os materiais e utilizar uma capela de fluxo laminar, de modo a garantir a assepsia, antes de verter o meio dentro das placas de Petri. Depois é necessário esperar, com as tampas parcialmente abertas, a secagem do meio. A inoculação nesse tipo de plaqueamento é de 0,1 mL e usa-se uma alça para fazer o espalhamento sobre o meio, sendo importante ressaltar que a mesma alça e pipeta não devem ser reutilizadas em amostras diferentes. Após a secagem, deve-se inverter a placa e incubar nas condições de temperatura, tempo e atmosfera especificadas para cada ensaio (SILVA et al., 2017).

Para a análise de anaeróbios, foi utilizado o Ágar de Man Rogosa & Sharpe (MRS). O mesmo favorece o crescimento de vários lactobacilos, sendo necessário fazer o plaqueamento em profundidade, evitando contato dos microrganismos com o oxigênio (Silva et al., 2017).

No plaqueamento em profundidade, a amostra deve ser adicionada à placa de Petri antes do meio, que deve ser vertido então de modo a cobrir toda a placa. É necessário então fechar a placa e realizar movimentos suaves em forma de oito ou movimentos circulares, visando realizar uma boa mistura do meio com o inóculo. Assim como no plaqueamento em superfície, todo o material deve ser previamente autoclavado e todo o processo deve ser conduzido numa capela de fluxo laminar visando garantir a assepsia do processo. Após a solidificação do meio, a placa deve ser invertida e incubada nas condições de temperatura, tempo e atmosfera especificada para cada ensaio (Silva et al., 2017).

As placas ainda são levadas a uma jarra de anaerobiose (Figura 9a) onde é adicionado um sachê que contém carbono e uma pastilha indicadora de anaerobiose no meio (Figura 9b).

Figura 9 - Jarra de anaerobiose (a) e sachê com pastilha indicadora (b)



Fonte: O autor.

### 3.3.2 – Diluições e inoculação de microrganismos

A Tabela 5 apresenta os meios de inoculação e diluições aplicados em cada amostra.

Tabela 5 - Meios de inoculação e diluições por amostra

Amostra	Meios de Inoculação	Diluições
Lote 1	<i>Petrifilm</i> ® CT	10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup> , 10 <sup>-6</sup> , 10 <sup>-7</sup> , 10 <sup>-8</sup>
	<i>Petrifilm</i> ® EN	10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup>
	DRBC	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
Lote 2	<i>Petrifilm</i> ® CT	10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup> , 10 <sup>-6</sup>
	<i>Petrifilm</i> ® EN	10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup>
	DRBC	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
Lote 3	<i>Petrifilm</i> ® CT	10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup> , 10 <sup>-6</sup>
	<i>Petrifilm</i> ® EN	10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup>
	DRBC	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
Lote 4	DRBC	-
Lotes 5 e 6	MRS	10 <sup>-1</sup>

Utilizando uma balança de precisão dentro do fluxo laminar (Figura 10), foram pesados 25 gramas das amostras, exceto amostras amareladas, e adicionadas a Erlenmeyers contendo 225 ml de água peptonada 0,1% (m/v), sendo então homogeneizadas, obtendo-se diluições 1:10. Na sequência foram feitas diluições seriadas, importante em análises quantitativas, pois diminui a quantidade de microrganismos por unidade de volume, permitindo a contagem posterior.

As amostras amareladas foram analisadas apenas qualitativamente, sendo retirada parte da amostra e adicionada diretamente em tubos contendo 0,9 mL de água peptonada 0,1% (m/v).

Figura 10 - Fluxo laminar contendo balança e diluições.



Fonte: O autor

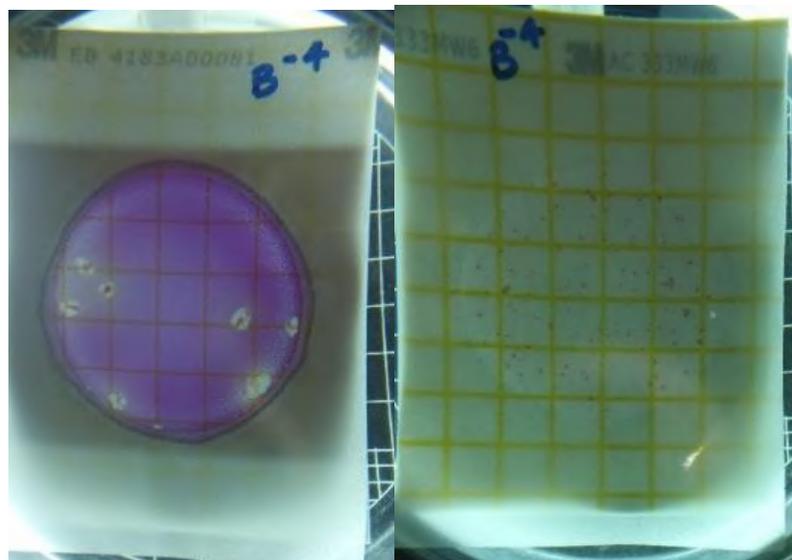
### 3.3.3 – Contagem de microrganismos

As contagens foram realizadas utilizando as placas de *Petrifilm*<sup>®</sup> para contagem aeróbica e para contagem de enterobactérias, placas de Petri contendo DRBC, onde foi utilizado o método de plaqueamento em superfície, e placas de Petri contendo MRS, onde foi utilizado o método de plaqueamento em profundidade.

Os inóculos em *Petrifilm*<sup>®</sup> foram levados para estufa a 35 °C por 48 horas, os em DRBC para estufa a 25 °C por 96 horas. Os inóculos em MRS foram inseridos na jarra de anaerobiose, junto com o sachê gerador de anaerobiose, sendo a mesma vedada e levada para estufa a 35 °C por 120 horas.

As contagens foram realizadas utilizando lupa iluminada (Figura 11) e os protocolos descritos no Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água (2017) para determinação direta e estimativa de unidade formadoras de colônias (UFC) nos inóculos em DRBC e MRS, para os *Petrifilms*<sup>®</sup> foi seguida a metodologia de contagem e estimativa descrita no manual de utilização fornecido pelo fabricante. Os inóculos em DRBC foram feitos em duplicata, o valor final encontrado é a média aritmética das duplicatas.

Figura 11 - Petrifilms<sup>®</sup> na lupa iluminada para contagem



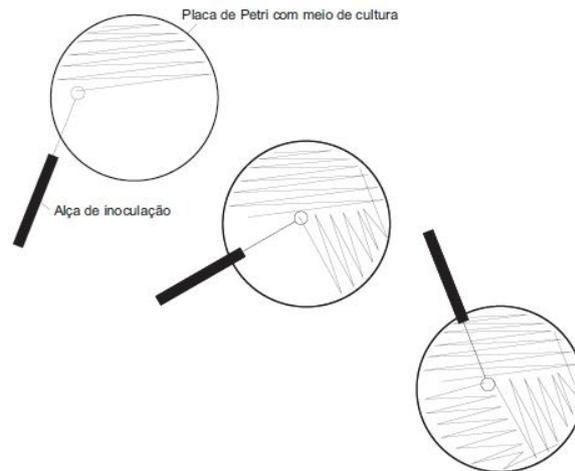
Fonte: O autor.

### 3.3.4. Identificação de microrganismos

Após o crescimento e contagem, foram isolados microrganismos diferentes, sendo característicos ou não no meio em que estava presente através de esgotamento, visando a obtenção de colônias puras. Seguindo a técnica descrita por

SILVA et al. (2017), com o auxílio de uma alça de transferência, transfere-se uma quantidade da cultura desejada para uma placa de Petri, contendo um meio adequado, onde criam-se estrias através de movimentos vai-e-vem, mantendo-se certa distância e ângulo entre as estrias (Figura 12).

Figura 12 - Técnica de esgotamento por estrias



Fonte: SILVA et al, 2017.

Posteriormente as culturas isoladas provenientes de *Petrifilms*<sup>®</sup> são novamente encaminhadas para estufa a 35 °C por 48 horas, as provenientes dos DRBC, para estufa a 25 °C por 96 horas e os provenientes de MRS são alocados na jarra de anaerobiose acompanhados do sachê especial, velados e levados para estufa a 35 °C por 120 horas.

As culturas provenientes de *Petrifilms*<sup>®</sup> foram esgotadas em placas contendo meio ágar nutriente, as provenientes de DRBC, em placas contendo meio PDA e as provenientes de MRS, em placas contendo novamente meio MRS.

#### 3.3.4.1. Coloração de Gram (método de Hucker) e Lactofenol Azul Algodão

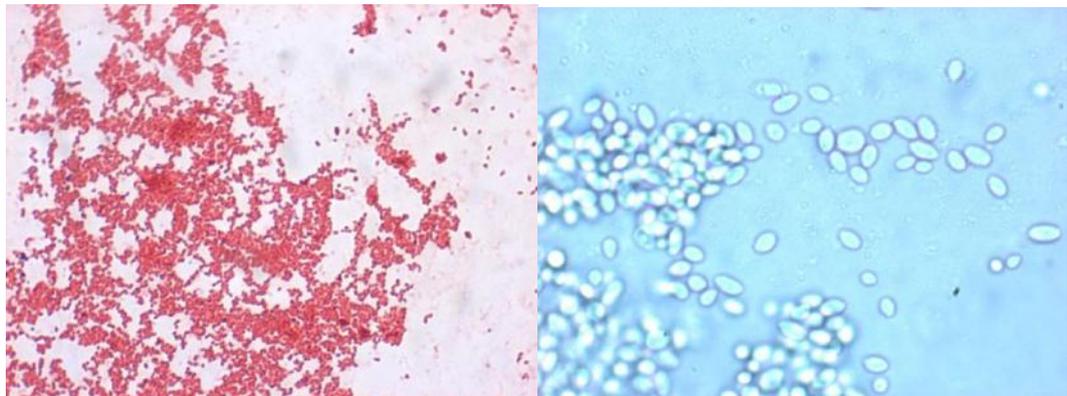
A técnica de coloração de Gram consiste em pingar uma gota de solução salina numa lâmina de vidro limpa e previamente seca, utilizando então uma alça de transferência para preparar um esfregaço da cultura desejada na lâmina. A lâmina é levada ao bico de *Bunsen* para que o líquido seja seco e a amostra seja fixada. Na sequência, aplica-se sobre o esfregaço uma solução de Cristal Violeta de Hucker, mantendo contato por um minuto. A lâmina é lavada em água corrente e então aplica-se uma solução de iodo (Lugol) por mais um minuto. Novamente lava-se a lâmina,

porém utilizando etanol, até que não haja mais desprendimento de corante (30 segundos). Por fim, aplica-se à lâmina uma solução de Safranina por 30 segundos. Finalmente lava-se com água corrente e seca-se a lâmina, sendo então levada ao microscópio para observação (Silva, et al. 2017).

O procedimento da coloração por lactofenol consiste em pingar uma gota do lactofenol azul algodão numa lâmina limpa e previamente seca. Com o auxílio de uma alça de transferência, é feito um esfregaço da cultura desejada. É colocado então uma lamela sobre a mistura, evitando-se criar bolhas de ar, após isso a lâmina está pronta para ser levada ao microscópio para observação (Leck, 1999).

Nas culturas isoladas sabidamente bacterianas, foi realizada a coloração de Gram (Figura 13a), próxima ao bico de *Bunsen* de forma a evitar possíveis contaminações durante o procedimento. Nas culturas isoladas a partir do DRBC, foi realizada a coloração por lactofenol azul algodão (Figura 13b), sendo feita coloração de Gram posterior nos casos em que foi detectada a presença de bactérias.

Figura 13 - Coloração por Gram (a) e por Lactofenol (b)



Fonte: O autor.

Para a análise das lâminas, foi utilizado um microscópio Nikon Eclipse E200, obtendo-se imagens através de uma câmera Evolucion VF Cooled Color e do software Image-Pro Plus 5.1, tendo sido possível, através dessa análise, determinar a morfologia dos microrganismos isolados.

#### 3.3.4.2. MALDI-TOF

O equipamento utilizado para identificação dos microrganismos é o da empresa Bruket Daltonik (Microflex-LT MALDI-TOF), localizado no LIMM, CCS/UFRJ.

Foram utilizadas amostras frescas, transferidas diretamente de placas de Petri descartáveis, com auxílio de palitos estéreis, para pontos pré determinados na placa

condutora, sendo então aplicado 1  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico sobre cada um dos pontos contendo microrganismos. Após a secagem em temperatura ambiente, foi então aplicado 1  $\mu\text{L}$  da matriz, sendo novamente aguardado tempo suficiente para que houvesse a secagem.

Apenas para os fungos foi necessária a extração prévia utilizando ácido fórmico e acetonitrila. Nesse caso foi aplicado 1  $\mu\text{L}$  da extração sobre a placa e, após secagem, aplicado 1  $\mu\text{L}$  da matriz, seguindo o resto do processo normalmente.

A placa foi então levada ao equipamento, onde os espectros foram lidos através do software MALDI Biotyper v3.1 e comparados aos espectros do banco de dados.

### 3.4. Determinação da atividade de água

A descrição do funcionamento do aparelho, segundo o fabricante, é: “A amostra é colocada em uma câmara completamente selada e com temperatura controlada. Após o fechamento, perde ou ganha umidade do ar interno à câmara, sendo que apenas a água livre consegue fazer isto. Esta troca acontece até que a pressão parcial de vapor de água saturada seja igual a zero. A medição precisa de umidade e temperatura determina continuamente as condições climáticas do ar interno à câmara e se estes parâmetros permanecerem estáveis acima de um tempo pré-determinado, o software do equipamento converte para o valor de atividade de água que é então mostrado no display eletrônico.” (Tecnal, 2020).

Na determinação da atividade de água, foi utilizado um medidor modelo LabMaster-Aw da marca Novasina/Tecnal (Figura 14). O procedimento consistia em encher um recipiente plástico com a amostra e então inseri-lo no equipamento, aguardando até que houvesse a estabilização do mesmo. As medidas foram feitas em duplicata.

Figura 14 - Analisador de atividade de água em processo (a) e estável (b)



Fonte: O autor.

### 3.5. Determinação do pH

Ao ligar o medidor de pH, inicialmente precisamos calibrá-lo utilizando soluções-tampão em temperatura ambiente, todo o processo é feito seguido instruções do próprio aparelho. Após calibrado, realizamos a homogeneização da solução a ser testada e inserimos o eletrodo (e termômetro, se houver) do medidor de pH, aguardando até que o valor medido se estabilize (METTLER TOLEDO, 2020).

Para a determinação de pH foram adicionadas 5 gramas de amostra com 5 ml de água destilada, homogeneizado e então medido utilizando um medidor de pH de bancada. Cada medição foi feita em duplicata, de onde foi tirada uma média dentro da amostra e entre todas as amostras.

## CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Aplicação do *checklist*

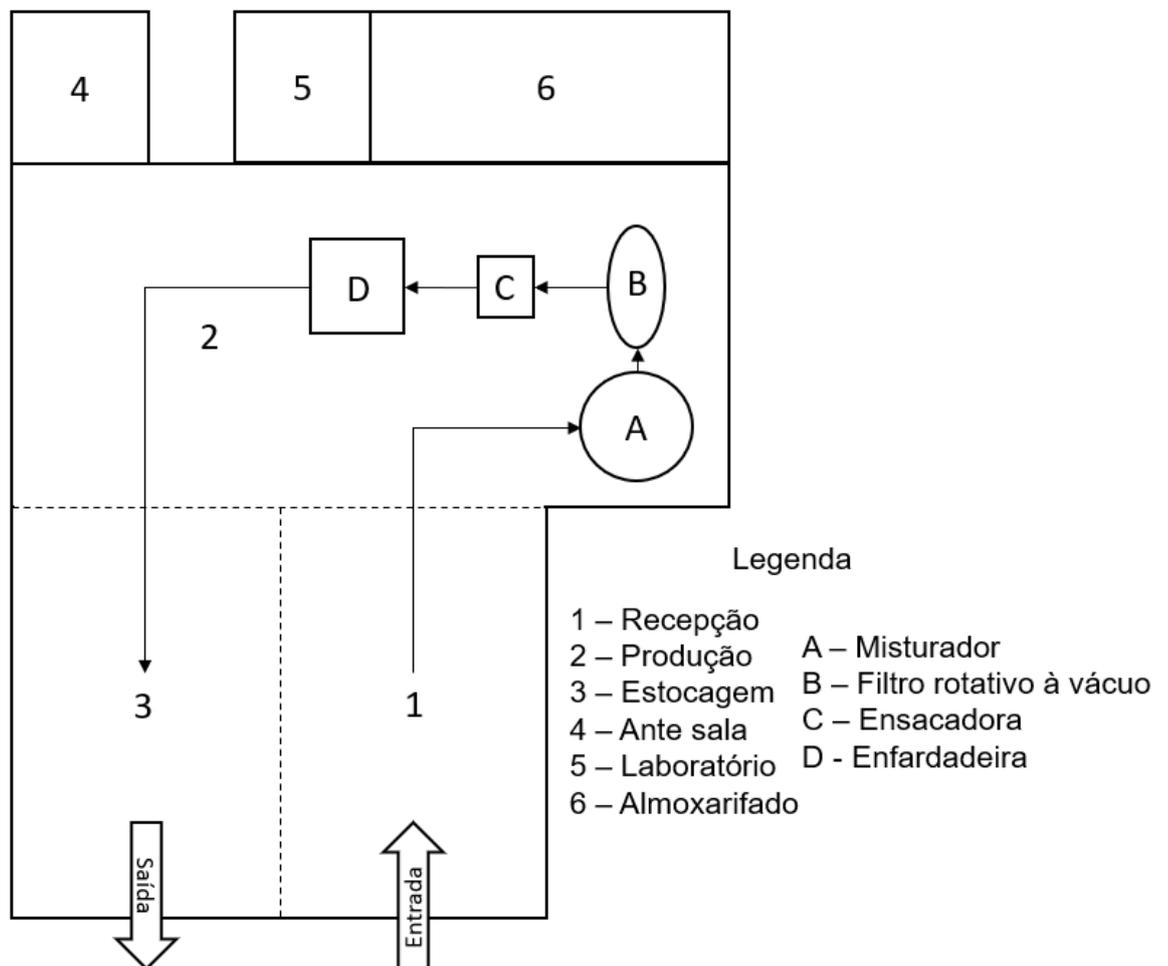
O *checklist* completo pode ser encontrado no **Apêndice A**, sendo aqui apresentadas as análises de cada bloco e da avaliação geral, sendo estes blocos separados em: 1) Edificações e instalações; 2) Equipamentos, móveis e utensílios; 3) Manipuladores; 4) Produção, transporte e armazenamento; 5) Documentação.

#### 4.1.1. Edificações e instalações (bloco 1)

O primeiro bloco analisa a parte de edificações e instalações, incluindo o(s) edifício(s), áreas internas e externas, *layout*, utilidades como água e ar, descarte de resíduos e controle de pragas.

A área interna de produção está representada na Figura 15.

Figura 15 - Desenho esquemático da fábrica visitada



Fonte: o autor.

O bloco atingiu apenas 40% de conformidade (Tabela 6), sendo classificada no grupo III (ruim).

Tabela 6 - *Checklist* de edificações e instalações

Categoria	Itens			Conformidade		Não conformidade	
	Total	Aplicáveis	Não aplicáveis	Total	%	Total	%
<b>1) Edificações e instalações</b>							
1.1 Construção e layout dos Prédios	10	10	0	5	50%	5	50%
1.2 Layout das dependências e espaço de trabalho	22	19	3	7	37%	12	63%
1.3 Utilidades - ar, água, energia	26	26	0	5	19%	21	81%
1.4 Descarte de resíduos	16	16	0	3	19%	13	81%
1.5 Controle de pragas	22	21	1	17	81%	4	19%
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>92</b>	<b>3</b>	<b>37</b>	<b>40%</b>	<b>55</b>	<b>60%</b>

Não é incomum a utilização de estruturas pré-existentes para a instalação de todo tipo de indústria, gerando a necessidade de adaptações para ajustar a estrutura ao processo, porém essas adaptações só tendem a acontecer conforme há disponibilidade financeira e/ou problemas no processo.

A parte externa é protegida por um portão, o que impede o livre acesso de pessoas ou animais, porém não há nenhum tipo de delimitação de unidades, uma vez dentro dos portões não há qualquer tipo de controle dos transeuntes pelas partes da indústria, bem como falta de atenção à vegetação, que cresce em vários pontos, ou à drenagem, sendo possível observar poças.

Como o prédio já existia e está sendo reaproveitado, é de fácil percepção que não foi projetado pensando em BPF, não há separações físicas das matérias primas, produtos finalizados e área de processamento, o que potencializa as chances de haver contaminação cruzada (Ferreira, 2006). As paredes e pisos não são revestidos de material lavável ou fácil limpeza, não possuem cantos arredondados, piso projetado para o escoamento de água ou forro projetado para evitar o acúmulo de poeira. Porém janelas, respiradores e exaustores possuem telas contra insetos,

existem duas portas justapostas de acesso, uma para entrada de matéria prima e outra para saída de produtos, que são mantidas fechadas durante o processo.

Por conta da simplicidade do processo e dos equipamentos, todos são localizados de maneira a facilitar a operação, limpeza e manutenção. As matérias-primas e produtos finalizados são armazenados sobre pallets, evitando contato direto com o chão, mas devido ao volume e pouco espaço, muitas vezes encostadas em paredes ou sem espaçamento ideal entre si.

Água é fornecida pela rede pública em abundância tanto para as necessidades de limpeza quanto do processo, porém não há qualquer controle de temperatura ou microbiológico visando atender requisitos específicos da segurança do produto ou da limpeza. Sendo ela um dos dois ingredientes do produto e não havendo processo de aquecimento durante o processamento, o controle microbiológico se torna algo essencial para a garantia da segurança do produto.

Não há também monitoramento ou controle da qualidade do ar. A iluminação provida possui intensidade suficiente para suprir as necessidades da operação, porém não há proteção nas lâmpadas.

Não há qualquer sistema de gerenciamento e descarte de resíduos que atue de forma consistente e documentada, apesar de ser evitado o acúmulo dos mesmos na área de processamento. Por fim, apesar de haver capacidade de drenagem suficiente, os ralos não são localizados de forma a facilitar o escoamento, bem como não há um sentido de escoamento que evite a passagem de água de uma área contaminada para uma área limpa.

O controle de pragas é um dos pontos mais bem estruturados na indústria, sendo pontualmente falho pela falta de procedimentos para o monitoramento visando evitar a criação de um ambiente favorável à atividade de pragas e também pela falta de um programa devidamente documentado onde haja identificação e plano de controle de pragas. Detectores e armadilhas são posicionados e inspecionados por um serviço terceirizado que também se encarrega da erradicação das pragas.

O estudo de Guimarães e Figueiredo (2010) em três pequenas panificadoras do Pará (PA), também resultou em valores baixos e similares relacionados a estrutura, sendo eles 43,75%, 36,25% e 37,50% de conformidade (todos no grupo III, ruim). Explicitando-se semelhanças de certas inadequações como por exemplo a falta de proteção nas lâmpadas, tetos sem forro, falta material lavável nas paredes e piso, bem como a falta de cantos arredondados e inclinação no piso facilitando o escoamento

de água. Machado et al. (2019) também analisou duas panificadoras de Campinas (SP), tendo uma delas obtido valor semelhante, 35,52% de conformidade (grupo III, ruim), e a outra um valor um pouco superior, 52,00% de conformidade (grupo II, regular). Os problemas semelhantes, mais uma vez, incluem, por exemplo, pisos e paredes sem tratamento adequado e laudos documentando a qualidade e segurança da água.

Num estudo realizado numa pequena cervejaria, Vila e Mello (2019) chegaram a 56,25% de conformidade (grupo II, regular)), porém mais uma vez é relatado problemas em relação ao material inadequado em pisos e paredes, falta de projeção para facilitar o escoamento, falta de proteção às lâmpadas e falta de controle de temperatura e qualidade do ar. Possuindo ainda um *layout* em desacordo com as recomendações de segurança sobre contaminações cruzadas. Já Ferraz et al. (2015) conduziu um estudo em uma pequena indústria de doces no interior do estado de São Paulo, onde obteve 74,6% de conformidade (grupo II, regular), onde a indústria apresentou problemas no teto sem forro e acabamento adequado, falta de proteção nas lâmpadas e falta de divisão física na parte interna, porém também possuía um fluxo de produção que contribuía para evitar as contaminações cruzadas.

Santos (2009) conduziu um estudo preliminar numa indústria de queijo minas frescal e ricota em 2007, onde chegou em um índice de conformidade de 60,25% (grupo II, regular), após ciência dos pontos onde deveriam haver mudanças, a indústria investiu e, já em 2008, alcançou um índice de 98,68% de conformidade (grupo I, bom). Fato semelhante foi reportado no estudo de Santos (2017) realizado em uma indústria de água mineral onde foi possível elevar o índice inicial de 80,60% para 97,00% de conformidade (ambos no grupo I, bom).

Como citado anteriormente, melhorias e adaptações da parte estrutural exigem certo aporte financeiro e planejamento, visto que obras na área de processamento vão exigir que a indústria cesse temporariamente seu funcionamento para que as mesmas sejam realizadas. No caso da indústria presente neste estudo, existem muitas obras previstas visando melhorar a distribuição da área interna, especialmente a separação física da área de processamento e armazenamentos de matérias-primas e produtos finalizados. Com mais alguns pontos adereçados como prioridades, é possível alcançar pelo menos os 50% de conformidade necessários para enquadrar o bloco como regular.

#### 4.1.2. Equipamentos, móveis e utensílios (bloco 2)

O segundo bloco foca nos equipamentos, móveis e utensílios utilizados na parte de produção.

O bloco atingiu apenas 23% de conformidade (Tabela 7), sendo enquadrado no grupo III (ruim). Importante ressaltar que o filtro rotativo a vácuo, bem como o recipiente acoplado e a esteira que levam o produto até a ensacadora não possuem cobertura ou proteção, permitindo contato direto do produto com o ambiente da fábrica. Porém já foi sugerida a aquisição de uma redoma de acrílico para proteção desses equipamentos, evitando assim possíveis contaminações de materiais particulados espalhados no ambiente.

Tabela 7 - *Checklist* de equipamentos, móveis e utensílios

Categoria	Itens			Conformidade		Não conformidade	
	Total	Aplicáveis	Não aplicáveis	Total	%	Total	%
<b>2) Equipamentos, móveis e utensílios</b>							
2.1 Adequação de equipamentos, limpeza e manutenção:	25	23	2	7	30%	16	70%
2.2 Medidas para a prevenção da contaminação cruzada:	18	15	3	1	6,6%	14	93,4%
2.3 Sanitização:	20	19	1	5	26%	14	74%
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>57</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>23%</b>	<b>44</b>	<b>77%</b>

As superfícies dos equipamentos são todas em aço inox, o que facilita a limpeza e coibição de propagação de microrganismos, porém o filtro rotativo a vácuo é envolto com um tecido que é reutilizado em algumas bateladas antes de ser trocado, o pano é então lavado e eventualmente volta a ser utilizado no processo. Uma vez que não são feitos testes microbiológicos no tecido limpo, não é possível afirmar que o mesmo se encontra em condições seguras de entrar em contato com o alimento. Com exceção do uso de material compatível com o tipo de produto e agentes de limpeza, nenhum dos pontos de desenho sanitário de equipamentos foi considerado conforme, além do citado pano que tem contato direto com o produto final. Apesar disso os equipamentos não apresentavam nenhuma corrosão ou ferrugem.

Apesar de existir um sistema de limpeza, ele não tem nenhum tipo de documentação especificando responsabilidades, frequência ou métodos de limpeza. Foi presenciado que após uma higienização dos equipamentos, utilizou-se uma mangueira de ar para limpar material particulado que estava na parte de baixo dos equipamentos, fazendo com que esse material fosse espalhado pelo ar, atingindo inclusive os equipamentos recém higienizados. Esse tipo de procedimento pode gerar contaminação no produto e a falta de um protocolo documentado passo-a-passo gera problemas como esse, em que o funcionário que não possui treinamento ou instrução necessária nem percebe o problema que pode ser gerado. Também não existe programa de manutenção preventiva, como só existe uma linha de processamento, em caso de qualquer problema que inviabilize o processamento, o mesmo é cessado até que seja resolvido o problema.

Não existem medidas de prevenção de contaminação cruzada, como citado no bloco I, apesar das matérias-primas, processamento e produto finalizado se localizarem em partes diferentes da fábrica, não existe separação física dos espaços, nem mesmo marcação delimitando as áreas. Além disso, outros produtos que não são processados na fábrica, mas levam o selo do mesmo fabricante são armazenados na parte de produtos finais, incluindo produtos que possuem alergênicos declarados. Por conta de o produto principal não conter alergênicos, não existe qualquer indicação da possibilidade de presença dos mesmos resultantes de contaminação cruzada, tanto durante o processamento quanto do retrabalho, no rótulo do produto final.

A prevenção de contaminação cruzada, especialmente relativa ao glúten é primordial uma vez que um dos fatores que geram maior interesse no produto é a ausência de glúten. Num estudo sobre produtos que se declaram como isentos de glúten, porém apresentaram a presença do mesmo, Luiz et al. (2020) encontrou dentre 127 amostras analisadas, um total de 7 amostras contendo quantidade de glúten superior a 20 ppm, valor máximo determinado pelo Codex Alimentarius como aceitável para o consumo seguro por pacientes celíacos. Outras 11 amostras apresentaram valores entre 5 e 20 ppm, sendo chamada a atenção de que esses resultados não podem ser interpretados de forma isolada, uma vez que é possível ultrapassar a quantidade máxima recomendada por conta do efeito cumulativo que pode ser alcançado através da dieta.

Das panificadoras do estudo de Machado et al. (2019), uma alcançou índice de conformidade de 57,14% (grupo II, regular) e a outra 47,61% (grupo III, ruim), das

inconformidades em comum é citada a falta de profissionais capacitados para as operações de limpeza. Sobre uma das panificadoras ainda é citada a ausência de controle para garantir a qualidade do produto oferecido ao consumidor, falta de manutenção preventiva e parte de utensílios expostos a possíveis contaminações.

O estudo de Quintão et al. (2013) em um laticínio no município de Rio Pomba (MG), alcançou apenas 30,00% de conformidade (grupo III, ruim), apontando especialmente as condições precárias dos equipamentos, incluindo superfícies danificadas e porosas. Já o estudo de Oliveira et al. (2018) em queijarias do sertão paraibano, detectou que duas delas alcançaram valores de 10,50% (grupo III, ruim) e até 0,00% (grupo III, ruim) de conformidades. Identificando como maiores contribuintes a precariedade da limpeza e sanitização dos equipamentos, utilizando materiais de limpeza de forma inadequada e sem registro.

Já Lima (2020) encontrou inicialmente um valor de 85,00% (grupo I, bom) de conformidade na fracionadora de alimentos de seu estudo. Como pontos negativos ressaltou falta de padronização e frequência de higienização, inexistência de registro e não utilização correta dos produtos de limpeza.

#### 4.1.3. Manipuladores (bloco 3)

O bloco atingiu 57% de conformidade (Tabela 8), sendo enquadrado no grupo II (regular) e sendo o bloco com a maior porcentagem de conformidades.

Tabela 8 - *Checklist* de manipuladores

Categoria	Itens			Conformidade		Não conformidade	
	Total	Aplicáveis	Não aplicáveis	Total	%	Total	%
<b>3) Manipuladores</b>							
3.1 Requisitos de higiene pessoal e instalações para funcionários	45	44	1	25	57%	19	43%
<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>44</b>	<b>1</b>	<b>25</b>	<b>57%</b>	<b>19</b>	<b>43%</b>

Não há documentação onde são especificados os requisitos de higiene e comportamento pessoal, além disso instalações específicas para higiene pessoal ainda estão em construção. Existe uma ante sala onde é possível fazer lavagem, secagem e sanitização das mãos e botas, porém a mesma não possui indicação e é diretamente aberta à área de produção, sendo necessária a instalação de uma cortina.

Existem banheiros com instalações necessárias para higienização das mãos e vestiário. O refeitório e cozinha são isolados da área de produção e alimentos só podem ser consumidos nessas localidades.

Todos os funcionários utilizam uniformes adequados, esses uniformes são codificados por cores, sendo sempre utilizadas cores em dias diferentes da semana, dando tempo necessário para lavagem adequada dos uniformes já utilizados. Na área de produção também é obrigatório a utilização de toucas, são proibidos pelos faciais, os funcionários que lidam com a matéria prima (material seco e particulado) utilizam máscara e os que lidam com o produto utilizam luvas de látex, todos utilizam botas de borracha. Todos os funcionários precisam relatar suas condições de saúde, sendo totalmente proibido trabalhar em caso da presença de feridas ou queimaduras que possam ter contato com o produto. É obrigatória a lavagem e sanitização das mãos na ante sala antes de qualquer atividade que envolva manipulação do produto ou após usar o banheiro, espirrar ou tossir, bem como manter as unhas curtas e limpas.

Mesmo sendo o bloco com maior porcentagem de conformidades, novamente o desenvolvimento de documentação e alguns ajustes pontuais ajudariam a aproximar e até enquadrar o bloco no grupo I (bom).

Ferraz et al. (2015), relatou nível de conformidade de 76,90% (grupo I, bom) na fábrica de doces, mas citou a falta de um programa de capacitação relacionado à higiene pessoal e falta de registros sobre treinamentos realizados com a equipe. Já Guimarães e Figueiredo (2010) encontraram níveis de 40,00%, 33,33% e 20,00% de conformidade (todos no grupo III, ruim) nas panificadoras estudadas, citando falta do hábito de utilização de uniformes completos e equipamentos de proteção individual, utilização de adornos (como relógios e pulseiras) e falta de supervisão e capacitação em relação à higiene alimentar. Machado et al. (2019), também relatou a ausência de capacitação aos manipuladores, além da falta de utilização de uniformes completos em uma das panificadoras, tendo o estudo relatado nível de conformidade de 71,42% (grupo II, regular) e 57,14% (grupo II, regular).

Santos (2009) relatou inicialmente um nível de conformidade inicial de 5,13% (grupo III, ruim) e final de 30,77% (grupo III, ruim), citando total inconformidade no que diz respeito ao estado de saúde, equipamentos de proteção individual e programas de capacitação dos manipuladores. Santos (2017) cita a importância da elaboração de cartazes informando medidas corretas de lavagem de mãos e treinamentos sobre higiene dos funcionários e manipulação de alimentos, na melhora que a indústria de

água teve em relação ao bloco, iniciando em 71,43% (grupo II, regular) e terminando em 92,86% (grupo I, bom).

#### 4.1.4. Produção e transporte (bloco 4)

O bloco atingiu 24% de conformidade (Tabela 9), sendo enquadrado no grupo III (ruim).

Tabela 9 - *Checklist* de produção e transporte

Categoria	Itens	Conformidade		Não conformidade				
		Total	%	Total	%			
<b>4) Produção e transporte</b>		<b>Total</b>	<b>Aplicáveis</b>	<b>Não aplicáveis</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
4.1 Gestão da aquisição	14	14	0	1	7%	13	93%	
4.2 Retrabalho	9	9	0	3	33%	6	67%	
4.3 Procedimentos de recall de produtos	3	3	0	0	0%	3	100%	
4.4 Armazenamento	13	8	5	4	50%	4	50%	
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>34</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>24%</b>	<b>26</b>	<b>76%</b>	

Os requisitos para os produtos são especificados pela indústria e os fornecedores enviam relatórios comprovando que as matérias primas estão dentro desses requisitos, porém não há contra verificação na fábrica. Não há processo específico e definido para a seleção e monitoramento de fornecedores, nem processo para avaliação dos mesmos. Não há também documentação sobre verificação da matéria prima recém chegada. Tudo isso pode gerar grandes problemas ao longo do processo caso a matéria-prima não esteja realmente dentro dos padrões microbiológicos determinados pela legislação, uma vez que os efeitos só vão ser percebidos quando o produto já estiver finalizado e, possivelmente, distribuído.

O retrabalho é feito na área de produção, dividindo todos os problemas da produção principal. Não existe documentação e requisitos para a segregação para o retrabalho, nem identificação clara de quais produtos sofreram retrabalho. Não existe controle sobre quantidade e condições do uso de retrabalho.

Não existe um sistema que facilite a identificação e localização de produtos que apresentem problemas, o que dificulta ainda mais, caso seja necessária, a aplicação de um procedimento de *recall*. O armazenamento ocorre em espaço ideal, porém sem

modo de controlar a temperatura e a umidade do ambiente, já resíduos e produtos químicos são armazenados em outras áreas isoladas da produção.

Dentre as queijarias estudadas por Oliveira et al. (2018), quatro apresentaram conformidade abaixo de 40% (grupo III, ruim). Foram citadas falhas no processo de recepção do leite, incluindo a não realização de testes para verificar a qualidade da matéria-prima, tempo de recepção superior ao permitido pela legislação e utilização de recipientes não recomendados. Explicitando ainda o fato de nenhuma das queijarias realizar processo térmico no leite antes do processamento, o que possibilita a proliferação de microrganismos patogênicos, sendo por isso proibido pela legislação brasileira. Guimarães e Figueiredo (2010) encontraram valores de 60,60% (grupo II, regular), 44,73 % e 50,00% (grupo III, ruim) nas padarias estudadas. Ressaltando que apesar da produção utilizar altas temperaturas, os produtos eram expostos sem proteção e à temperatura ambiente por períodos de tempo prolongados.

Ferraz et al. (2015) encontrou um valor de 66,60% (grupo II, regular) em seu estudo, citando a facilidade de acondicionamento uma vez que o produto não necessitava de condições de armazenamento especiais. O laticínio do estudo de Quintão et al. (2013) apresentou 71,35% de conformidade (grupo II, regular), sendo citados como não conformidades a presença de produtos com prazo de validade vencido e sem identificação na área de processamento, falta de análise e controle de qualidade do produto final.

Santos (2017), apontou um valor inicial de 89,4% (grupo I, bom) e final de 98,2% (grupo I, bom), atribuindo a evolução a criação de POPs sobre procedimentos da operação de limpeza e desinfestação e criação de um prontuário com informações sobre as operações de higienização. Lima (2020) encontrou um valor de conformidade de 100% (grupo I, bom) em seu estudo, ressaltando que a produção foi projetada de maneira ordenada, já com o intuito de evitar qualquer problema na área.

#### 4.1.5. Documentação (bloco 5)

O bloco atingiu 22% de conformidade (Tabela 10), sendo enquadrado no grupo III (ruim).

Tabela 10 - *Checklist* de documentação

Categoria	Itens			Conformidade		Não conformidade	
	Total	Aplicáveis	Não aplicáveis	Total	%	Total	%
<b>5) Documentação</b>							
5.1 Informações sobre o produto e conscientização do consumidor	2	2	0	1	50%	1	50%
5.2 Food defense, biovigilância e bioterrorismo	2	2	0	1	50%	1	50%
5.3 Monitoramento, avaliação e registro dos sistemas e procedimentos operacionais padronizados	5	5	0	0	0%	5	100%
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>22%</b>	<b>7</b>	<b>78%</b>

Apesar de a empresa possuir um *site* onde existem informações sobre o produto, todos os outros itens sobre documentações e POPs apresentam inconformidade. Já foi iniciada a elaboração de alguns registros para documentar o monitoramento de alguns procedimentos e informações que podem influenciar no processamento do produto, mas ainda assim o bloco atingiu a menor avaliação de conformidade (apesar de ter valor próximo ao do bloco 2 e bloco 4) entre todos os outros.

As avaliações inicial e final de Santos (2009) resultaram em 7,69% (grupo III, ruim), denotando que mesmo sendo apontado como uma área crítica a ser melhorada, acabou não tendo nenhum desenvolvimento. Semelhante ao trabalho de Oliveira et al. (2018) onde todas as queijarias estudadas não apresentaram o Manual de Boas Práticas de Fabricação ou POPs. Todas as avaliações de Machado et al. (2019) resultaram em 0% (grupo III, ruim) de conformidade em ambas as padarias.

O estudo de Quintão et al. (2013) apresentou um valor de 48,75% (grupo III, ruim) de conformidade, citando que a falta de documentação poderia ser melhorada com auditorias interna e externa. Ferraz et al. (2015) encontrou valores de 35,50% (grupo III, ruim), onde apesar de existirem manuais, estes se encontravam

desatualizados em relação aos itens exigidos pela legislação. Também não haviam registros dos procedimentos realizados ou treinamento dos colaboradores que abordassem os POPs ou as BPF.

Vila e Mello (2019) encontraram 82,76% (grupo I, bom) de conformidade, citando como possíveis melhoras o desenvolvimento de POP para recepção de embalagens e implementar programas de saúde. Santos (2017) obteve inicialmente 4,70% (grupo III, ruim) de conformidade e um valor final de 97,70% (grupo I, bom) de conformidade, atribuindo a grande variação a realização de ações corretivas como o desenvolvimento de um manual de boas práticas, criação de POPs para as mais diversas operações e criação de registros de verificação da eficácia das medidas de controle.

#### 4.1.6. Avaliação geral

A avaliação geral atingiu um nível de 36% (Tabela 11), sendo enquadrada no grupo III (ruim).

Tabela 11 - Checklist de avaliação geral

Categoria	Itens			Conformidade		Não conformidade	
	Total	Aplicáveis	Não Aplicáveis	Total	%	Total	%
1) Edificações e instalações	96	92	4	37	40%	55	60%
2) Equipamentos, móveis e utensílios	63	57	6	13	23%	44	77%
3) Manipuladores	45	44	1	25	57%	19	43%
4) Produção e transporte	39	34	6	8	24%	26	76%
5) Documentação	9	9	0	2	22%	7	78%
<b>Total</b>	<b>252</b>	<b>236</b>	<b>17</b>	<b>85</b>	<b>36%</b>	<b>151</b>	<b>64%</b>

A indústria ainda precisa de muitas melhorias para conseguir atingir conformidades suficientes para pelo menos alcançar o Grupo II (Regular). Tendo em vista que obras da parte estrutural já estão planejadas e encaminhadas, deveria haver um enfoque nos blocos 4 e 5, áreas com baixíssimo desempenho, para avançar bons passos em direção a melhoria de qualificação.

Entre as oito queijarias estudadas por Oliveira et al. (2018), seis se enquadraram no Grupo III (ruim), uma no Grupo II (regular) e uma no Grupo I (bom). O laticínio estudado por Quintão et al. (2013) atingiu 47,8% (grupo III, ruim) de conformidade e as padarias de Machado et al. (2019) 47,09% e 46,79% (grupo III, ruim) de conformidade. Na cervejaria estudada, Vila e Mello (2019) encontraram valor de 67,03% (grupo II, regular) de conformidade.

Entre os trabalhos que possuem estudo inicial, implementação de correções e estudo final, vemos o estudo de Santos (2009) atingir um índice de 43,10% (grupo III, ruim) e obter evolução suficiente para alcançar um índice final de 78,89% (grupo I, bom). Já o trabalho de Santos (2017), não apresenta valor global de avaliação, porém apresenta melhora consistente em todos os blocos que inicialmente já são altos e terminam ainda mais altos. O trabalho de Silva (2011), possui um índice inicial de 61,00% (grupo II, regular) e, após as primeiras medidas corretivas, o índice sobe para 69,00% (grupo II, regular) onde são estabelecidas novas metas que se refletem em sua terceira análise, quando o índice atingido é de 81,00%, registrando a subida de nível da indústria para o grupo I (bom).

## 4.2. Análises Microbiológicas

### 4.2.1. Contagem total, enterobactérias e DRBC

A tabela a seguir (Tabela 12) apresenta os resultados, por lote, do intervalo das contagens médias dos microrganismos que cresceram nas placas de *Petrifilm*<sup>®</sup> e nas placas de DRBC. As médias das contagens específicas por amostra e lote podem ser encontradas no **Apêndice B**.

Tabela 12 - Intervalo de contagens médias por lote

Lote	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Contagem Total (UFC/g)	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Enterobactérias (UFC/g)	DRBC (UFC/g)
1	1,20x10 <sup>2</sup> a 5,20x10 <sup>3</sup>	2,90x10 <sup>2</sup> a 5,00x10 <sup>3</sup>	0,6x10 <sup>1</sup> a 2,3x10 <sup>1</sup>
2	1,02x10 <sup>2</sup> a 9,80x10 <sup>3</sup>	3,25x10 <sup>3</sup> a 3,60x10 <sup>3</sup>	1,97x10 <sup>2</sup> a 3,90x10 <sup>2</sup>
3	1,00x10 <sup>2</sup> a 5,27x10 <sup>2</sup>	5,20x10 <sup>2</sup> a 9,70x10 <sup>2</sup>	6,80x10 <sup>0</sup> a 1,61x10 <sup>2</sup>

As placas de MRS, tanto do lote 5 quanto do lote 6, geraram resultados incontáveis como representado na Figura 16.

Figura 16 - Placa de MRS incontável na lupa iluminada



Fonte: O autor.

Como produto analisado não possui legislação sobre limites sobre contagem total de microrganismos, fungos filamentosos e leveduras, foi utilizada a CNNPA nº 12/1978 (originalmente sobre fécula e já revogada pela RDC 263/2005, retirando a obrigatoriedade da aferição desses microrganismos) como base para comparação, levando ainda em conta que a goma hidratada possui uma atividade de água superior à da fécula, o que favorece o crescimento microbiológico. A CNNPA nº 12/78 estabelece limites de  $5 \times 10^5$  UFC/g de contagem total e  $10^3$  UFC/g para fungos filamentosos e leveduras (BRASIL 1978, 2005).

Em relação a essa legislação antiga, todas as amostras de contagem total e fungos filamentosos e leveduras estão dentro dos limites previstos. Lima et al. (2007) em estudo com goma (fécula) de mandioca, obteve valores significativamente mais altos para contagem total, na faixa de  $1,2 \times 10^5$  até  $8,1 \times 10^5$  UFC/g, e para fungos filamentosos e leveduras, na faixa de  $10^3$  até  $9,3 \times 10^4$  UFC/g, ultrapassando os limites previstos. Shinohara et al. (2018), em estudo contendo 16 amostras de diferentes gomas de tapioca, obteve valores para contagem total na ordem de grandeza de  $10^4$  UFC/g na maioria das amostras, não tendo nenhuma delas ultrapassado o limite. O mesmo não aconteceu com os fungos filamentosos e leveduras, que possuem muitos resultados na faixa de  $2,4 \times 10^3$  até  $8,0 \times 10^3$  UFC/g, além de resultados alcançando ordem de grandeza de  $10^4$  UFC/g.

Shinohara et al. (2018) também encontrou quantidades significativas de coliformes termotolerantes e acima da tolerância da antiga RDC 12/2001 em três

amostras de goma de mandioca. Lima et al. (2007) obteve em nove amostras de goma contagens de coliformes totais entre  $10^4$  e  $10^5$  UFC/g.

Já os trabalhos de Araújo et al. (2020) e Luna et al. (2013), ambos com goma de mandioca, não detectaram valores expressivos de coliformes totais ou termotolerantes.

#### 4.2.2. Microrganismos identificados por MALDI-TOF

Ao todo foram submetidas 102 amostras, das quais 65 obtiveram resultado confiável (>1.700). Esses microrganismos foram separados em duas tabelas, discriminando a origem, a identificação, a morfologia e a pontuação do mesmo.

Os microrganismos identificados com confiabilidade no mínimo alta estão representados na Tabela 13, já os que possuem confiabilidade provável apenas no gênero estão representados na Tabela 14.

Tabela 13 - Microrganismos identificados com pontuação acima de 1.999

<b>Origem</b>	<b>Identificação</b>	<b>Descrição da morfologia</b>	<b>Pontuação</b>
Lote 2 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Enterobacter Asburiae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.010
Lote 2 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.005
Lote 2 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.023
Lote 3 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Enterobacter Kobei</i>	Bastonete Gram Negativo	2.062
Lote 3 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Enterobacter Asburiae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.222
Lote 3 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Enterobacter Asburiae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.272
Lote 3 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Escherichia Coli</i>	Bastonete Gram Negativo	2.045
Lote 3 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bastonete Gram Negativo	2.037
Lote 5 - MRS	<i>Candida Intermedia</i>	Levedura	2.084
Lote 5 - MRS	<i>Candida Tropicalis</i>	Levedura	2.074
Lote 5 - MRS	<i>Escherichia Coli</i>	Bastonete Gram Negativo	2.178
Lote 6 - MRS	<i>Escherichia Coli</i>	Bastonete Gram Negativo	2.122
Lote 6 - MRS	<i>Lactobacillus Nagelii</i>	Bastonete Gram Positivo	2.194
Lote 6 - MRS	<i>Lactobacillus Paracasei</i>	Bastonete Gram Positivo	2.540
Lote 6 - MRS	<i>Lactobacillus Paracasei</i>	Bastonete Gram Positivo	2.551
Lote 6 - MRS	<i>Lactobacillus Paracasei</i>	Bastonete Gram Positivo	2.204

Tabela 14 - Microrganismos identificados com pontuação entre 1.700 e 1.999

Origem	Identificação	Descrição da morfologia	Pontuação
Lote 1 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Kosakonia Radicincitans</i>	Bastonete Gram Negativo	1.702
Lote 1 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Kosakonia Radicincitans</i>	Bastonete Gram Negativo	1.833
Lote 1 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Kosakonia Radicincitans</i>	Bastonete Gram Negativo	1.719
Lote 2 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	Bastonete Gram Negativo	1.749
Lote 2 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	Bastonete Gram Negativo	1.762
Lote 2 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bastonete Gram Negativo	1.901
Lote 3 - DRBC	<i>Candida Tropicalis</i>	Levedura	1.760
Lote 3 - DRBC	<i>Candida Tropicalis</i>	Levedura	1.895
Lote 3 - DRBC	<i>Candida Intermedia</i>	Levedura	1.907
Lote 3 - Petrifilm® Enterobactérias	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Bastonete Gram Negativo	1.720
Lote 3 - Petrifilm® Contagem Total	<i>Kosakonia Radicincitans</i>	Bastonete Gram Negativo	1.813
Lote 4 - DRBC	<i>Burkholderia Tropica</i>	Bastonete Gram Negativo	1.715
Lote 4 - DRBC	<i>Escherichia Coli</i>	Bastonete Gram Negativo	1.850
Lote 4 - DRBC	<i>Candida Intermedia</i>	Levedura	1.745
Lote 6 - MRS	<i>Escherichia Coli</i>	Bastonete Gram Negativo	1.901
Lote 6 - MRS	<i>Candida Tropicalis</i>	Levedura	1.889
Lote 6 - MRS	<i>Lactobacillus Nagelii</i>	Bastonete Gram Positivo	1.983

Mesmo sem ter sido utilizada uma técnica de detecção e contagem específica de *Escherichia coli*, a mesma foi identificada como presente. A legislação limita especificamente sua presença (BRASIL, 2019), porém os altos valores de enterobactérias registrados em todos os lotes, como visto nas tabela 11, podem sugerir a possibilidade de a mesma estar presente em valores que ultrapassam tal limite. Segundo Gregghi (2005), mesmo com menores possibilidades, bactérias dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*, que também foram identificadas, podem ser de origem fecal. Visto que esses microrganismos são utilizados como parâmetro microbiológico para a avaliação higiênico-sanitária de água e alimentos (Sousa, 2006), fica constatada uma necessidade de revisão nos procedimentos higiênico-sanitários.

Mesmo que os limites estejam abaixo do que a, já revogada, CNNPA nº 12/78 previa, foram identificadas leveduras do gênero *Candida* e também bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, que podem estar relacionados com o processo de deterioração. Sendo indicada a utilização de conservantes para inibição do crescimento desses microrganismos e/ou uma revisão e maior controle de todo o processo.

Conservantes em alimentos costumam ser efetivos em pHs ácidos, uma vez que em sua forma não dissociada, são solúveis à membrana. No citoplasma, os ácidos dissociam-se, liberando um próton que para ser expulso da célula exige que a mesma gaste energia, restringindo a multiplicação celular (Forsythe, 2013).

#### 4.3. Determinação da atividade de água

Os valores de atividade de água aferidos e as médias das amostras deterioradas e das amostras em boas condições podem ser observados nas tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15 - Valores de atividade de água do lote 5

<b>Amostra</b>	<b>Aw1</b>	<b>Aw2</b>	<b>Aw médio</b>
A	0,954	0,954	0,954
B	0,956	0,956	0,956
C	0,955	0,956	0,956
D	0,955	0,955	0,955
E	0,951	0,952	0,952
<b>Média geral</b>	<b>0,954</b>		

Tabela 16 - Valores de atividade de água do lote 6

<b>Amostra</b>	<b>Aw1</b>	<b>Aw2</b>	<b>Aw médio</b>
A	0,946	0,945	0,946
B	0,940	0,940	0,940
C	0,925	0,931	0,928
D	0,947	0,948	0,948
E	0,949	0,951	0,950
<b>Média geral</b>	<b>0,942</b>		

Não houve diferença estatística significativa entre os valores médios de atividade de água encontrados nos lotes 5 e 6, o valor da atividade de água do produto como um todo é extremamente alto, o que favorece a proliferação de microrganismos (Forsythe, 2013).

Em seu estudo contendo gomas de controle e gomas modificadas pela adição de beterraba, Almeida (2017) encontrou valores de 0,997, 0,994 e 0,991, mais uma vez sendo justificados pela natureza hidratada do produto.

Por conta dessa natureza, não há como fazer modificações no processo a fim de reduzir a atividade de água, sendo necessária a utilização de embalagens a vácuo, embalagens com atmosfera modificada ou a inclusão de aditivos para suprimir a proliferação microbiana (Forsythe, 2013).

#### 4.4. Determinação do pH

Os valores e média encontrados para o produto deteriorado se encontram na tabela 17, enquanto os valores e médias encontrados para o produto em boas condições se encontram na tabela 18.

Tabela 17 - Valores de pH de amostras do lote 5

<b>Amostra</b>	<b>pH</b>
A	3,76
B	4,08
C	4,02
D	3,9
E	3,9
<b>pH médio</b>	<b>3,93</b>

Tabela 18 - Valores de pH de amostras do lote 6

<b>Amostra</b>	<b>pH</b>
A	3,99
B	3,93
C	3,81
D	3,96
E	3,75
<b>pH médio</b>	<b>3,89</b>

Não houve diferença estatística significativa entre os valores médios de pH encontrados nos lotes 5 e 6.

Os valores encontrados, foram mais baixos do que o pH 4,59 encontrado por Luna et al. (2013) e o pH 4,29 encontrado por Almeida (2017). Apesar de não se tratar do exato produto, os valores encontrados também estão abaixo dos característicos definidos pela legislação sobre fécula de mandioca (de 4,00 a 7,00, no grupo 3), sugerindo uma possível falta de padronização no produto estudado ou a adição não declarada de acidulantes e/ou conservantes.

A acidez do produto é um fator chave no controle microbiológico, tanto por sua ação direta, sendo inibidora da proliferação de várias espécies de microrganismos, quanto indiretamente, por ser necessária uma faixa de valor necessária para o pleno funcionamento de conservantes (Forsythe, 2013).

## CAPÍTULO 5

### 5. Conclusão

O *checklist* é uma ferramenta de qualidade muito eficiente na identificação de áreas que possuam necessidades de melhora dentro de uma indústria. No caso da indústria estudada, as três áreas que necessitam de melhorias urgentes são as relacionadas aos equipamentos, móveis, utensílios (atualmente em 23% de conformidade), produção, transporte (atualmente em 24% de conformidade) e documentação (atualmente em 22% de conformidade). As edificações e instalações atingiram índice de 40% de conformidade, que ainda é ruim, mas já existe um planejamento de obras e reformas que podem ainda incluir parte de outros blocos analisados. A classificação final ficou em 36% de conformidade, classificando a indústria no grupo III (ruim), um enfoque em documentação contribuiria para quase todos os blocos, ajudando a indústria a caminhar em direção a atingir a classificação dentro do grupo II (regular).

Apesar de não ter sido feito teste específico para sua determinação total, e possível comparação com a legislação vigente, a presença de *E. coli* foi confirmada. Aliado à presença de outros coliformes fecais, pode indicar uma necessidade de revisão dos procedimentos higiênico-sanitários. Também foram identificadas, mesmo que em valores inferiores aos limites impostos pela antiga legislação, leveduras e outras bactérias comumente relacionadas à deterioração de alimentos, sendo indicado a utilização de conservantes para a inibição desses microrganismos e/ou, como já indicado pelo *checklist*, uma revisão e maior controle de todo o processo. Incluindo melhor instrução sobre procedimentos e registros de atividade, visto que, por exemplo, a falta de controle da qualidade da água, falta de testes na matéria-prima e produto final, torna-se difícil rastrear o(s) ponto(s) de contaminação atual.

As altas médias de valores de atividade de água, 0,954 no deteriorado e 0,942 no em boa qualidade, são característicos do produto (hidratado) e facilitam a proliferação microbológica. Já o baixo pH, com média de 3,93 no deteriorado e 3,89 no em boa qualidade, necessita correções para que fique de acordo com as características comuns ao produto, além de potencializar a eficácia de possíveis conservantes. Outros aditivos e/ou ainda embalagens a vácuo podem contribuir para a manutenção prolongada da integridade do produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3M® *Petrifilm*® para Contagem de Enterobactérias

Disponível em: <[https://www.3m.com.br/3M/pt\\_BR/3m-do-brasil/todos-os-produtos-3m-do-brasil/~/Placa-3M-Petrifilm-para-Contagem-de-Enterobact%C3%A9rias/?N=5002385+3290497080&preselect=3293786499&rt=rud](https://www.3m.com.br/3M/pt_BR/3m-do-brasil/todos-os-produtos-3m-do-brasil/~/Placa-3M-Petrifilm-para-Contagem-de-Enterobact%C3%A9rias/?N=5002385+3290497080&preselect=3293786499&rt=rud)>  
Acesso em: 11 jan. 2020.

3M® *Petrifilm*® para Contagem Aeróbica

Disponível em: <[https://www.3m.com.br/3M/pt\\_BR/3m-do-brasil/todos-os-produtos-3m-do-brasil/~/Placa-3M-Petrifilm-para-Contagem-Aer%C3%B3bica-6406-1000-por-caixa/?N=5002385+3293190468&rt=rud](https://www.3m.com.br/3M/pt_BR/3m-do-brasil/todos-os-produtos-3m-do-brasil/~/Placa-3M-Petrifilm-para-Contagem-Aer%C3%B3bica-6406-1000-por-caixa/?N=5002385+3293190468&rt=rud)> Acesso em: 11 jan. 2020.

ALMEIDA, Ana Amélia Paolucci et al. **Inibição de Salmonella Typhimurium por compostos de café em diferentes valores de ph e eficiência conservante em modelo alimentar.** 2007.

ALMEIDA, Elizabeth Gomes de et al. **Desenvolvimento de goma de mandioca colorida com bioativos da beterraba (beta vulgaris).** 2017.

ARAÚJO, Francisca Mariane Martins et al. **Avaliação da qualidade microbiológica de farinhas de mandioca e tapioca produzidas no município de Castanhal – PA.** p. 1-388–416. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 23, de 14 de dezembro de 2005. **Regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos amiláceos derivados da raiz de mandioca.** Diário Oficial da União, Brasília, 15 dez. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº331, de 23/12/2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, 26 dez. 2019. Seção I, p. 96.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução Normativa nº60, de 23/12/2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Listas de padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, 26 dez. 2019. Seção I, p. 133.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº326, de 30/07/1997, da Secretaria de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº275, de 21/10/2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **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, 23 out. 2002. Seção I, p. 126.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº263, de 22/09/2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos.** Diário Oficial da União, Brasília, 23 set. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº12, de março de 1978. **Comissão nacional de normas e padrões para alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, Seção I, p. 11.528.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, 1997. Técnica de Coloração de Gram.** 63 p.: il.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento; da Reforma Agrária. Secretaria de Desenvolvimento Rural. **Fabricação de amido de mandioca.** 1995.

COLETTI, Douglas. **Gerenciamento da segurança dos alimentos e da qualidade na indústria de alimentos.** 2012.

COSTA, Ane Francyne. **Novas abordagens no diagnóstico laboratorial de micoses: o sistema MALDI-TOF MS.** 2016.

COSTA, João Carlos Duarte. **Validação de um método de cromatografia de alta eficiência para determinação de conservantes em géneros alimentícios.** 2015. Tese de Doutorado. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.

DE ALCÂNTARA PONTES, Alessandra Karina et al. **Microrganismos dos Alimentos: Patogênicos, Deteriorantes e Indicadores de Qualidade.** Ciências da saúde [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa 9, p. 1-388–416. 2020

DOS SANTOS MASCARENHAS, Luís Renato. **Fatores de virulência de Bacillus cereus sensu stricto isolados de alimentos.** 2018.

FERRAZ, Renato Ribeiro Nogueira et al. **Avaliação das Boas Práticas de Fabricação em uma indústria paulista de doces tradicionais.** UNILUS Ensino e Pesquisa, v. 12, n. 26, p. 17-21, 2015.

FERREIRA, Sandra Maria dos Santos. **Contaminação de alimentos ocasionada por manipuladores.** 2006.

FERREIRA NETO, Cândido José; FIGUEIRÊDO, Rossana Maria Feitosa de; QUEIROZ, Alexandre José de Melo. **Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas**. Ciência e Agrotecnologia, v. 29, n. 4, p. 795-802, 2005.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Artmed Editora, 2013.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, cap. 3, p. 27-32. 1996

GREGHI, Simone de Queiróz et al. **Avaliação da eficiência de métodos rápidos usados para detecção de coliforme totais e coliforme fecais em amostras de água, em comparação com a técnica de fermentação em tubos múltiplos**. 2005.

GUIMARÃES, Saul Lopo; FIGUEIREDO, Elaine Lopes. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias de panificadoras localizadas no município de Santa Maria do Pará - PA**. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 4, n. 2, p. 198-206, 2010.

HOFFMANN, Fernando Leite. **Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos**. Brasil alimentos, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.

LECK, Astrid. **Preparation of lactophenol cotton blue slide mounts**. Community Eye Health, v. 12, n. 30, p. 24, 1999.

LIMA, Cristine Paiva de Sousa et al. **Presença de microrganismos indicadores de qualidade em farinha e goma de mandioca (Manihot esculenta, Crantz)**. Revista APS, v. 10, n. 1, p. 14-19, 2007.

LIMA, Taise Alves de. **Aplicação de boas práticas de fabricação em uma fracionadora de alimentos em Lages – SC**. Centro Universitário FACVEST – UNIFACVEST. 2020.

LUIZ, Selma Francisco et al. **ANÁLISE DE GLÚTEN EM PRODUTOS INDUSTRIALIZADOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE GLÚTEN**. Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, v. 1, n. 9, p. 1-14, 2020.

LUNA, Aurilene Tavares de et al. **Estudo físico-químico, bromatológico e microbiológico de Manihot esculenta Crantz (Mandioca)**. Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia, v. 1, n. 2, 2013.

MACHADO, Gabriela Galante. **Avaliação das boas práticas de fabricação em panificadoras por meio da aplicabilidade de checklist no município de Campinas-SP**. International Journal of Health Management Review, v. 5, n. 1, 2019.

MATTOS, P. L. P de.; FARIAS, Alba Rejane Nunes; FERREIRA FILHO, José Raimundo. **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006.

METTLER TOLLEDO. **Um guia para medição de pH**. 2020.

Novasina LasMaster-Aw

Disponível em: <[www.atividadedeagua.com.br](http://www.atividadedeagua.com.br)> Acesso em: 11 jan. 2020.

OLIVEIRA, Ana Beatriz Almeida de et al. **Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão**. Revista HCPA. Porto Alegre. Vol. 30, n. 3 (Jul./set. 2010), p. 279-285, 2010.

OLIVEIRA, Suely Cristina Pereira de Lima; SILVA, Amanda Chagas da; CARVALHO, Maria das Graças Xavier de. **Diagnóstico das condições higienicossanitárias do processo de fabricação de queijo de coalho no Sertão Paraibano**. Hig. aliment, p. 66-71, 2018.

PROTESTE SAÚDE. **Nem tão saudáveis: tapiocas**. p. 6-9, Julho de 2016.

PROTESTE SAÚDE. **Tapiocas: ainda há marcas com as--l demais**. p 10-12, Outubro de 2017.

QUINTÃO, Cinthia Soares Cardoso et al. **Avaliação das boas práticas de fabricação em laticínio do município de Rio Pomba, MG**. Hig. aliment, p. 69-72, 2013.

RODRIGUES, Jaime. **“De farinha, bendito seja Deus, estamos por agora muito bem”**: uma história da mandioca em perspectiva atlântica. Revista Brasileira de História, v. 37, n. 75, p. 69-95, 2017.

SANTOS, Júlio César Pinheiro. **Boas práticas de fabricação (BPF) em uma indústria de água mineral**. 2017.

SANTOS, Vidianny Aparecida Queiroz. **Perfil microbiano, físico-químico e avaliação das boas práticas de fabricação (BPF) de queijos Minas frescal e ricota**. 2009.

SANTOS, C.; LIMA, Nelson. **A identificação de Fungos pela espectrometria de massa através da Técnica de MALDI-TOF ICMS**. 2010.

SOUSA, Cristina Paiva. **Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos**. Revista APS, v. 9, n. 1, p. 83-88, 2006.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos**. Ciência & saúde coletiva, v. 13, p. 1675-1683, 2008.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. **Análise microbiológica em goma de tapioca industrializada**. Journal of Environmental Analysis and Progress, v. 3, n. 2, p. 226-231, 2018.

SILVA, Edgar Machado da. **Implantação das boas práticas de fabricação em uma agroindústria de produtos cárneos embutidos no município de São Jerônimo – RS**. 2011.

SILVA, Henrique Ataíde da; MURRIETA, Rui Sérgio Sereni. **Mandioca, a rainha do Brasil? Ascensão e queda da *Manihot esculenta* no estado de São Paulo**. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas, v. 9, n. 1, p. 37-60, jan.-abr. 2014.

SILVA, N. D. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª. ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SCHMITZ, Lori S.; DE BRUM, Marco AR; TERRA, Nelcindo N. **A atividade de água na conservação dos alimentos**. Revista do Centro de Ciências Rurais, v. 9, n. 1, 2008.

VILA, Flávia Ribeiro Rivera; MELLO, Isabel Carreira de Oliveira. **Diagnóstico das boas práticas de fabricação em uma indústria de cerveja: um estudo de caso**. 2019.

## APÊNDICE A – CHECKLIST APLICADO

AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	OBS
<b>1) Edificações e Instalações</b>			
<b>1.1 Construção e layout dos Prédios</b>			
<b>1.1.1 Requisitos Gerais:</b>			
1.1.1.1 Prédio projetado, construído e mantido de modo apropriado à natureza das operações de processamento			
1.1.1.2 A construção é de material durável que não apresenta perigo aos produtos			
<b>1.1.2 Ambiente de trabalho:</b>			
1.1.2.1 Atenção é dada para potenciais fontes de contaminação do ambiente			
1.1.2.2 A produção de alimentos é conduzida em áreas onde substâncias potencialmente perigosas não possam ter contato com o produto			
1.1.2.3 É verificada periodicamente a eficácia das medidas tomadas para a proteção contra potenciais contaminantes			
<b>1.1.3 Localização dos estabelecimentos:</b>			
1.1.3.1 As delimitações da unidade são claramente identificadas			
1.1.3.2 Acesso às instalações é controlado			
1.1.3.3 Unidade mantida em bom estado			
1.1.3.4 Vegetação podada ou removida			
1.1.3.5 Ruas internas, jardins ou áreas de estacionamento tem drenagem suficiente e adequada manutenção			
<b>1.2 Layout das dependências e espaço de trabalho</b>			
<b>1.2.1 Requisitos gerais:</b>			
1.2.1.1 O layout interno é projetado, construído e mantido para facilitar a higiene e BPF			
1.2.1.2 Os padrões de circulação de materiais, produtos e pessoas e o layout de equipamentos é projetado para proteger contra fontes de contaminação			
<b>1.2.2 Projeto interno, layout e padrões de trânsito:</b>			
1.2.2.1 As construções promovem espaço adequado, com fluxo lógico de materiais, produtos e pessoal, e separação física de matérias primas e áreas de processados			
1.2.2.2 Aberturas específicas para a transferência de materiais são projetadas de maneira a minimizar a entrada de material estranho e pragas			
<b>1.2.3 Estruturas internas e acessórios:</b>			
1.2.3.1 As paredes das áreas de processo e pisos são laváveis ou fáceis de limpar e são de materiais resistentes ao sistema de higienização			
1.2.3.2 As junções entre piso e parede e os cantos são projetados para facilitar a limpeza			
1.2.3.3 Os cantos são arredondados nas áreas de processos			
1.2.3.4 Pisos são projetados para evitar estagnação de água			
1.2.3.5 Forros e estrutura aéreas são projetados para minimizar o acúmulo de poeira e condensação			
1.2.3.6 Janelas com abertura à parede externa, respiradores, exaustores ou ventiladores são telados para evitar entrada de insetos			
1.2.3.7 Portas de acesso à área externa são mantidas fechadas ou teladas quando não estiverem em uso			
<b>1.2.4 Localização dos equipamentos:</b>			

1.2.4.1 Os equipamentos são projetados e localizados de modo a facilitar as BP de higiene e o monitoramento			
1.2.4.2 Os equipamentos estão localizados de maneira a permitir acesso à operação, limpeza e manutenção			
<b>1.2.5 Instalações temporárias ou móveis e máquinas de vendas:</b>			
1.2.5.1 Estruturas temporárias são projetadas, localizadas e construídas para evitar o abrigo de pragas e a contaminação potencial dos produtos			
1.2.5.2 Perigos adicionais associados às estruturas temporárias e máquinas de venda devem ser avaliados e controlados			
<b>1.2.6 Armazenamento de alimentos, material de embalagem, ingredientes e químicos não alimentícios:</b>			
1.2.6.1 Instalações usadas para armazenar ingredientes, embalagens e produtos promovem a proteção contra poeira, condensação, ralos, resíduos e outras fontes de contaminação			
1.2.6.2 Áreas de armazenamento são secas e bem ventiladas além do monitoramento e controle de temperatura e umidade ser aplicado quando especificado			
1.2.6.3 Áreas de armazenamento são projetadas ou organizadas para permitir separação entre matérias-primas, produto em processo e produto acabado			
1.2.6.4 Todos os materiais e produtos são estocados fora de contato com o piso e com espaço suficiente entre o material e as paredes, para permitir inspeção e a execução das atividades do controle de pragas.			
1.2.6.5 A área de armazenamento é projetada para permitir a manutenção e limpeza, evitar a contaminação e minimizar a deterioração			
1.2.6.6 Uma área de estocagem separada e segura (trancada ou com acesso controlado) é fornecida para material de limpeza, químicos ou outras substâncias perigosas			
1.2.6.7 Exceções para material a granel, agrícola e materiais de cultivo são documentadas no sistema de gestão de segurança de alimentos			
<b>1.3 Utilidades - ar, água, energia</b>			
<b>1.3.1 Requerimentos gerais:</b>			
1.3.1.1 As rotas de distribuição e fornecimento de utilidades para e ao redor de áreas de processamento e estocagem são projetadas para minimizar o risco de contaminação do produto.			
1.3.1.2 A qualidade das utilidades fornecidas é monitorada para minimizar o risco de contaminação dos produtos			
<b>1.3.2 Abastecimento de água:</b>			
1.3.2.1 As fontes de água potável são suficientes para as necessidades do processo produtivo.			
1.3.2.2 Instalações para armazenamento, distribuição, e quando necessário, controle de temperatura de água, são projetadas para atender as especificações de qualidade e potabilidade da água			
1.3.2.3 A água usada na produção como ingrediente, inclusive gelo ou vapor (incluindo vapor culinário), ou em contato com produtos ou com superfícies de contato com os produtos, atende especificações de qualidade e requisitos microbiológicos relevantes ao produto			
1.3.2.4 A água usada para limpeza ou outras aplicações em que há risco de contato direto com o produto atende especificações de qualidade e requisitos microbiológicos relevantes à aplicação.			
1.3.2.5 Onde a água de abastecimento for clorada, o monitoramento garante que o nível de cloro residual no ponto de utilização mantém-se dentro dos limites estabelecidos por especificações relevantes			
1.3.2.6 A água não potável tem um sistema separado de abastecimento que seja identificado e não conectado com o sistema de água potável			
1.3.2.7 São tomadas as medidas para prevenir que haja refluxo de água não potável no sistema potável			

1.3.2.8 A água que possa entrar em contato com o produto flui em tubulação que pode ser desinfectada			
1.3.2.9 Existe POP sobre o controle da potabilidade da água			
1.3.2.9.1 Este inclui etapas onde a potabilidade é crítica para o processo produtivo			
1.3.2.9.2 Este especifica os locais de coleta das amostras			
1.3.2.9.3 Este inclui a frequência de sua execução e das determinações analíticas			
1.3.2.9.4 Este inclui a metodologia aplicada e os responsáveis			
<b>1.3.3 Qualidade do ar e ventilação:</b>			
1.3.3.1 A organização estabelece requisitos para filtração, umidade (UR%) e microbiologia do ar usado como ingrediente ou ar em contato direto com o produto			
1.3.3.2 Onde a temperatura e/ou umidade for crítica para a organização, um sistema de controle é implementado e monitorado			
1.3.3.3 Ventilação (natural ou mecânica) é provida para remover o excesso de vapor indesejado, poeira e odores, e facilitar a secagem após limpeza úmida			
1.3.3.4 A qualidade do ar ambiente é controlada para minimizar o risco de contaminação microbiológica por essa via			
1.3.3.5 Especificações para o monitoramento e controle da qualidade de ar são estabelecidas em áreas onde produtos que aumentam o crescimento ou sobrevivência de micro-organismos estejam expostos			
1.3.3.6 Sistemas de ventilação são projetados e construídos de tal maneira que o ar não flua das áreas sujas ou de matérias primas para áreas limpas ou de produto acabado			
1.3.3.7 O sistema de ventilação é acessível à limpeza, manutenção e substituição de filtros			
1.3.3.8 Sistema de sucção de ar externo são verificados periodicamente quanto à sua integridade física			
<b>1.3.4 Iluminação:</b>			
1.3.4.1 A iluminação fornecida (natural ou artificial) permite que o pessoal opere de maneira higiênica			
1.3.4.2 A intensidade da iluminação é apropriada à natureza da operação			
1.3.4.3 Luminárias são protegidas de maneira a garantir que materiais, produtos ou equipamentos não serão contaminados em caso de quebras			
<b>1.4 Descarte de resíduos</b>			
<b>1.4.1 Requisitos gerais:</b>			
1.4.1.1 Um sistema é estabelecido para garantir que os resíduos sejam identificados, coletados, removidos e descartados de maneira a prevenir contaminação de produtos ou áreas de produção			
1.4.1.2 Esse sistema estabelece a frequência e o responsável pelo manejo dos resíduos			
<b>1.4.2 Recipiente para resíduos e substâncias perigosas não comestíveis:</b>			
1.4.2.1 Os coletores para resíduos e substâncias não comestíveis ou perigosas são:			
1.4.2.1.1 Claramente identificados ao seu propósito			
1.4.2.1.2 Localizado em área determinada			
1.4.2.1.3 Construído de materiais impermeáveis que possam ser rapidamente limpos e sanitizados			
1.4.2.1.4 fechados quando não estiverem sendo imediatamente usados			
1.4.2.1.5 trancados quando o resíduo apresentar risco ao produto			
<b>1.4.3 Gestão e remoção dos resíduos:</b>			

1.4.3.1 Recursos são dados para a segregação, armazenamento e remoção dos resíduos			
1.4.3.2 Acúmulo de resíduos não é permitido em áreas de manipulação e estocagem			
1.4.3.3. As frequências de remoção são gerenciadas de maneira a evitar acúmulo, com no mínimo uma remoção diária			
1.4.3.4 Material de rotulagem, produtos ou embalagens impressas destinadas ao descarte são descaracterizados ou destruídos para garantir que a marca não seja reutilizada			
1.4.3.5 A remoção e destruição são conduzidas por terceiros qualificados, onde a organização mantém registros dessa destruição			
<b>1.4.4 Ralos e escoamento / drenagem:</b>			
1.4.4.1 Ralos são projetados, construídos e localizados de maneira que o risco de contaminação dos materiais e produtos seja evitado			
1.4.4.2 Ralos tem capacidade suficiente para remover a demanda de fluxo			
1.4.4.3 Drenos não passam sobre as linhas de produção			
1.4.4.4 O sentido do escoamento não é de uma área contaminada para uma área limpa			
<b>1.5 Controle de Pragas</b>			
<b>1.5.1 Requisitos Gerais:</b>			
1.5.1.1 Higiene, limpeza, inspeção de materiais recebidos e procedimentos de monitoramento são implementados para evitar a criação de um ambiente que contribua para as atividades das pragas			
<b>1.5.2 Programas para controle de pragas:</b>			
1.5.2.1 O estabelecimento tem uma pessoa definida para gerenciar as atividades de controle de pragas e/ou lidar com terceiros especializados contratados			
1.5.2.2 Os programas de controle de pragas são documentados e identificam as pragas-alvo e direcionar plano, métodos, cronogramas, procedimentos de controle e onde necessário, requisitos de treinamento			
1.5.2.3 Os programas incluem uma lista de produtos químicos que sejam aprovados para uso em áreas específicas do estabelecimento			
1.5.2.4 Os programas contemplam medidas preventivas e corretivas destinadas a impedir a atração, o abrigo, o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas			
<b>1.5.3 Prevenção ao acesso:</b>			
1.5.3.1 Os prédios são mantidos em boas condições			
1.5.3.1.1 Buracos, ralos e outros pontos de acesso potenciais são fechados			
1.5.3.2 Portas externas, janelas ou aberturas de ventilação são projetadas para minimizar o potencial de entrada de pragas			
<b>1.5.4 Abrigo e infestação:</b>			
1.5.4.1 As práticas de estocagem são planejadas para minimizar a disponibilidade de alimento e água para as pragas			
1.5.4.2 Materiais infestados são manuseados de maneira a prevenir a contaminação de outros materiais, produtos ou instalações			
1.5.4.3 Abrigos potenciais para pragas (buracos, mato, itens estocados) são removidos			
1.5.4.4 Quando espaços externos forem usados para armazenamento, os itens estocados são protegidos do tempo e de danos causados por pragas			
<b>1.5.5 Monitoramento e detecção:</b>			
1.5.5.1 Os programas de monitoramento de pragas incluem a instalação de detectores ou armadilhas em locais estratégicos para identificar a atividade das pragas.			
1.5.5.1.1 Um mapa das iscas e armadilhas é mantido			

1.5.5.1.2 Detectores e armadilhas são projetados e localizados de maneira a prevenir a contaminação potencial de materiais, produtos e instalações			
1.5.5.2 Detectores e armadilhas são de construções robusta e inviolável			
1.5.5.2.1 Detectores e armadilhas são apropriados às pragas-alvo			
1.5.5.3 Os detectores e armadilhas são inspecionados em frequência necessária para a identificação de novas atividades de pragas.			
1.5.5.3.1 Os resultados da inspeção são analisados para se identificar tendências			
<b>1.5.6 Erradicação:</b>			
1.5.6.1 Medidas de erradicação são postas em prática imediatamente após evidência de infestação ser relatada			
1.5.6.2 Utilização e aplicação de pesticidas ficam restritas ao pessoal treinado e são controladas para evitar riscos à segurança dos produtos			
1.5.6.3 Registros do uso de pesticidas são mantidos para mostrar o tipo, a quantidade e as concentrações utilizadas, onde, quando e como foi aplicado, e as pragas-alvo			
<b>2) Equipamentos, móveis e utensílios</b>			
<b>2.1 Adequação de equipamentos, limpeza e manutenção</b>			
<b>2.1.1 Requisitos gerais:</b>			
2.1.1.1 Equipamentos de contato com os alimentos são projetados e construídos para facilitar a limpeza, desinfecção e manutenção			
2.1.1.2 Superfícies de contato não afetam o produto ou o sistema de higienização ou são afetados por eles			
2.1.1.3 Equipamentos de contato com os alimentos são construídos de material durável e capaz de resistir a repetidas higienizações			
<b>2.1.2 Desenho sanitário:</b>			
2.1.2.1 Os equipamentos são capazes de atender princípios de desenho sanitário. Incluindo:			
2.1.2.1.1 Superfícies lisas, acessíveis higienizáveis e com sistema de drenagem em áreas de processos úmidas			
2.1.2.1.2 Uso de material compatível com o tipo de produto e agentes de limpeza ou enxágue			
2.1.2.1.3 Estrutura não penetrada por orifícios, parafusos e porcas			
2.1.2.2 Tubulações e dutos de ar são higienizáveis, drenáveis e sem cantos mortos			
2.1.2.3 Os equipamentos são projetados para minimizar o contato entre as mãos dos operadores e os produtos			
<b>2.1.3 Superfície de contato com produtos:</b>			
2.1.3.1 Superfícies de contato com o produto são construídas de materiais projetados para o uso em alimentos			
2.1.3.2 Superfícies de contato são impermeáveis e livres de corrosão e ferrugem			
<b>2.1.4 Equipamentos para monitoramento e controle da temperatura:</b>			
2.1.4.1 Equipamentos usados em processos térmicos são capazes de atingir e manter o gradiente de temperatura determinado nas especificações relevantes dos produtos			
2.1.4.2 Os equipamentos possibilitam o monitoramento e o controle da temperatura			
<b>2.1.5 Sistema de limpeza, utensílios e equipamentos:</b>			
2.1.5.1 Programas de limpeza úmida e seca são documentados para garantir que toda a planta, utensílios e equipamentos sejam limpos em frequências definidas			
2.1.5.2 Os programas especificam o que será limpo (incluindo ralos), as responsabilidades os métodos de limpeza (ex: IP/COP), o uso de utensílios			

de limpeza dedicados, requisitos para remoção ou desmonte e métodos para verificar a eficácia da limpeza			
<b>2.1.6 Manutenção corretiva e preventiva:</b>			
2.1.6.1 Existe um programa de manutenção preventiva implementado			
2.1.6.1.1 Esse programa contempla a periodicidade e os responsáveis pela manutenção dos equipamentos envolvidos no processo produtivo do alimento			
2.1.6.2 O programa de manutenção preventiva inclui todos os dispositivos usados para monitorar e/ou controlar perigos de segurança de alimentos			
2.1.6.3 A manutenção corretiva é efetuada de maneira que a produção em linhas adjacentes ou equipamentos vizinhos não corram o risco de serem contaminados			
2.1.6.4 Solicitações de manutenção que tenham impacto na segurança do produto têm prioridade			
2.1.6.5 Reparos temporários não colocam a segurança do produto em risco			
2.1.6.6 Uma requisição para substituição por um reparo permanente está incluída na programação da manutenção			
2.1.6.7 Lubrificantes e fluido de troca de calor são de grau alimentício onde há o risco de contato direto ou indireto com o produto			
2.1.6.8 O procedimento para liberação do equipamento pós-manutenção de volta à produção inclui limpeza, sanitização e inspeção pré utilização			
2.1.6.9 Requisitos do PPR são aplicáveis às áreas de manutenção e às atividades de manutenção que ocorrem em áreas de processo			
2.1.6.10 O pessoal de manutenção é treinado nos perigos ao produto, associados à sua atividade			
<b>2.2 Medidas para a prevenção da contaminação cruzada</b>			
<b>2.2.1 Requisitos gerais:</b>			
2.2.1.1 Programas estão implementados para prevenir, controlar e detectar a contaminação			
2.2.1.1.1 Medidas para prevenir a contaminação física, microbiológica e por alergênicos estão incluídas			
<b>2.2.2 Contaminação cruzada microbiológica:</b>			
2.2.2.1 Áreas onde há potencial para contaminação cruzada microbiológica são identificadas e um plano de segregação é implementado			
2.2.2.2 Uma avaliação dos perigos é conduzida para determinar as fontes potenciais de contaminação, suscetibilidade do produto e medidas de controle adequadas para essas áreas, tais como:			
2.2.2.2.1 Separação de matérias-primas (ou produto cru) de produto acabado ou pronto para o consumo			
2.2.2.2.2 Segregação estrutural - barreiras físicas, paredes ou prédios separados			
2.2.2.2.3 Controle de acesso com requisitos de troca de uniformes			
2.2.2.2.4 Identificação das áreas de circulação ou segregação de equipamentos - pessoal, materiais, equipamentos e ferramentas			
2.2.2.2.5 Diferencial de pressão do ar			
<b>2.2.3 Gestão de alergênicos:</b>			
2.2.3.1 Alergênicos presentes nos produtos, tanto por fazer parte da formulação ou por potencial contaminação cruzada no processamento, é declarado			
2.2.3.1.1 A declaração consta no rótulo para o consumidor e em etiqueta ou documentação que acompanha o produto destinado a um processamento posterior			
2.2.3.2 Os produtos são protegidos de contaminação cruzada não intencional através de limpeza e práticas adequadas de trocas ou sequenciamento de produção			

2.2.3.3 Retrabalho contendo alergênicos somente é utilizado			
2.2.3.3.1 Em produtos que contém o mesmo alergênico na formulação			
2.2.3.3.2 Através de um processo que demonstre que há remoção ou destruição do material alergênico			
2.2.3.4 Manipuladores de alimentos recebem treinamentos específicos em conscientização sobre alergênicos e práticas de fabricação correlatas			
<b>2.2.4 Contaminação física:</b>			
2.2.4.1 Onde vidro ou materiais quebráveis forem usados, requisitos de inspeções periódicas e procedimentos definidos em caso de quebra são implementados			
2.2.4.2 Materiais quebráveis, tais como vidros e componentes feitos em plástico duro, são evitados onde possível			
2.2.4.3 Registros da quebra de vidro são mantidos			
2.2.4.4 Baseadas na análise de perigos, medidas são implementadas para prevenir, controlar ou detectar potencial contaminação			
<b>2.3 Sanitização</b>			
<b>2.3.1 Requisitos gerais:</b>			
2.3.1.1 Programas de limpeza e sanitização são estabelecidos para garantir que os equipamentos que processam os alimentos e o ambiente sejam mantidos em condições higiênicas.			
2.3.1.1.1 Os programas são monitorados para contínua adequação e eficácia			
2.3.1.1.2 Os programas contêm informações sobre:			
2.3.1.1.2.1 Natureza da superfície a ser higienizada			
2.3.1.1.2.2 Métodos de higienização			
2.3.1.1.2.3 Princípio ativo selecionado e sua concentração			
2.3.1.1.2.4 Tempo de contato dos agentes químicos e ou físicos utilizados na operação			
2.3.1.1.2.5 Temperatura e outras informações que se fazem necessárias			
<b>2.3.2 Utensílios e agentes de limpeza e sanitização:</b>			
2.3.2.1 As instalações e os equipamentos são mantidos em uma condição que facilite a limpeza úmida ou seca e/ou a sanitização			
2.3.2.2 Os agentes e químicos de limpeza e sanitização são claramente identificados, são de grau alimentício, armazenados separadamente e usados somente de acordo com as instruções do fabricante			
2.3.2.3 Os utensílios e equipamentos são de desenho sanitário e mantidos em condições que não apresentem uma potencial fonte de material estranho			
<b>2.3.3 Programas de limpeza e sanitização:</b>			
2.3.3.1 Os programas de limpeza e sanitização são estabelecidos e validados pela organização para garantir que todas as partes do estabelecimento e equipamentos sejam limpas e/ou sanitizadas de acordo com uma programação definida			
2.3.3.2 Os programas de limpeza e/ou sanitização especificam, no mínimo			
2.3.3.2.1 Áreas, itens de equipamentos e utensílios a serem limpos e/ou sanitizados			
2.3.3.2.2 Responsáveis pelas tarefas especificadas			
2.3.3.2.3 Método de limpeza/sanitização e frequência			
2.3.3.2.4 Arranjos de monitoramento e verificação			
2.3.3.2.5 Inspeção pós-limpeza			
2.3.3.2.6 Inspeções pré-partida de linha			
<b>2.3.4 Sistemas cleaning in place (CIP):</b>			

2.3.4.1 Sistemas CIP são separados das linhas de produção operantes			
2.3.4.2 Os parâmetros para o sistema CIP são definidos e monitorados (incluindo tipo, concentração, tempo de contato e temperatura de qualquer químico usado)			
<b>2.3.5 Monitoramento da eficácia da sanitização:</b>			
2.3.5.1 Os programas de limpeza e sanitização são monitorados as frequências especificadas pela organização para garantir sua contínua adequação e eficácia			
<b>3) Manipuladores</b>			
<b>3.1 Requisitos de higiene pessoal e instalações para funcionários</b>			
<b>3.1.1 Requisitos gerais</b>			
3.1.1.1 Requisitos para higiene pessoal e comportamentos são estabelecidos e documentados, sendo condizentes aos perigos representados para a área de processo ou produto.			
3.1.1.1.1 Os requisitos documentados são cumpridos pelos funcionários, visitantes e contratados			
3.1.1.1.2 O documento contempla as etapas, frequência e os princípios ativos usados para a lavagem e antissepsia das mãos dos manipuladores			
<b>3.1.2 Instalações para higiene pessoal e sanitários:</b>			
3.1.2.1 As instalações para higiene do pessoal estão disponíveis para garantir que o grau de higiene pessoal necessário para a organização seja mantida			
3.1.2.2 As instalações estão localizadas próximas aos pontos onde os requisitos de higiene são aplicáveis e são claramente indicadas			
3.1.2.3 O estabelecimento			
3.1.2.3.1 Provem número, locais e meios adequados para a lavagem e secagem higiênica das mãos, e quando necessário sanitizá-las			
3.1.2.3.2 Disponibiliza pias designadas para a lavagem das mãos, com torneiras não acionadas por contato manual, separadas das pias para uso de manipulação de alimentos e limpeza de equipamentos			
3.1.2.3.3 Provem um número adequado de toaletes com desenho sanitário adequado, cada um com instalações para lavar, secar e quando requerido, sanitizar as mãos			
3.1.2.3.4 Tem instalações sanitárias que não abram diretamente para áreas de produção, embalagem ou estocagem			
3.1.2.3.5 Tem vestiários adequados ao pessoal			
3.1.2.3.6 Tem vestiários localizados de maneira a permitir que os manipuladores de alimentos se movimentem até a área de produção de forma que o risco de sujeiras no uniforme seja minimizado			
<b>3.1.3 Refeitórios e áreas para consumo de alimentos:</b>			
3.1.3.1 Os refeitórios e áreas para armazenamento e consumo de alimentos estão localizados de maneira que a contaminação cruzada potencial das áreas de produção seja minimizada			
3.1.3.2 Os refeitórios são administrados para garantir estocagem de ingredientes e preparação, armazenamento e distribuição dos alimentos preparados de maneira higiênica			
3.1.3.2.1 Condições de estocagem e temperaturas de estocagem, de cozimento e manutenção dos alimentos, e limitação de tempo, são especificadas			
3.1.3.2.2 Alimentos próprios dos funcionários são guardados e consumidos somente em áreas específicas			
<b>3.1.4 Uniformes e roupas de proteção individual:</b>			
3.1.4.1 Pessoal que trabalha ou acessa áreas onde há produto exposto e/ou materiais que são manipulados usam uniforme adequado ao propósito, limpo e em boas condições			

3.1.4.2 Roupas mandatórias para a proteção do alimento ou para a higiene não são usadas para qualquer outra finalidade			
3.1.4.3 Uniformes não tem botões			
3.1.4.4 Uniformes não têm bolsos externos acima da linha da cintura (zíperes ou botões de pressão são aceitáveis)			
3.1.4.5 Uniformes são lavados de acordo com os padrões, a intervalos adequados ao uso pretendido destas roupas			
3.1.4.6 O uniforme oferece cobertura adequada, que assegura que o cabelo, a transpiração, etc. não contaminem o produto			
3.1.4.7 Cabelos, barba e bigode são protegidos (completamente cobertos) por máscaras, a menos que a análise de perigos identifique que não é necessário			
3.1.4.8 Onde luvas são usadas para contato com o produto, elas são limpas e em boas condições.			
3.1.4.8.1 O uso de luvas de látex é evitado onde possível			
3.1.4.9 Sapatos usados em áreas de processamento são completamente fechados e feitos de materiais não absorventes			
3.1.4.10 Equipamentos de proteção individual, quando requeridos, são desenhados para prevenir a contaminação do produto e mantidos em condições higiênicas			
<b>3.1.5 Condições de saúde:</b>			
3.1.5.1 Os funcionários submetem-se a exames médicos antes de serem contratados em operações em que há contato com os alimentos (incluindo os refeitórios)			
3.1.5.2 Exames de saúde adicionais, quando permitidos, são realizados a intervalos definidos pela organização			
<b>3.1.6 Enfermidades e ferimentos:</b>			
3.1.6.1 Os funcionários são requeridos a relatar as suas condições de saúde para que seja gerenciada a possível exclusão do funcionário das áreas de manipulação de alimentos			
3.1.6.2 As pessoas que se suspeitem ou se saibam de estar infectadas com, ou serem portadoras de enfermidades transmissíveis através do alimento são afastadas da manipulação de alimentos			
3.1.6.3 Em áreas de manipulação de alimentos, funcionários com feridas ou queimaduras cobrem as áreas afetadas com curativos específicos			
<b>3.1.7 Asseio pessoal:</b>			
3.1.7.1 Funcionários em áreas de produção de alimentos lavam, e quando requeridos sanitizam as mãos:			
3.1.7.1.1 Antes de iniciar qualquer atividade de manipulação de alimentos			
3.1.7.1.2 Imediatamente após usar o toalete ou assoar o nariz			
3.1.7.1.3 Imediatamente após manipular qualquer material potencialmente contaminado			
3.1.7.2 Funcionários evitam espirrar ou tossir sobre produtos e materiais			
3.1.7.3 As unhas das mãos são mantidas limpas e aparadas			
<b>3.1.8 Comportamento pessoal:</b>			
3.1.8.1 Uma política documentada descreve os comportamentos requeridos ao pessoal das áreas de processamento, embalagem e estocagem			
<b>3.1.8.2 A política cobre:</b>			
3.1.8.2.1 Permissão para fumar, comer e mascar somente em áreas designadas			
3.1.8.2.2 Medidas de controle para minimizar os perigos representados por acessórios permitidos, tais como aqueles utilizados por funcionários levando em consideração obrigações religiosas, étnicas, médicas e culturais			

3.1.8.2.3 Permissão para itens pessoais, tais como cigarros e medicamentos, somente em áreas específicas			
3.1.8.2.4 Proibição do uso de esmalte, unhas postiças e cílios postiços			
3.1.8.2.5 Proibição de carregar canetas ou similares atrás das orelhas			
3.1.8.2.6 Manutenção dos armários pessoais de maneira que se mantenham livres de lixo e roupas sujas			
3.1.8.2.7 Proibição de armazenamento de ferramentas e equipamentos de contato com produtos nos armários pessoais			
<b>4) Produção e transporte</b>			
<b>4.1 Gestão da aquisição</b>			
<b>4.1.1 Requisitos gerais:</b>			
4.1.1.1 A compra de materiais que tenham impacto na segurança dos alimentos é controlada para garantir que os fornecedores utilizados tenham a capacidade de atender os requisitos especificados			
4.1.1.2 A conformidade dos materiais recebidos, em relação aos requisitos especificados, deve ser verificada			
4.1.1.3 Existe POP especificando os critérios utilizados para a seleção e recebimento da matéria-prima, embalagens e, quando aplicável, o tempo de quarentena			
4.1.1.3.1 Esses procedimentos preveem o destino dado às matérias-primas, embalagens e ingredientes reprovados no controle efetuado			
<b>4.1.2 Seleção e gestão de fornecedores:</b>			
4.1.2.1 Há um processo definido para a seleção, aprovação e monitoramento de fornecedores.			
4.1.2.2 O processo adotado é justificado pela análise de perigos, incluindo risco potencial ao produto final e inclui:			
4.1.2.2.1 Avaliação da habilidade do fornecedor em atender as expectativas em termos de segurança de alimentos, requisitos e especificações			
4.1.2.2.2 Descrição de como os fornecedores são avaliados			
4.1.2.2.3 Monitoramento do desempenho de fornecedores para garantir a continuidade do status de aprovação			
<b>4.1.3 Requisitos para o recebimento de materiais (matérias-primas/ ingredientes/ embalagens):</b>			
4.1.3.1 Os veículos de entrega são checados antes e durante o descarregamento, para verificar se a qualidade e a segurança dos materiais foram mantidas durante o transporte			
4.1.3.2 Os materiais são inspecionados, analisados ou cobertos por certificados de análise para verificação da conformidade com os requisitos especificados, antes de sua aceitação, liberação e uso.			
4.1.3.2.1 O método de verificação é documentado			
4.1.3.3 Materiais que não estejam conformes com as especificações são tratados de acordo com um procedimento documentado, que garanta uma prevenção quanto ao uso não intencional			
4.1.3.4 Pontos de acesso às linhas e sistemas de recebimento de materiais a granel são identificados, tampados e trancados			
4.1.3.4.5 O descarregamento em tais sistemas acontece somente após aprovação e verificação do material a ser recebido			
<b>4.2 Retrabalho</b>			
<b>4.2.1 Requisitos gerais:</b>			
4.2.1.1 O retrabalho é armazenado, manipulado e utilizado de maneira que a segurança, qualidade, rastreabilidade conformidade legal do produto sejam mantidas			
<b>4.2.2 Armazenamento, identificação e rastreabilidade:</b>			
4.2.2.1 Retrabalho armazenado é protegido da exposição à contaminação microbiológica, química ou por material estranho			

4.2.2.2 Requisitos de segregação para retrabalho é documentado e atendido			
4.2.2.3 O retrabalho é claramente identificado e/ou rotulado para permitir a rastreabilidade			
4.2.2.3.1 Registros de rastreabilidade do retrabalho é mantido			
4.2.2.4 A classificação do retrabalho ou o motivo para o destino do retrabalho são registrados			
<b>4.2.3 Utilização do retrabalho:</b>			
4.2.3.1 Quando o retrabalho é incorporado a um produto como uma etapa dentro do processo, a quantidade aceitável, tipo e condições do uso do retrabalho são especificados			
4.2.3.1.1 A etapa do processo e método de adição incluindo qualquer estágio de pré-processamento, são definidos			
4.2.3.2 Quando as atividades de retrabalho envolverem a remoção de um produto já embalado, controles são implementados para garantir a remoção e segregação do material de embalagem e evitar a contaminação do produto com material estranho			
<b>4.3 Procedimentos de recall de produtos</b>			
<b>4.3.1 Requisitos gerais:</b>			
4.3.1.1 Sistemas são implementados para garantir que produtos que não atingiram os requisitos de segurança de alimentos possam ser identificados, localizados e removidos de todos os pontos necessários da cadeia de suprimento			
<b>4.3.2 Requisitos de recall de produtos:</b>			
4.3.2.1 Uma lista de contatos-chave em caso de recall é mantida			
4.3.2.1.1 Onde produtos forem recolhidos devido a perigos iminentes à saúde, a segurança de outros produtos produzidos sob as mesmas condições é avaliada			
<b>4.4 Armazenamento</b>			
<b>4.4.1 Requisitos gerais:</b>			
4.4.1.1 Materiais e produtos são armazenados em espaços limpos, secos bem ventilados e protegidos de poeira, condensação, fumaças, odores ou outras fontes de contaminação			
<b>4.4.2 Requisitos de armazenamento:</b>			
4.4.2.1 O controle efetivo da temperatura de armazenamento, umidade e outras condições ambientais são fornecidos quando requerido pelas especificações do produto ou do armazenamento			
4.4.2.2 Para produtos empilhados, considerações são feitas em relação às medidas necessárias para proteger as camadas inferiores			
4.4.2.3 Resíduos e químicos (produtos de limpeza, lubrificantes, pesticidas) são estocados separadamente			
4.4.2.4 Uma área separada ou outros meios de segregação de materiais identificados como não conformes são providenciadas			
4.4.2.5 Sistemas específicos de rotação de estoque (PEPS/PVPS) são observados			
4.4.2.6 Empilhadeiras movidas a diesel ou gasolina não são usadas em áreas de armazenamento de produtos ou ingredientes alimentícios			
<b>4.4.3 Veículos, esteiras transportadoras e containers:</b>			
4.4.3.1 Veículos, esteiras transportadoras e containers são mantidos íntegros, limpos e em condições consistentes com os requisitos			
4.4.3.2 Veículos, esteiras transportadoras e containers oferecem proteção contra danos ou contaminação do produto			
4.4.3.3 O controle de temperatura e umidade é aplicado e registrado quando requerido			

4.4.3.4 Onde os mesmos veículos, esteira transportadoras ou containers são usados para produtos alimentícios e não alimentícios, é feita a limpeza entre os carregamentos			
4.4.3.5 Containers a granel são exclusivos para uso de alimentos somente			
4.4.3.5.1 Os containers a granel são exclusivos para um material específico onde requerido			
<b>5) Documentação</b>			
<b>5.1 Informações sobre o produto e conscientização do consumidor:</b>			
5.1.1 As informações são apresentadas aos consumidores de modo a permitir que eles entendam sua importância e façam escolhas conscientes			
5.1.2 A informação é fornecida pela rotulagem ou outros meios, como o site e publicidade da empresa, e podem incluir estocagem, preparação e instruções para servir, aplicáveis ao produto			
<b>5.2 Food defense, biovigilância e bioterrorismo</b>			
<b>5.2.1 Requisitos gerais:</b>			
5.2.1.1 Existe a avaliação dos perigos causados aos produtos por atos potenciais de sabotagem, vandalismo ou terrorismo e implementa medidas de proteção compatíveis			
5.2.2 O acesso é fisicamente restrito através do uso de trancas, cartões eletrônicos ou sistemas alternativos			
<b>5.3 Monitoramento, avaliação e registro dos sistemas e procedimentos operacionais padronizados</b>			
5.3.1 A implementação dos sistemas e procedimentos é monitorada de forma a garantir a finalidade pretendida, sendo adotadas medidas corretivas em caso de desvio destes			
5.3.2 Mantem-se registros periódicos suficientes para documentar a execução e o monitoramentos dos procedimentos, bem como a adoção de medidas corretivas			
5.3.2.1 Esses registros consistem de anotação em planilhas e ou documentos e são datados, assinados pelo responsável e mantidos por um período superior ao de vida de prateleira			
5.3.3 Avalia-se regularmente a efetividade dos procedimentos e sistemas implementados e, de acordo com os resultados, fazem-se os ajustes necessários			
5.3.4 Os procedimentos e sistemas são revistos em caso de modificação que implique em alterações nas operações documentadas			

## APÊNDICE B – MÉDIAS DE CONTAGENS ESPECÍFICAS POR AMOSTRA E LOTE

Para a contagem dos microrganismos em cada lote foi utilizada a menor diluição como referência, exceto nos casos em que são explicitadas diferenças.

Tabela B1 – Contagem de microrganismos do Lote 1

Amostra	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Contagem Total (UFC/g)	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Enterobactérias (UFC/g)	DRBC (UFC/g)
A	1,77x10 <sup>2</sup>	5,50x10 <sup>2</sup>	2,30x10 <sup>1</sup>
B	1,27x10 <sup>2</sup>	2,90x10 <sup>2</sup>	2,00x10 <sup>1</sup>
C	1,68x10 <sup>2</sup>	6,50x10 <sup>2</sup>	0,80x10 <sup>1</sup>
D	1,20x10 <sup>2</sup>	5,40x10 <sup>2</sup>	1,50x10 <sup>1</sup>
E	5,20x10 <sup>3</sup>	5,00x10 <sup>3</sup>	0,60x10 <sup>1</sup>

Tabela B2 – Contagem de microrganismos do Lote 2

Amostra	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Contagem Total (UFC/g)	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Enterobactérias (UFC/g)	DRBC (UFC/g)
A	9,80x10 <sup>3</sup>	3,55x10 <sup>3</sup>	1,97x10 <sup>2</sup>
B	1,02x10 <sup>2</sup>	3,40x10 <sup>3</sup>	3,32x10 <sup>2</sup>
C	8,60x10 <sup>3</sup>	3,25x10 <sup>3</sup>	3,25x10 <sup>2</sup>
D	7,80x10 <sup>3</sup>	3,30x10 <sup>3</sup>	3,90x10 <sup>2</sup>
E	8,00x10 <sup>3</sup>	3,60x10 <sup>3</sup>	2,61x10 <sup>2</sup>

Nos *Petrifilm*<sup>®</sup> de contagem total foi utilizada a contagem na diluição de 10<sup>-5</sup>, visto que os resultados foram incontáveis na diluição 10<sup>-4</sup>. Nos *Petrifilm*<sup>®</sup> de enterobactérias foi utilizada a contagem na diluição de 10<sup>-5</sup>, visto que os resultados foram incontáveis nas diluições 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup>.

Tabela B3 - Contagem de microrganismos do Lote 3

Amostra	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Contagem Total (UFC/g)	<i>Petrifilm</i> <sup>®</sup> Enterobactérias (UFC/g)	DRBC (UFC/g)
A	2,68x10 <sup>2</sup>	6,30x10 <sup>2</sup>	1,61x10 <sup>2</sup>
B	4,80x10 <sup>2</sup>	8,50x10 <sup>2</sup>	7,00x10 <sup>1</sup>
C	5,07x10 <sup>2</sup>	5,20x10 <sup>2</sup>	3,77x10 <sup>1</sup>
D	1,00x10 <sup>2</sup>	9,60x10 <sup>2</sup>	2,04x10 <sup>2</sup>
E	5,27x10 <sup>2</sup>	9,70x10 <sup>2</sup>	6,80x10 <sup>0</sup>

Nas contagens de DRBC das amostras C, D e E, foi utilizada a diluição de 10<sup>-2</sup>, visto que os resultados foram incontáveis na diluição 10<sup>-1</sup>.