



**REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE  
XAROPE SIMPLES NA FABRICAÇÃO DE  
REFRIGERANTES**

**Isabela Gazzillo**

**Projeto de Final de Curso**

**Orientadora:**

Profa. Karen Signori Pereira, D.Sc.

Outubro de 2021

# REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE XAROPE SIMPLES NA FABRICAÇÃO DE REFRIGERANTES

*Isabela Gazzillo*

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Engenheira de Alimentos.

Aprovado por:

-----  
Ailton Cesar Lemes, D.Sc.

-----  
Marcio Marques Silva

-----  
Fábio de Almeida Oroski, D.Sc, Suplente

Orientado por:

-----  
Karen Signori Pereira, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Outubro de 2021

Gazzillo, Isabela.

Redução da contaminação microbiológica na produção de xarope simples na fabricação de refrigerantes / Isabela Gazzillo. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

x, 67p,; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2021.

Orientadora: Karen Signori Pereira.

1. Contaminação microbiológica. 2. Refrigerante. 3. Xarope simples 4. Monografia (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Karen Signori Pereira. I. Redução da contaminação microbiológica na produção de xarope simples na fabricação de refrigerantes.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Ana Paula Blanco e Edmondo Gazzillo, pelo, amor, suporte e carinho que me permitiram chegar aonde estou hoje.

Agradeço aos meus amigos, pelas risadas, choros, surtos, superações e companheirismo, em especial à Carlyne Texeira e à Paula Fernandes.

Agradeço a Priscilla Costa e a Dominique Caliari, novas amizades, mas não menos importantes, por todo o suporte e companheirismo no fim dessa jornada.

Agradeço a minha eterna parceira de faculdade Natalia Lima, por todo o trabalho em grupo, estresse, risadas e surtos vividos juntas.

Agradeço ao meu querido mentor e amigo Raul Siqueira Azevedo, por todos os ensinamentos e pela parceria.

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

## **REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE XAROPE SIMPLES NA FABRICAÇÃO DE REFRIGERANTES**

Isabela Gazzillo

Outubro, 2021

Orientadora: Karen Signori Pereira, D.Sc.

Os refrigerantes são bebidas gaseificadas obtidas pela dissolução, em água potável, se suco ou extrato vegetal, adicionada de açúcar. Essa bebida é amplamente consumida, chegando a aproximadamente 60L por habitante por ano em 2019 no Brasil. Essa categoria de bebidas deve cumprir com algumas legislações, entre elas a RDC 12 de 2001 e a IN 60 de 2019, que indicam a quantidade máxima de microrganismos toleradas no produto final, sendo eles coliformes, bolores e leveduras. O objetivo desse estudo foi de reduzir a contaminação microbiológica na etapa de produção de xarope simples. Em sua realização foram levados em consideração o processo de fabricação, os mecanismos de limpeza e de CIP empregados, os microrganismos que poderiam estar presentes, as barreiras microbiológicas presentes no produto final e todo o contexto da produção. Uma estratificação de todas as amostras coletadas do segundo semestre de 2019 foi realizada e identificou-se que, dentre as amostras analisadas havia contaminação por: bolor, levedura, bactérias totais e coliformes. Hipóteses de possíveis pontos de contaminação foram testados, sendo capaz de eliminar as contaminações de bolor e coliformes. As contaminações por leveduras foram reduzidas, porém a contaminação por bactérias totais se manteve. As ações mais significativas para a redução da contaminação microbiológica foram a de modificação do procedimento de CIP, garantindo assim que a assepsia de todo o sistema estava ocorrendo de forma correta, além da modificação e retreinamento da operação no procedimento de coleta. Um dos pontos de atenção, onde não se foi possível eliminar a contaminação foi a terra diatomácea.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>BEBIDA</b> .....	<b>3</b>
<b>3.2</b>	<b>PROCESSO PRODUTIVO</b> .....	<b>3</b>
<b>3.3</b>	<b>CIP</b> .....	<b>7</b>
<b>3.4</b>	<b>LEGISLAÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>3.5</b>	<b>MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS</b> .....	<b>11</b>
<b>3.6</b>	<b>MICROORGANISMOS</b> .....	<b>15</b>
<b>3.6.1</b>	<b>BOLORES</b> .....	<b>15</b>
<b>3.6.2</b>	<b>LEVEDURAS</b> .....	<b>16</b>
<b>3.6.3</b>	<b>BACTÉRIAS</b> .....	<b>17</b>
<b>3.6.4</b>	<b>COLIFORMES</b> .....	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
<b>4.1</b>	<b>METODOLOGIA UTILIZADA</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2</b>	<b>PROCESSO PRODUTIVO DO ESTUDO</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2.1</b>	<b>TRATAMENTO DE ÁGUA</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2.2</b>	<b>PRODUÇÃO DO XAROPE SIMPLES</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2.3</b>	<b>PRODUÇÃO DO XAROPE COMPOSTO</b> .....	<b>27</b>
<b>4.2.4</b>	<b>BLENDAGEM, GASEIFICAÇÃO E ENVASE</b> .....	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>ANÁLISES REALIZADAS</b> .....	<b>30</b>
<b>4.3.1</b>	<b>BOLORES E LEVEDURAS</b> .....	<b>30</b>
<b>4.3.2</b>	<b>BACTÉRIAS TOTAIS</b> .....	<b>32</b>
<b>4.3.3</b>	<b>BACTÉRIAS ACIDÚRICA</b> .....	<b>34</b>

4.3.4 COLIFORMES .....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
5.1 ANÁLISE DOS RESULTADOS DO SEMESTRE ANTERIOR .....	37
5.2 AÇÕES REALIZADAS .....	41
5.3 RESULTADOS APÓS AS AÇÕES REALIZADAS .....	45
6 CONCLUSÃO .....	49
BIBLIOGRAFIA .....	50
ANEXO .....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma Processo Produtivo.....	4
Figura 2 - Fluxograma de tratamento de água.....	5
Figura 3 - CIP de tanque.....	8
Figura 4 - Ordem de CIP.....	9
Figura 5 - Tecnologia das barreiras .....	13
Figura 6 - pH de microrganismos.....	14
Figura 7 - Fluxograma ETA Refri .....	25
Figura 8 – Fluxograma Xaroparia Simples.....	27
Figura 9 - Fluxograma Xaroparia Composta.....	28
Figura 10 - Fluxograma blendagem gaseificação e envase.....	29
Figura 11 - Leveduras e bolores .....	32



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Contaminação por bolor em 2019 .....	37
Gráfico 2 - Contaminação por levedura em 2019 .....	38
Gráfico 3 - Contaminação por bactérias totais em 2019 .....	39
Gráfico 4 - Contaminações por coliformes em 2019 .....	40
Gráfico 5 - Contaminações em 2019 .....	41
Gráfico 6 - Contaminações por bolores em 2019 e 2020.....	46
Gráfico 7 - Contaminações por leveduras em 2019 e 2020.....	47
Gráfico 8 - Contaminações por bactérias totais em 2019 e 2020 .....	47
Gráfico 9 - Contaminações por coliformes em 2019 e 2020 .....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites legais de microrganismos.....	10
Tabela 2 - Atividade de água mínima para microrganismos.....	15
Tabela 3 - Grupos de leveduras contaminantes .....	17
Tabela 4 - Correlação entre densidade e grau brix.....	57

## 1 INTRODUÇÃO

Para poder falar de refrigerantes, antes é necessário definir o que é um refrigerante. De acordo com as leis brasileiras (BRASIL, 2009) um refrigerante é a bebida gaseificada, obtida pela dissolução, em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionada de açúcar. Além disso o refrigerante deverá ser obrigatoriamente saturado de dióxido de carbono, industrialmente puro. Os refrigerantes de laranja, tangerina e uva deverão conter, obrigatoriamente, no mínimo dez por cento em volume do respectivo suco na sua concentração natural. Soda limonada ou refrigerante de limão deverá conter, obrigatoriamente, no mínimo, dois e meio por cento em volume de suco de limão. O refrigerante de guaraná deverá conter, obrigatoriamente, uma quantidade mínima de dois centésimos de grama de semente de guaraná (gênero Paullinia) ou seu equivalente em extrato, por cem mililitros de bebida. O refrigerante de cola deverá conter semente de noz de cola ou extrato de noz de cola (Cola acuminata). O refrigerante de maçã deverá conter, no mínimo, cinco por cento em volume em suco de maçã (BRASIL, 2009).

No Brasil, o consumo anual de refrigerantes era de aproximadamente 12,6 bilhões de litros em 2019, o que equivalia a uma média de 60,2 litros por habitante por ano (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTESE DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS). Devido a um grande consumo desse produto, ele se torna um tema de relevância para estudos, principalmente nos campos de degradação de alimentos, microbiologia, nutrição, tecnologia, operações unitárias e outros.

## **2 OBJETIVO**

Esse trabalho tem por objetivo avaliar o processo de produção do xarope simples e implementar medidas para a redução da contaminação microbiológica.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 BEBIDA**

Os refrigerantes são bebidas compostas majoritariamente por água, podendo chegar a até 98% de água em sua composição. O segundo ingrediente em maior proporção é o açúcar, variando de 8 a 12% e os sucos de frutas ou concentrados, que podem chegar a compor até 10% da bebida. Todos os outros ingredientes estão presentes em pequenas quantidades, porém são de extrema importância para garantir as características e durabilidade do produto, sendo eles o dióxido de carbono, que representa de 0,3% a 0,6%, os acidulantes, que podem chegar até 0,3%, os flavorizantes normalmente variam de 0,1% a 0,5%, os colorantes chegam a até 70ppm e os antioxidantes não costumam ultrapassar 100ppm. Outros ingredientes também podem estar presentes como conservantes químicos, antiespumantes e estabilizantes (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). A proporção de doçura com acidez é um dos principais determinantes do gosto de refrigerante (HYFOMA, 2016).

#### **3.2 PROCESSO PRODUTIVO**

O processo produtivo do refrigerante pode ser dividido em duas macro etapas, sendo elas o tratamento da água e a produção propriamente dita (HACH INDUSTRY, c2021). O esquema geral de ambas as etapas está representado na Figura 1.

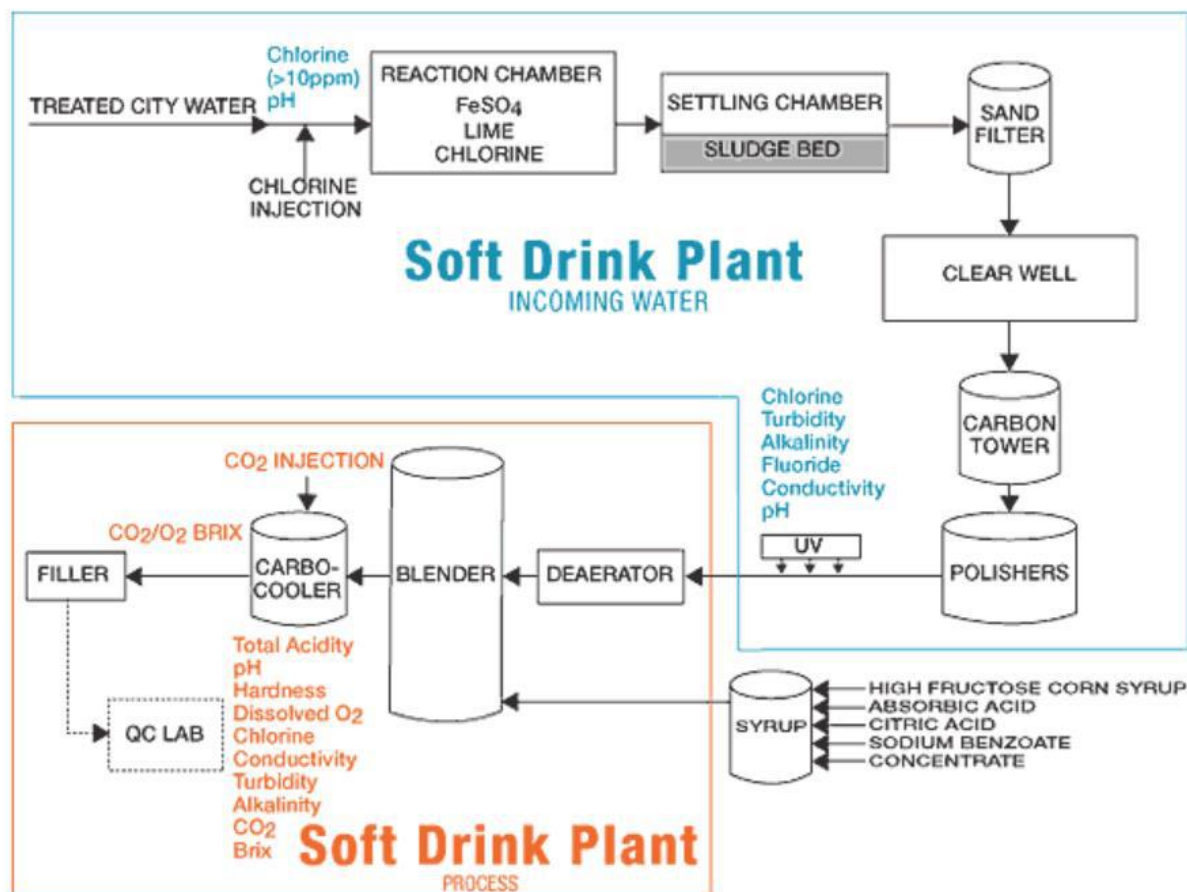


Figura 1 - Fluxograma Processo Produtivo (HACH INDUSTRY, c2021)

A primeira etapa de produção de um refrigerante se inicia com o tratamento da água, que é uma matéria-prima de extrema importância, não só por ser o ingrediente de maior quantidade, mas, pois, ela deve estar livre de contaminantes microbiológicos, pois assim que o açúcar foi adicionado, o crescimento microbiológico será favorecido (HYFOMA, 2016).

O tratamento da água pode ser realizado a partir de uma água bruta, como é o caso da figura 2 ou a partir de uma água já potável, como é o caso da figura 1. Para o caso de tratamento de uma água bruta (figura 2), o processo se inicia pela etapa de coagulação e floculação. Esse processo tem por objetivo remover impurezas que estão suspensas na água como é o caso de partículas de sujidades, matéria orgânica e substâncias insolúveis. Com o auxílio de um coagulante como o sulfato de alumínio as impurezas que estão suspensas são capturadas por flocos volumosos, formando

partículas de maior tamanho e densidade, sendo assim capazes de precipitarem. Depois dessa etapa, ocorre a etapa de decantação ou flotação, que é a etapa onde os flocos serão precipitados. Uma vez tendo ocorrido a precipitação, a água passa para os filtros de areia. Essa filtração que ocorre em leitos de areia tem por objetivo remover flocos menores que não foram capazes de precipitar, assim como remover também outras partículas em suspensão. Essa água fica armazenada e logo antes de ser utilizada ela passa por uma filtração em um leito de carvão ativado, que tem por objetivo remover o cloro residual da água e remover também compostos que possam gerar cor e sabor residual ao produto. A última etapa do tratamento de água consiste em uma filtração por um filtro polidor para remover partículas muito finas que podem ter ficado na água (KOTHE, s.d.).



Figura 2 - Fluxograma de tratamento de água (KOTHE, s.d.)

Após a água se tornar potável, é necessário tratar ela mais uma vez para que ela possua todas as características desejadas. Esse tratamento pode ser observado na figura 1. A primeira etapa do processo é a adição de cloro na água, aonde ela vai para um tanque de reação e posteriormente para um tanque de descanso. Do tanque de descanso a água segue para um filtro de areia e posteriormente é armazenada em uma caixa d'água. Da caixa d'água a água vai para uma torre de carvão para remover o cloro, depois passa por um filtro polidor, um equipamento de luz UV e por último um desaerador antes de ser blendada (HACH INDUSTRY, c2021).

Após o tratamento, a água está nas condições desejadas para a produção do xarope, que é a mistura dos ingredientes, antes de se diluir com água e se adicionar gás

carbônico. O açúcar presente nos refrigerantes pode ser fornecido de duas maneiras aos produtores de refrigerante: na forma sólida, como açúcar, ou na forma líquida, na forma de xarope simples. No caso da indústria ser fornecida com açúcar, se torna necessário ela preparar o seu próprio xarope. Esse preparo do xarope consiste em misturar o açúcar com água, o ácido (normalmente ácido cítrico), colorantes e flavorizantes. O xarope final preparado deve ter aproximadamente 65° brix, e para auxiliar nesse processo é utilizado um medidor de vazão com um densímetro acoplado, para poder controlar assim a quantidade de açúcar na mistura. Essa quantidade de açúcar na mistura pode ser controlada, pois o densímetro mede o grau brix, e existe uma correlação entre a densidade do açúcar e o grau brix, que está apresentado nos anexos. Sabendo-se a densidade é possível multiplicar pelo volume, resultando assim na quantidade de açúcar (HYFOMA, 2016).

A dissolução de uma quantidade tão grande de açúcar em água não é algo simples de ser feito, e ela pode ser realizada de duas maneiras distintas. A primeira dela consiste em uma dissolução a quente, onde a mistura é aquecida de 70°C a 80°C. Depois desse aquecimento, esse xarope simples passa por um sistema de filtração e posteriormente ele é resfriado a 15°C. A segunda maneira de executar a dissolução do açúcar é através de uma intensa agitação, realizada a frio. Nessa segunda maneira, o xarope é filtrado e deve ser pasteurizado posteriormente (HYFOMA, 2016).

Após o preparo do xarope como mencionado acima, ele precisa descansar para que qualquer oxigênio que possa ter sido incorporado durante a sua produção possa sair. Esse processo pode ser feito de forma natural ou utilizando um desaerador a vácuo. Uma vez retirado o ar de dentro do xarope, ele está pronto para seguir para a próxima etapa. Se o xarope possuir suco de fruta ou possuir um pH acima de 3, ele precisa ser pasteurizado a 80°C por 20s. Esse tempo e temperatura são o suficiente para eliminar os microrganismos, restando apenas os esporos. Se o pH for mantido abaixo de 4,6, os esporos continuarão em sua forma esporulada e não serão um risco (HYFOMA, 2016). Essa etapa de pasteurização não está prevista no processo produtivo de acordo com Hach (HACH INDUSTRY, c2021).

A próxima etapa do processo produtivo vai depender do autor. De acordo com Hyfoma, 2016 essa etapa seria a de mistura da água com o gás carbônico. Esse é um



processo que varia muito de acordo com a pressão e a temperatura, pois a solubilidade do gás carbônico varia com esses parâmetros. Quanto menor a temperatura e maior a pressão mais solúvel é o gás carbônico (HYFOMA, 2016).

A mistura do xarope com a água gaseificada pode se dar de três maneiras distintas. A primeira delas, é diretamente na embalagem, onde o xarope é adicionado e depois é adicionada água gaseificada. A segunda maneira também é diretamente na embalagem, porém a água gaseificada e o xarope são adicionados ao mesmo tempo. A terceira maneira é inline, ou seja, a água gaseificada é misturada com o xarope na tubulação antes de ser envasado.

De acordo com Hach, o processo produtivo não necessita de uma etapa de pasteurização e a etapa subsequente, após o prepara do xarope é a de mistura do xarope com água em um tanque. Depois do xarope ter sido diluído, é injetado gás carbônico e o refrigerante segue para o envase (HACH INDUSTRY, c2021).

O processo de envase consiste em adicionar o refrigerante em embalagens adequadas, que são normalmente de PET, vidro ou alumínio, no formato de latas. Uma vez envasado, as embalagens devem ser rotuladas de acordo com as legislações de cada país (HYFOMA, 2016).

### **3.3 CIP**

A limpeza é uma das etapas mais críticas em uma planta de alimentos, a sujeira diminui a eficiência de trocadores de calor, e aumenta a probabilidade de uma contaminação microbológica. Por isso, a realização de uma correta limpeza, e de maneira eficiente é de muita importância para garantir a qualidade do produto. O método de limpeza CIP (clean in place) é um método que permite a realização da limpeza de tubulações, tanques e outros equipamentos sem que eles necessitem ser desmontados. Esse método de limpeza não só diminui o tempo gasto no processo, mas diminui também a necessidade de mão de obra para executar o serviço (MENGYUAN FAN, 2015).

O sistema de CIP funciona através da circulação de soluções químicas e de água por dentro das tubulações e equipamentos (K.R. DAVEY, 2013). Normalmente uma única planta de CIP é utilizada para todos os tanques, tubulações e outros equipamentos do

local (MOO-YOUNG, 1994). Para que a limpeza de um tanque seja efetiva, a solução de CIP deve adentrar o tanque através de um spray ball, assim como está representado na figura 3. Normalmente os spray balls são capazes de espalhar solução na parte superior do tanque, garantindo assim sua limpeza. A parte do tanque que não é atingida pelos jatos do spray ball é limpa pela solução que escorre pelas paredes das partes que foram atingidas pelos jatos do spray ball. A correta instalação e posicionamento do spray ball é de extrema importância para garantir que todo o tanque terá uma limpeza apropriada (MOO-YOUNG, 1994).

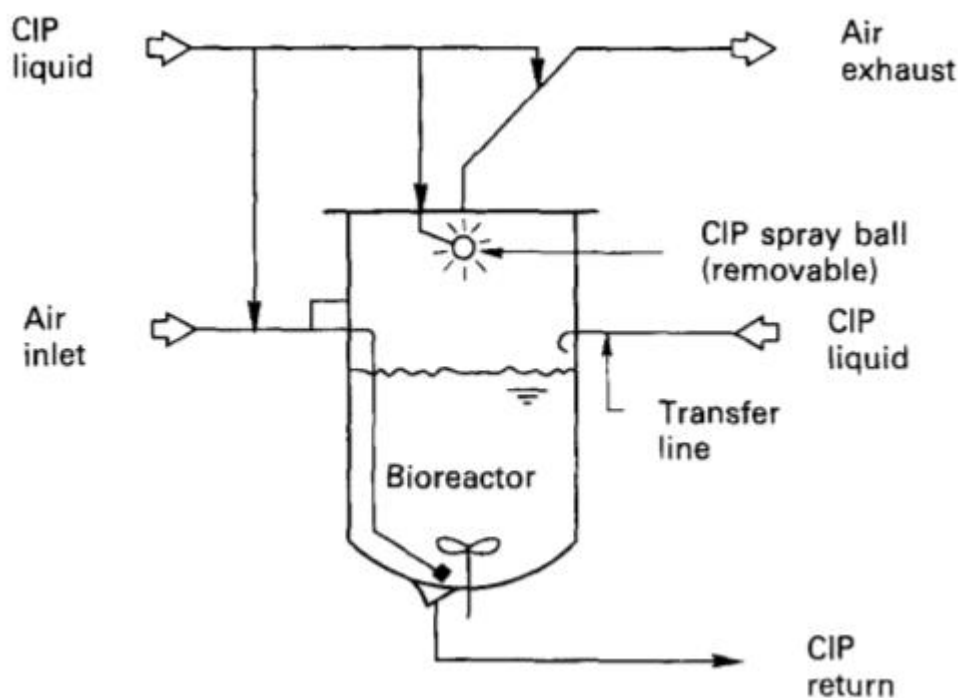


Figura 3 - CIP de tanque (MOO-YOUNG, 1994)

Para um bom sistema de CIP deve se levar em consideração 4 fatores: ação mecânica, tempo, temperatura e ação química. A ação mecânica deve estar presente nos CIPs para garantir uma boa remoção das sujidades. Ela é feita pelo regime turbulento dentro das tubulações e pelo impacto dos jatos que saem do spray ball nas paredes dos equipamentos. A ação química está relacionada ao tipo de substância que será utilizado no CIP. Dependendo da sujidade a ser removida, ela pode estar mais suscetível a meios ácidos, alcalinos ou neutros. O efeito térmico auxilia na remoção das sujidades, pois

algumas sujidades são mais facilmente removidas a temperaturas mais altas ou mais baixas. As gorduras e açúcares, por exemplo, são mais facilmente removidas em temperaturas mais altas. O efeito do tempo está intrinsicamente ligado ao efeito químico, pois quanto mais tempo a superfície a ser limpa ficar em contato com a solução de limpeza, melhor será o resultado. Apesar disso, após certo tempo, a limpeza já foi realizada, e o excesso de tempo se torna desnecessário (COSENTINO, 2013).

O CIP possui uma ordem a ser seguida, o que não significa que todas as etapas serão executadas em todos os equipamentos. Essa ordem consiste em um enxágue inicial, depois a limpeza com uma solução alcalina, em seguida um enxágue intermediário, depois uma limpeza com uma solução ácida, depois mais um enxágue intermediário, depois a passagem de uma solução sanitizante, e por último um enxágue final (BIOSAN, s.d.).

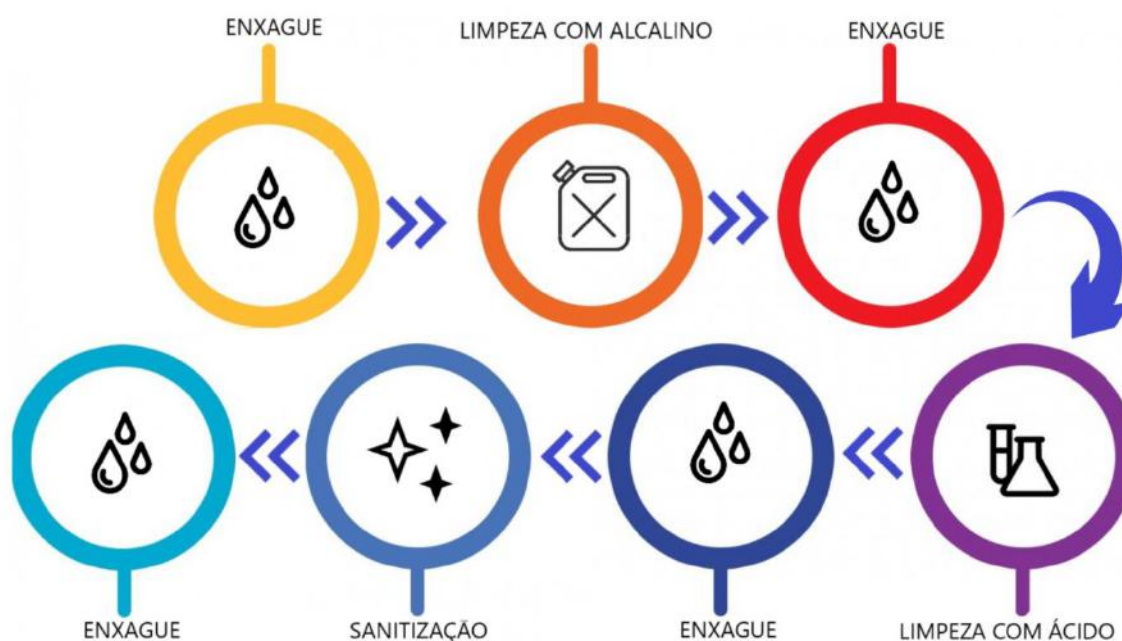


Figura 4 - Ordem de CIP (BIOSAN, s.d.)

### 3.4 LEGISLAÇÃO

A produção de refrigerantes, assim como em qualquer outro setor da indústria de alimentos deve manter os níveis de contaminação microbiológica ausentes ou os menores possíveis (exceto quando os microrganismos são parte intrínseca do produto, como por exemplo no queijo camembert). Além disso é necessário que cada tipo de produto siga a legislação vigente para os níveis de contaminação aceitáveis no produto final, garantindo assim que eles poderão ser comercializados.

No caso de refrigerantes, existem duas legislações que estabelecem os microrganismos e suas respectivas quantidades máximas que devem ser respeitadas. A RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, estabelece que a quantidade máxima de coliformes a 35°C/ 50mL deve ser ausente para uma amostra indicativa. Os limites de tolerância aceitáveis estão indicados na tabela 1 abaixo de acordo com a metodologia utilizada (ANVISA, 2001). A instrução normativa nº60, de 23 de dezembro de 2019, estabelece que a concentração máxima tanto para bolores quanto para leveduras por mL é de no máximo 5n ou 2c ou 10m ou 102M (ANVISA, 2019).

Tabela 1 - Limites legais de microrganismos

Micorganismo	Amostra indicativa	Amostra representativa			
		n	c	m	M
Coliformes a 35°C / 50 mL	aus	5	0	Aus	-
Leveduras / mL	-	5	2	10	102
Bolores / mL	-	5	2	10	102

### 3.5 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

Existem inúmeros métodos de conservação de alimentos, que podem se dar através de operações unitárias como é o caso da esterilização, pasteurização, congelamento, refrigeração, entre outros (BOGSAN, 2016), ou a conservação de alimentos também pode ser feita através do que é chamado de tecnologia das barreiras ou hurdle technology. (LEISTNER, 1992).

Todos os métodos de conservação de alimentos possuem microrganismos focos que devem ser eliminados, ou devem ter sua proliferação controlada. Tal objetivo era atingido empiricamente nos anos 80, porém com o avançar da ciência e tecnologia, eles passaram a ser atingidos com base em fatos. Atualmente a interação de características físico-químicas do ambiente bem como as características dos próprios microrganismos já são mais conhecidas, tornando assim o objetivo de conservação de alimentos menos empírico e mais embasado. (LEISTNER, 2000)

De acordo com a tecnologia das barreiras, a estabilidade microbiológica e a segurança alimentar se dá através da combinação de diferentes fatores (barreiras), que não devem ser superadas pelo microrganismo alvo. Essas barreiras, que podem ser de intensidades diferentes (como por exemplo refrigerar a 10°C ou a -20°C) colocam o microrganismo em ambientes hostis onde eles não conseguem se multiplicar ou até mesmo sobreviver, garantindo assim a qualidade microbiológica do alimento (LEISTNER, 2000). Na teoria das barreiras, Leistner foi capaz de identificar que as interações entre temperatura, atividade de água, pH, potencial de redução, conservantes, e microrganismos competidores entre outros fatores são fundamentais para a preservação de alimentos. É a combinação das diferentes barreiras que fornece ao alimento a estabilidade microbiológica almejada, bem como uma maior possibilidade de manutenção de suas características nutritivas e sensoriais (GOULD, 1999).

Na figura 5 está ilustrado diferentes exemplos de como a tecnologia das barreiras pode funcionar. No “No.1” várias barreiras estão presentes, e os microrganismos não são capazes de ultrapassar todas as barreiras, tornando assim o alimento microbiologicamente estável, porém ele não representa a realidade pois todas as barreiras possuem a mesma intensidade (altura), e na vida real isso raramente acontece.

Já no “No.2” podemos ver um exemplo de uma tecnologia de barreiras aplicada a realidade, onde as barreiras possuem diferentes intensidades, mas são efetivas, pois, ao final, a estabilidade microbiológica é atingida (microrganismos não são capazes de passar por todas as barreiras). O “No.3” é o mesmo exemplo do “No.2” porém a quantidade inicial de microrganismos é muito menor, o que faz com que menos barreiras sejam necessárias para atingir a estabilidade microbiológica. É de extrema importância ressaltar que a quantidade inicial de microrganismos presente no alimento está diretamente relacionada a sua preservação. Se boas práticas de fabricação e de higiene não são implementadas para reduzir a carga microbiológica inicial é possível que as barreiras presentes naquele alimento não sejam suficientes para garantir a estabilidade microbiológica durante a validade do produto, pois a carga inicial de microrganismos será muito grande caso representado pelo “No.4”. No “No.5” pode ser observado que os microrganismos saem de um patamar superior, representando que eles estão presentes em um alimento rico em nutrientes e vitaminas. Por último o “No.8” está representando o efeito de sinergia entre as barreiras, ou seja a presença de mais de uma barreira faz a intensidade da outra aumentar. Isso ocorre pois cada barreira está atacando uma parte do microrganismo, debilitando-o ainda mais (LEISTNER, 1992).

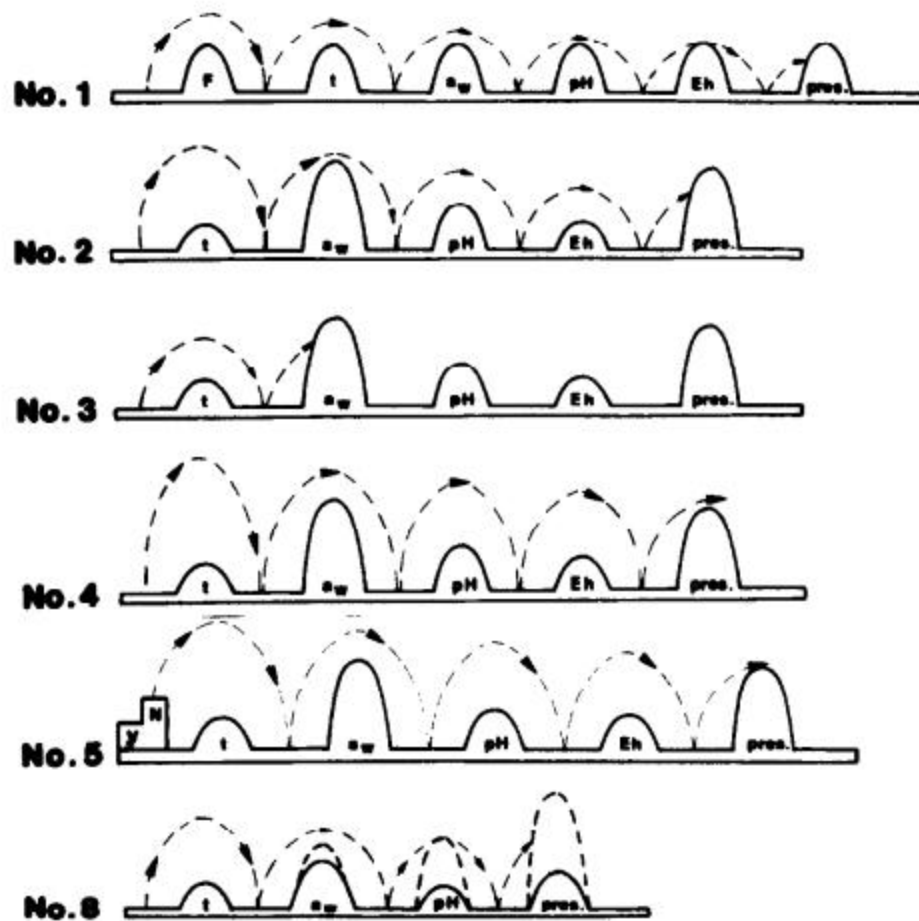


Figura 5 - Tecnologia das barreiras (LEISTNER, 1992)

A figura 6 mostra a faixa de pH em que diferentes tipos de microrganismos sobrevivem. Bolores são capazes de sobreviver em um pH de 0,5 a 11 e as leveduras são capazes de sobreviver em um pH de 1,5 a 8,5 (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

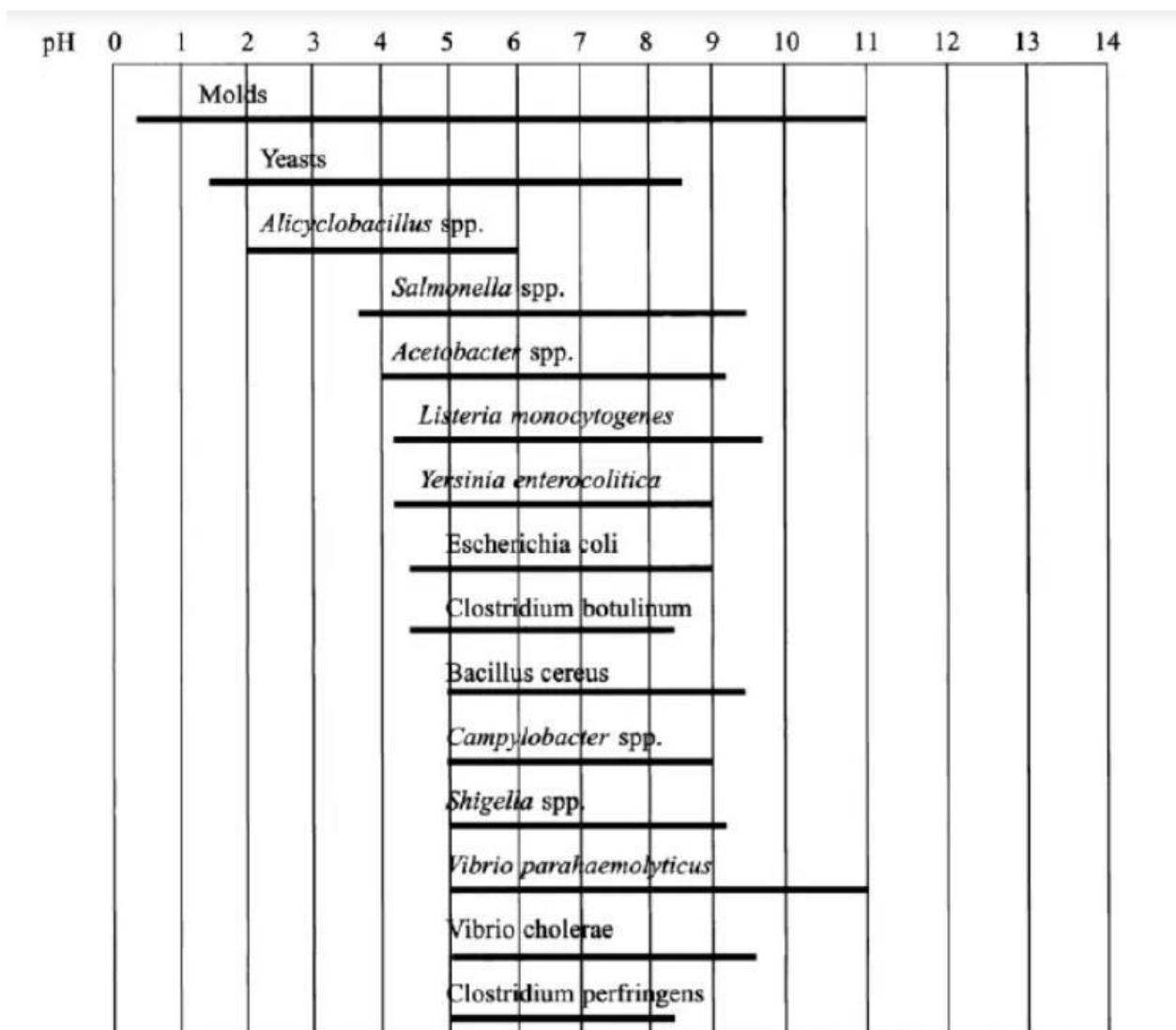


Figura 6 - pH de microrganismos (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005)

A tabela de atividade de água mínima para microrganismos mostra que a maioria dos microrganismos que causam deterioração precisam de uma atividade de água acima de 0,8. As bactérias precisam de uma atividade de água acima de 0,9, as leveduras precisam de uma atividade de água acima de 0,88 e os bolores precisam de uma atividade de água acima de 0,80.



Tabela 2 - Atividade de água mínima para microrganismos (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005)

<i>Organisms</i>	<i>a<sub>w</sub></i>	<i>Organisms</i>	<i>a<sub>w</sub></i>
<b>Groups</b>		<b>Groups</b>	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.61
<b>Specific Organisms</b>		<b>Specific Organisms</b>	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Geotrichum candidum</i>	ca. 0.9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Trichothecium</i> spp.	ca. 0.90
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Byssoschlamys nivea</i>	ca. 0.87
<i>Clostridium botulinum</i> , types A and B	0.94	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Eurotium repens</i>	0.72
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Aspergillus glaucus</i> *	0.70
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
		<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
		<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61

### 3.6 MICRORGANISMOS

#### 3.6.1 BOLORES

Bolores são fungos multicelulares filamentosos, eucariontes (KUMAR, s.d.), que podem formar esporos e possuem reprodução sexuada ou assexuada através de esporos (ARYAL, 2018). Os esporos dos bolores são capazes de sobreviver em bebidas carbonatadas, porém eles não conseguem se desenvolver (MAGAR, 2021). Os bolores são seres aeróbios (ARYAL, 2018) capazes de sobreviver em pH de 0,5 a 11 e atividade de água superior a 0,80 em sua grande maioria (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

Os bolores podem ser encontrados em diversas etapas do processo, como nas matérias-primas, durante o processo de fabricação e no produto acabado. Os bolores podem contaminar o produto devido a uma falta de higiene no processo ou através de embalagens contaminadas. Alguns fungos são capazes de tolerar um baixo pH e a maioria dos fungos necessita de oxigênio para sobreviver. Apesar disso existem alguns

fungos que são capazes de sobreviver em ambientes anaeróbios e outros em ambientes de microaerofilia. Os bolores são capazes de produzir diversas enzimas como lipases, proteases e carboidrases o que podem gerar compostos de off flavour. Além disso a presença de bolores também pode causar a descoloração dos produtos (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). Os bolores mais comumente encontrados são *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus flavus*, *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva*, *Paecilomyces variotii*, *Neosartorya fischeri*, *Eupenicillium brefeldianum*, *Phialophora mustea*, *Talaromyces flavus*, *Talaromyces trachyspermus* e *Thermoascus aurantiacum*. Também podem ser encontrados *Penicillium notatum*, *Penicillium roquefortii*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, and *Fusarium*, e *Cladosporium spp* (MAGAR, 2021).

### 3.6.2 LEVEDURAS

Leveduras são fungos não filamentosos unicelulares, eucariontes (KUMAR, s.d.), com aparência ovalada, que não formam esporos e se multiplicam majoritariamente por brotamento ou gemulação (ARYAL, 2018). As leveduras são capazes de sobreviver em ambientes aeróbios e anaeróbios, com um range ótimo de pH de 4,0 a 4,5 (ARYAL, 2018) ou com uma faixa ótima de pH de 3,0 até 6,5 (SHANKAR, MAHBOOB, *et al.*, 2021). A maioria das leveduras precisam de uma atividade de água acima de 0,8 e de um pH de 1,5 a 8,5 (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

As leveduras são consideradas um contaminante comum em refrigerantes pois normalmente são encontradas nas matérias primas ou no ambiente de produção de refrigerantes e toleram muito bem um ambiente com alto nível de carbonatação. Além disso as leveduras toleram pH de 1,5 até 8,5 com condição ótima de crescimento de 3,0 até 6,5 (SHANKAR, MAHBOOB, *et al.*, 2021).

As leveduras capazes de estarem presentes nos refrigerantes podem ser divididas em 4 grupos, como apresentado na tabela 3. As leveduras presentes no grupo 1 são dificilmente encontradas, porém podem danificar o produto em todas as etapas do processo. As leveduras do grupo 2 são as mais comumente encontradas nos refrigerantes quando alguma etapa não está tão bem controlada durante o processo

produtivo, porém elas são controladas pelas diversas barreiras presentes nos refrigerantes. As leveduras do terceiro grupo são normalmente um indicativo de falta de higiene do processo, e por último o grupo 4 representa leveduras que normalmente não são encontradas em refrigerantes (WAREING, 2007).

Tabela 3 - Grupos de leveduras contaminantes (WAREING, 2007)

Group 1 – Fermentation and preservative resistance	Group 2 – Spoilage and hygiene	Group 3 – Hygiene	Group 4 – Aliens
<i>Dekkera anomala</i>	<i>Candida davenportii</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (dairy yeast)
<i>D. bruxellensis</i>	<i>C. parapsilopsis</i>	<i>Candida sake</i>	<i>K. lactis</i> (dairy yeast)
<i>D. naardenensis</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>C. solani</i>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (atypical strains)	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>C. tropicalis</i>	
<i>S. exiguus</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Clavispora lusitania</i>	
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Lodderomyces elongisporus</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	<i>Pichia anomala</i>	<i>C. laurentii</i>	
<i>Z. bisporus</i>	<i>P. membranifaciens</i>	<i>Debaryomyces etchellsii</i>	
<i>Z. lentus</i>	<i>Saccharomyces bayanus</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	
<i>Z. rouxii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	

Os defeitos que são normalmente causados nos refrigerantes pelas leveduras são: turbidez, filme na superfície, embalagem estufada, particulado, odores não característicos e desagradáveis como off-flavour de aldeído, notas de abacaxi, odor de amanteigado, entre outros (MAGAR, 2021).

### 3.6.3 BACTÉRIAS

Bactérias são seres unicelulares procariotos que podem ter diferentes formas como cocos, bacilos, filamentos, diplococos, entre outros. Além disso esses seres são capazes de formar colônias. As bactérias podem ser caracterizadas de acordo com a

coloração de gram entre gram positivo e gram negativo. As bactérias podem ser classificadas em aeróbias, outras que são anaeróbias, e algumas que são aeróbias facultativas (KUMAR, s.d.). Bactérias que causam deterioração em alimentos precisam normalmente de uma atividade de água acima de 0,9 e de um pH que pode variar de 2 a 10 (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

As bactérias mais comumente encontradas em refrigerantes são as bactérias acidúricas, ou seja, aquelas capazes de sobreviver em ambientes ácidos, como as bactérias láticas e as bactérias acéticas (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011).

As bactérias ácido láticas são microaerófilas (ou seja, o seu ambiente ideal de sobrevivência possui pouco oxigênio), possuem o formato de bacilos ou de cocos e são gram positivas (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). Elas são tipicamente encontradas nas matérias-primas, embalagens e sucos. A maioria das bactérias ácido láticas fermentam os açúcares presentes nos refrigerantes em lactato e ácido láctico, porém algumas delas também são capazes de produzir etanol e acetato. Os compostos formados por essas bactérias são indesejáveis pois alteram as características do produto (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). Essas bactérias levam a uma perda de dióxido de carbono, um aumento de turbidez, podem gerar um gosto de podre, aromas de maçã verde, azedo ou de queijo (MAGAR, 2021). As bactérias ácido láticas mais comumente encontradas em refrigerantes são: *Lactobacillus paracasei*, *L. Brevis*, *L. buchneri*, *L. Plantarum*, *L. perolens* e *Leuconostoc mesenteroides* e *Weissella* (MAGAR, 2021).

As bactérias ácido acéticas são aeróbicas, possuem diversos formatos como bacilos com ou sem flagelos e são gram negativas (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). As bactérias ácido acéticas mais comuns são do gênero acetobacter e glucanobacter. Elas são tipicamente encontradas em ambientes ricos em açúcares e etanol. As bactérias ácido acéticas adquirem energia através da oxidação de açúcares, ácidos orgânicos e álcoois, produzindo principalmente ácido acético, mas também ácido láctico, ácido glucônico, acetaldeídos e compostos cetônicos. Uma carga muito alta de bactérias ácido acéticas pode indicar uma falta de higiene e de boas práticas de fabricação. Além disso essas bactérias são capazes de formar biofilme nos equipamentos e tubulações, dificultando assim o processo de limpeza e higienização dos mesmos. Apesar das bactérias ácido acéticas serem capazes de sobreviver em ambientes ácidos,

elas são menos comuns em refrigerantes do que as bactérias ácido lácticas, pois elas são aeróbicas, e, portanto, precisam de uma maior quantidade de oxigênio no meio (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011).

Outras bactérias que podem estar presentes em bebidas não alcoólicas como os refrigerantes são: *Acetobacter*, *Alicyclobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Saccharobacter*, *Zymobacter* e *Zymomonas* (MAGAR, 2021).

#### **3.6.4 COLIFORMES**

Coliformes são bactérias que fazem parte da família *Enterobacteriaceae*, são seres anaeróbios facultativos, gram negativos e que fermentam lactose a 35°C. Possuem uma forma arredonda e são capazes de crescerem em ambientes que variam de -2°C a 50°C e em pH de 4,4 a 9. O coliforme mais comum é a *Escherichia coli* (QUALFOOD, s.d.).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 METODOLOGIA UTILIZADA

A primeira etapa do estudo consistiu em conhecer a área, os processos e os fluxos. Durante esse tempo de aprendizado, seguiu-se o fluxo do processo, para conhecer, entender o funcionamento e as funções de cada etapa e equipamento. O estudo começou na estação de tratamento de água do refri, depois na xaroparia simples e por fim na xaroparia composta. A parte do processo de envase foi vista brevemente.

Uma vez que os fluxos e processos eram conhecidos, foram definidos os microrganismos que seriam analisados. Para essa escolha levou-se em conta a legislação brasileira, que prevê o controle de certos microrganismos no produto final, porém ela não estabelece nada para as etapas do processo produtivo, ficando assim a cargo de cada empresa. Os microrganismos que devem estar controlados, pela legislação, no produto final são: bolores, leveduras e coliformes a 35°C. Esses microrganismos serão os analisados também na etapa de produção do xarope simples, pois se eles forem encontrados durante o processo, as chances deles estarem presentes ao final do processo é grande.

Para avaliar se algum outro microrganismo deve ser analisado, os parâmetros dos refrigerantes foram observados, assim como a faixa de viabilidade de cada tipo de microrganismo dentro dessas condições. Os refrigerantes são bebidas com alta atividade de água e com alta acidez (MORAIS, 2003), além disso os refrigerantes são bebidas carbonatadas (saturado em dióxido de carbono) (BRASIL, 2009). Devido a essas características, os microrganismos passíveis de estarem presentes nos refrigerantes são aqueles que conseguem sobreviver em ambientes de baixo pH e alta carbonatação. A atividade de água não é uma barreira para nenhum microrganismo no produto final, pois ela é superior ao mínimo necessário para todos os microrganismos. Os microrganismos capazes de sobreviver nas condições características dos refrigerantes são os bolores (fungos filamentosos), as leveduras (fungos unicelulares), os coliformes (MORAIS, 2003), algumas bactérias lácticas e outras bactérias (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011) .

Uma vez determinado quais os microrganismos passíveis de estarem presentes em refrigerantes, foi decidido que todos eles seriam analisados no estudo, pois como mencionado anteriormente se eles estão em uma das etapas do processo produtivo, as chances deles estarem presentes no produto final aumenta. Sendo assim os microrganismos que serão levados em consideração no presente estudo de redução da contaminação microbiológica da etapa de preparação do xarope simples são:

- Bolores
- Leveduras
- Bactérias totais
- Bactérias lácticas (ou acidúricas)
- Coliformes a 35°C

Uma vez definido os microrganismos que seriam analisados, realizou-se uma estratificação de dados do semestre anterior, para entender quais eram as contaminações e o quão frequentes elas eram. Além disso foi feito um levantamento inicial de possíveis pontos de contaminação no processo olhando para o fluxo de processos.

Olhando o processo produtivo é possível ver que existem duas matérias primas na produção de xarope simples que são o açúcar e a água. As possíveis contaminações dessas matérias primas foram descartadas como fontes de contaminação no xarope simples final, pois uma das etapas da produção consiste em aquecer o xarope simples a 80°C por 30 minutos. Sendo assim os possíveis pontos de contaminação antes dessa etapa foram desconsiderados. Assim como as matérias-primas, uma segunda hipótese levantada para uma possível fonte de contaminação foram os adjuntos e processo: a terra diatomácea e o carvão ativado. Uma fonte de contaminação do carvão ativado foi descartada, pois o carvão também estava presente na etapa de aquecimento. A terra diatomácea não foi descartada, e foi testada para possíveis contaminações através de uma análise microbiológica.

A segunda hipótese levantada foi em relação a coleta em si. O local da coleta ficava após o trocador de calor, em um Joelho, logo em cima de um ralo, que não é o ponto mais adequado para a realização de uma coleta. Para testar essa hipótese, o procedimento

de coleta foi alterado. Um novo procedimento em que se realizava a limpeza profunda dos arredores com um detergente alcalino clorado (com hipoclorito de sódio como princípio ativo) e deixando o produto agir por 10 minutos e depois enxaguando, antes de efetivamente começar o processo de limpeza da provadeira e coleta foi implementado. Foi levantada também a possibilidade de instalar uma nova provadeira em um ponto de coleta mais adequado, no tanque pulmão.

A terceira hipótese levantada foi em relação a eficácia do CIP. Ao acompanhar algumas vezes o procedimento de CIP da xaroparia simples, foi observado que, por mais que houvesse um procedimento, cada operador realizava o CIP de um jeito diferente, já que a operação era feita manualmente do supervisor (todas as válvulas eram abertas com comando manual através do supervisor). Foi observado também que nenhum operador cipava separadamente a tubulação pela qual passava xarope simples e a tubulação do spray ball para a limpeza dos tanques. Cada tanque da xaroparia simples possui duas tubulações de entrada, uma na parte inferior do tanque, que é por onde passa o xarope simples, e uma tubulação fina na parte superior do tanque, para a limpeza dos tanques durante o CIP, onde há um spray ball que fica centralizado na parte superior dos tanques. Pelos motivos citados acima, o processo de CIP foi considerado como uma possível fonte de contaminação.

A última hipótese levantada foi em relação a própria coleta em si, tanto em relação ao não cumprimento do procedimento de coleta pelo operador, ou seja, a amostra não estava contaminada, ela era contaminada na hora da coleta, bem como uma possível contaminação devido a uma provadeira não sanitária para coleta. Ou seja, duas hipóteses foram levantadas, a de uma contaminação pelos operadores e uma contaminação pela provadeira não sanitária.

Levando em conta as hipóteses acima, os seguintes pontos a serem testados como fonte de contaminação foram:

- Contaminação por adjuntos de processo (terra diatomácea)
- Contaminação pelo ambiente externo
- Contaminação pela limpeza incorreta dos equipamentos - CIP
- Contaminação pela provadeira
- Contaminação no momento da coleta - operador



Apesar das amostras contaminadas de xarope simples, o produto final não estava sendo afetado devido as diversas barreiras presentes no produto final, sendo elas: baixo pH devido ao ácido cítrico adicionado, conservantes (benzoato de sódio e sorbato de potássio), ambiente com pouco oxigênio e ambiente com alto teor de gás carbônico.

## **4.2 PROCESSO PRODUTIVO DO ESTUDO**

### **4.2.1 TRATAMENTO DE ÁGUA**

A água para a produção de refrigerantes deve seguir algumas especificações para garantir a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial do produto final. Em relação a qualidade microbiológica, deve-se ter tratamentos para garantir que a contaminação da água seja nula. Em relação a qualidade físico-química deve-se garantir que a água seja o mais translúcida possível, ou seja, que a turbidez seja baixa e com um pH próximo da neutralidade.

Antes de ir para a produção de refrigerantes, a água já potável passa por uma estação de tratamento de água, denominada ETA Refri. Nessa estação a água fica armazenada em uma caixa d'água onde é adicionado hipoclorito de cálcio para eliminar qualquer resquício de matéria orgânica que possa ter na água. Isso garante também que todos os microrganismos sejam eliminados, dado que parte de sua constituição é orgânica. (MEYER, 1994). Para ter certeza de que toda a matéria orgânica foi eliminada um teste de cloro livre na água é efetuado. Se houver cloro livre na água, significa que o cloro adicionado foi capaz de eliminar toda a matéria orgânica e ainda estar em excesso, ou seja, permanecer livre. (MARQUES, s.d.). Se o cloro livre estiver zerado, muito provavelmente ainda há matéria orgânica na água, e, portanto, a quantidade de cloro adicionada não foi o suficiente. A dosagem de cloro é feita de forma automática com o auxílio de um medidor de cloro inline presente na caixa d'água e um padrão pré setado da quantidade de cloro desejada.

Após passar por uma etapa de supercloração, a água é direcionada para um filtro disco, que tem por objetivo reduzir a quantidade de particulado presente na água, e com isso, ajudar na redução da turbidez. Para garantir que o filtro não sature com particulado,

ele é retrolavado (lavagem com água com sentido contrário ao fluxo da água que deve ser tratada) de tempos em tempos. A periodicidade da retrolavagem do filtro é definida pelo diferencial de pressão entre a entrada e a saída do filtro. Quando esse diferencial é muito grande, significa que o filtro está saturado e, portanto, deve ser retrolavado.

Após o filtro disco a água segue para um decolorador pois, para que a água esteja própria para consumo, é necessário retirar o cloro que foi adicionado anteriormente. O decolorador é um equipamento que possui no fundo crepinas (uma espécie de difusor de inox), em cima das crepinas uma camada de seixo, e em cima do seixo carvão ativado, sendo que o carvão é o componente em maior quantidade no decolorador. A água que ainda está com cloro entra pela parte inferior do decolorador através das crepinas, e passa pelo seixo e pelo carvão. O carvão absorve o cloro presente na água removendo-o. A água sai pela parte superior do decolorador já sem cloro. Para garantir o bom funcionamento do decolorador é necessário realizar uma retrolavagem (fluxo de água oposto ao fluxo de água do tratamento) para remover o cloro que ficou retido no leito de carvão, durante 2 horas, e depois esterilizar o decolorador com vapor. O vapor utilizado na esterilização sai por uma das crepinas no fundo do decolorador, e a esterilização ocorre a 120°C durante uma hora. Após essa esterilização o decolorador deve ser resfriado antes de ser novamente utilizado. O processo de retrolavagem e esterilização deve ocorrer a cada 48h. Como a produção é intensa, existem dois decoloradores, então enquanto um decolorador está sendo utilizado o outro está sendo retrolavado, esterilizado e resfriado.

Após o decolorador a água passa por mais um filtro (filtro polidor), para remover qualquer particulado remanescente ou impureza que possa ter passado pelas etapas anteriores. Como esse filtro não é passível de ser retrolavado como o outro (filtro disco), ele deve ser trocado a cada 15 dias para garantir que ele não vá saturar. A última etapa do tratamento de água é a radiação ultravioleta, que é feita por um equipamento que possui uma câmara cilíndrica, com 6 lâmpadas que emitem radiação UV, protegidas por tubos de quartzo. Os tubos de quartzo servem para proteger as lâmpadas da água, garantindo assim o seu bom funcionamento. Com a radiação UV é possível garantir que os microrganismos que tenham sobrevivido ou que tenham sido possivelmente agregados durante o tratamento de água serão eliminados (ALTAMAR, 2018). A água tratada vai tanto para a produção de xarope simples, de xarope composto quanto para

as linhas de envase. A xaroparia simples, a xaroparia composta e cada linha de envase possui seu próprio conjunto de filtro polidor e equipamento UV.

Quinzenalmente toda a tubulação de água da saída do declorador até as lâmpadas UVs passam por um processo de CIP com ácido nítrico e ácido peracético. Durante esse processo os filtros polidores são trocados e a parte interna da carcaça do filtro é limpa com água e sabão e uma escova destinada para essa finalidade.

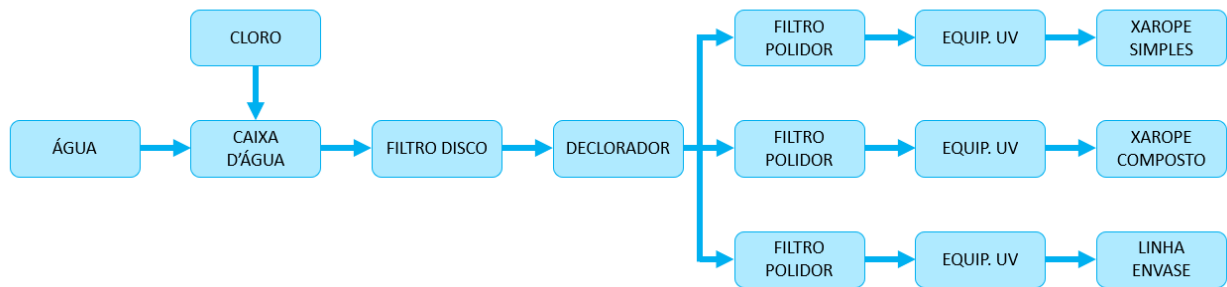


Figura 7 - Fluxograma ETA Refri

#### 4.2.2 PRODUÇÃO DO XAROPE SIMPLES

Xarope simples é o nome dado à mistura homogênea de água com açúcar durante a produção de refrigerante.

A produção de xarope simples se inicia com a chegada do açúcar à indústria, que ocorre através de big bags transportados por caminhões. Esses bags são descarregados e armazenados em local fechado e seco até serem utilizados na produção efetivamente. Os bags de açúcar são içados até um silo, onde os big bags são abertos pela parte inferior e o açúcar é despejado dentro do silo. No topo do silo há uma peneira para evitar que o açúcar empedrado adentre o silo. O açúcar que cai no silo é transportado para um tanque chamado de tanque dissolvedor através de uma tubulação com taliscas (roscas que empurram o açúcar). No tanque dissolvedor também é dosado água quente em uma proporção fixa que é feita através de uma válvula moduladora. Uma vez misturado a água com o açúcar no tanque dissolvedor, a mistura já denominada xarope simples passa por um filtro chamado de câmara separadora para reter impurezas grandes, como por exemplo pedaços de bags de açúcar que podem, eventualmente, ter caído no silo junto

com o açúcar. Após a câmara separadora o xarope simples segue para um tanque denominado tanque reação onde ele será tratado com carvão ativado por 30 minutos a 80°C e sob agitação constante para garantir que as impurezas e odores presentes no xarope simples ficarão retidos no carvão. Após o tratamento com carvão, o xarope simples passa por um filtro KG contendo várias placas horizontais cobertas por terra diatomácea (terra infusória) para retirar o carvão da mistura (o carvão fica retido na terra). De acordo com o diferencial de pressão desse filtro, sabe-se quando ele está prestes a saturar. É nesse momento que a terra diatomácea é descartada e uma nova camada de terra é adicionada ao filtro. Essa camada de terra adicionada ao filtro se chama pré-capa. Após o filtro com terra diatomácea, o xarope simples segue para um tanque denominado de tanque buffer que funciona como um pulmão para as próximas etapas, ou seja, ele armazena xarope simples garantindo que não haja interrupções nas etapas seguintes e nem que as etapas anteriores sejam interrompidas devido a uma velocidade mais baixa das etapas seguintes, ou seja por excesso de produto. A etapa seguinte consiste na passada de xarope simples por dois filtros, um filtro trapp e um filtro polidor, garantindo assim que qualquer particulado, pedaço de carvão ou terra que possam ter passado junto com o xarope simples fiquem retidos. Após a filtração o xarope é resfriado à 20°C através de um trocador de calor de placas e depois é armazenado em um tanque chamado tanque pulmão.

É importante ressaltar que a temperatura do xarope simples não deve ser superior a 90°C em nenhuma etapa do processo para garantir que não ocorra reações indesejáveis como caramelização e reação de Maillard, garantindo assim que o xarope simples não fique com aroma e sabor indesejáveis.

A limpeza dos tanques e tubulações da xaroparia simples (local onde o xarope simples é produzido) é realizada através de um procedimento de CIP a cada 96h com água quente e uma solução de hidróxido de sódio. Uma vez por mês também é realizada um CIP com ácido peracético, ácido nítrico e hidróxido de sódio. Esse procedimento é realizado pelos operadores dando um comando manual de abertura e fechamento de válvulas através de uma tela do supervisório.

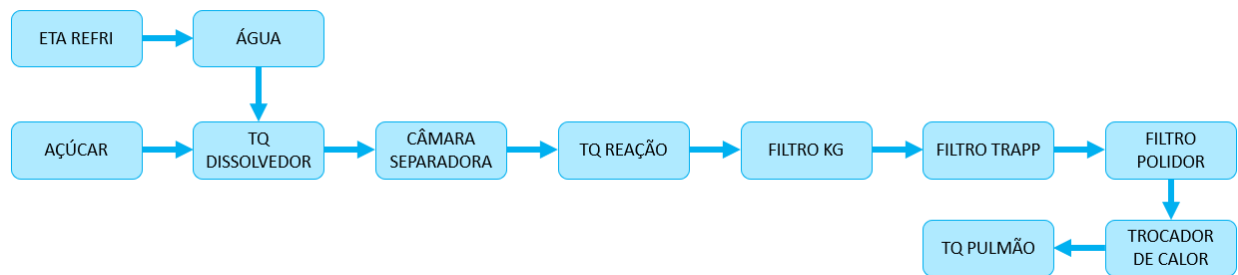


Figura 8 – Fluxograma Xaroparia Simples

### 4.2.3 PRODUÇÃO DO XAROPE COMPOSTO

O xarope composto é a mistura homogênea de todos os componentes presentes no refrigerante, cinco vezes mais concentrado que o produto final e sem CO<sub>2</sub>.

A produção do xarope composto é feita em um tanque, chamado de tanque XC e se inicia com a transferência de xarope simples presente no tanque pulmão para o tanque XC. Para cada refrigerante existe uma receita, e dentro dessa receita está descrito a quantidade de açúcar que deve ser utilizada. Como o que é transferido é xarope simples e não açúcar, realiza-se uma análise para determinar o grau brix do xarope simples e poder calcular a quantidade de xarope simples que deve ser transferida.

Uma vez transferido a quantidade correta de xarope simples para o tanque XC deve-se adicionar os outros ingredientes. Essa adição é feita em um tanque de sais por uma questão de facilidade de dosagem, dado que o tanque XC é muito alto e seria inconveniente ter que carregar os ingredientes até o topo do tanque. No tanque de sais é colocado água e benzoato de sódio e um agitador no fundo do tanque é ligado para realizar a solubilização do mesmo. O agitador se mantém ligado durante todo o processo. Depois, a esse mesmo tanque (tanque de sais) é adicionado sorbato de potássio e a solução é fervida por 20 minutos. O agitador do tanque de XC é ligado e a solução do tanque de sais é transferida para o tanque de XC. A tubulação e o tanque de sais utilizados são rinsados com água para garantir que não haja resíduo de nenhum ingrediente dentro da tubulação, garantindo assim que aquele componente esteja na quantidade correta dentro do tanque XC. Depois, água é adicionada ao tanque de sais, e depois é adicionado ácido cítrico. O agitador é ligado até que se ocorra uma completa

solubilização, e depois essa solução é transferida para o tanque de XC, que está com o agitador ligado. O processo de rinsagem do tanque e da tubulação é repetido. Por último é adicionado água nos tanques de sais e os concentrados correspondentes a cada sabor de refrigerante. O agitador é ligado até que se ocorra uma completa solubilização, e depois essa solução é transferida para o tanque de XC, que está com o agitador ligado. O processo de rinsagem do tanque e da tubulação é repetido. Durante o envio de todos os ingredientes o agitador presente no fundo do tanque XC deve estar ligado para garantir uma boa homogeneização.

Após a adição de todos os ingredientes, é coletado novamente uma amostra para avaliar a concentração de açúcar no meio e calcular a quantidade de água que deve ser adicionada para se obter a concentração final desejada. O volume total que deveria ter o tanque XC está na receita, então o cálculo a partir o grau brix é um check para garantir que pequenas perdas que possam ter ocorrido durante o processo possam ser corrigidas. Após a adição de água, o agitador do fundo do tanque é ligado novamente para garantir que o tanque esteja todo homogêneo. Para finalizar a produção do tanque e poder liberá-lo para envase é necessário a realização de algumas análises físico-químicas, para garantir que o produto está dentro das faixas de especificação.

Os tanques de XC devem ser limpos a cada utilização. Essa limpeza é realizada através de um CIP que utiliza água quente e uma solução de hidróxido de sódio. Uma vez por mês também é realizada um CIP com ácido peracético, ácido nítrico e hidróxido de sódio.

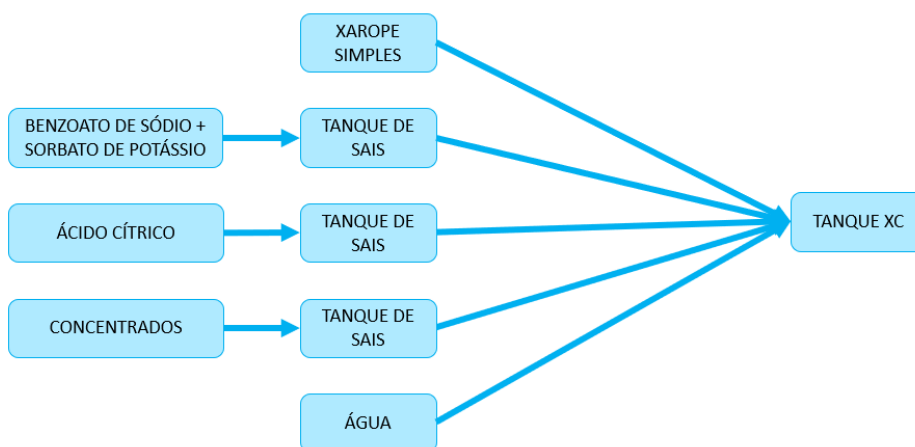


Figura 9 - Fluxograma Xaroparia Composta

#### 4.2.4 BLENDA GEM, GASEIFICAÇÃO E ENVASE

A partir do momento em que o xarope composto fica pronto, ele fica armazenado no tanque de XC para ser enviado para o envase. Entretanto, o xarope composto é cinco vezes mais concentrado que o produto final e ele ainda não é gaseificado. O xarope composto é enviado para a linha de envase com o auxílio de uma bomba através de uma tubulação de inox. Chegando no início da linha de envase ele vai para um tanque, onde é adicionado água na proporção de 1:5, ou seja, para cada X volume de xarope composto é adicionado 5X volume de água. Além disso nesse tanque também é injetado gás carbônico. Após esse tanque, a mistura, denominada refrigerante, segue para um equipamento chamado enchedora, que será responsável por realizar o envase nas embalagens. Depois da enchedora a embalagem é rotulada e codificada.

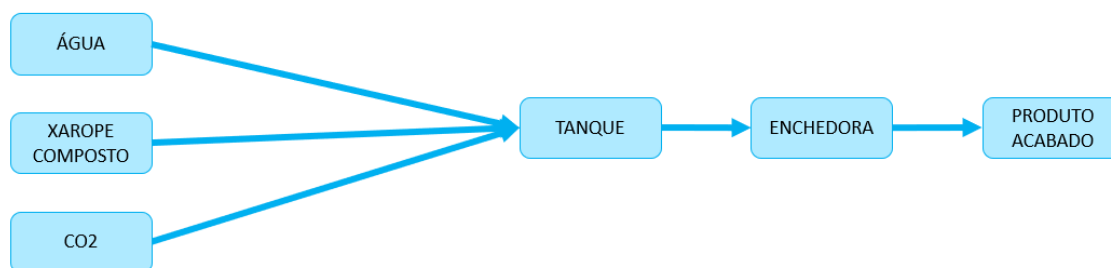


Figura 10 - Fluxograma blendagem gaseificação e envase

## 4.3 ANÁLISES REALIZADAS

### 4.3.1 BOLORES E LEVEDURAS

O meio de cultura utilizado nas análises de bolores e leveduras foi o ABD (agar de batata dextrose) fornecido pela Merck. O meio ABD é um meio de cultura para isolar e enumerar leveduras e bolores em produtos lácteos e alimentos (MERCK). O meio utilizado é composto por (MERCK):

- 15 g/L de agar
- 20 g/L de dextrose
- 4 g/L de extrato de batata

Para o preparo do meio de cultura, os passos abaixo foram seguidos:

1. Em um recipiente de vidro foi colocado ABD para resultar em uma concentração de 39 g/L. Em seguida foi adicionada a quantidade de água destilada necessária.
2. O meio foi colocado em aquecimento, sob constante agitação até que o ponto de fervura fosse atingido, garantindo que o meio de cultura estava completamente homogeneizado.
3. O meio foi distribuído em frascos de vidros limpos com tampas rosqueáveis, para serem utilizados em futuras análises.
4. Todos os frascos contendo o meio de cultura foram colocados na autoclave a 121°C por 15 minutos.
5. Os frascos contendo meio foram guardados sob refrigeração até a sua utilização.
6. No momento de sua utilização, os frascos foram retirados da geladeira e deixados em temperatura ambiente.
7. Os frascos foram colocados no micro-ondas até a solubilização do meio de cultura e depois foram estabilizados em banho maria a 45°C por 15 minutos.
8. Após a estabilização do agar em 45°C foi adicionado 1,3mL de ácido tartárico a 10% estéril para cada 100mL de meio de cultura.
9. O meio de cultura foi homogeneizado e levado para a câmara de fluxo laminar.
10. Na câmara de fluxo laminar, o meio de cultura foi despejado em placas de Petri, formando camadas com espessura de aproximadamente 3 mm, que logo em seguida foram tampadas.



Para a inoculação das amostras, os passos abaixo foram seguidos:

1. A amostra foi coletada em um saquinho estéril e levada até o laboratório de microbiologia, onde ele foi mantido sob refrigeração até o momento da análise.
2. Na câmara de fluxo laminar, em um frasco de vidro, foram adicionados 360mL de solução 0,85% NaCL e 40 mL de amostra, e esse frasco foi homogeneizado.
3. Num aparelho de filtração, foram acoplados os copos, e colocado com o auxílio de uma pinça uma membrana em cada copo (para essa análise, apenas um copo foi utilizado).
4. Foi adicionado 100mL da solução preparada (salina + amostra) no copo.
5. Uma bomba de sucção foi ligada para realizar a filtração.
6. Depois que toda a solução do copo foi filtrada, 100 mL de solução 0,85% NaCl foram adicionadas ao copo e se deu início a uma nova filtração.
7. Após a filtração da solução 0,85% NaCl, a membrana foi retirada com o auxílio de uma pinça, a placa de pétri já preparada foi aberta e a membrana foi colocada na placa de petri já com o meio.
8. As placas foram inoculadas com a tampa para baixo a 27°C por 120h na estufa.

Após a inoculação, as placas foram retiradas da estufa para leitura. As colônias brancas, arredondadas e cremosas que apereceram eram leveduras, e as as colônias verdes ou brancas não cremosas eram bolores, como pode ser visto na figura 11.

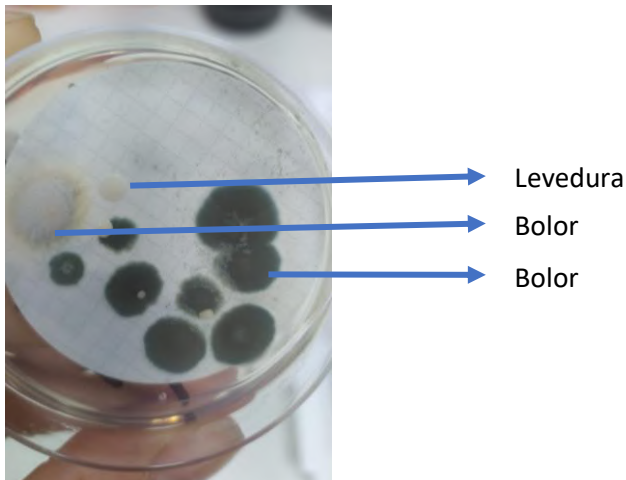


Figura 11 - Leveduras e bolores

#### 4.3.2 BACTÉRIAS TOTAIS

O meio de cultura utilizado nas análises de bactérias totais foi o APC (agar padrão para contagem) fornecido pela Merck. O meio APC não contém nenhum inibidor, então não é um meio específico para nenhuma análise (MERCK MILPORE). O meio utilizado é composto por (MERCK MILPORE):

- 5 g/L de enzima digestiva de caseína
- 2,5 g/L de extrato de levedura
- 1 g/L de dextrose
- 15 g/L de agar

Para o preparo do meio de cultura, os passos abaixo foram seguidos:

1. Em um recipiente de vidro foi colocado APC para resultar em uma concentração de 22,5 g/L. Em seguida foi adicionada a quantidade de água destilada necessária.
2. O meio foi colocado em aquecimento, sob constante agitação até que o ponto de fervura fosse atingido, garantindo que o meio de cultura estava completamente homogeneizado.
3. O meio foi distribuído em frascos de vidros limpos com tampas rosqueáveis, para serem utilizados em futuras análises.
4. Todos os frascos contendo o meio de cultura foram colocados na autoclave a 121°C por 15 minutos.

5. Os frascos contendo meio foram guardados sob refrigeração até a sua utilização.
6. No momento de sua utilização, os frascos foram retirados da geladeira e deixados em temperatura ambiente.
7. Os frascos foram colocados no micro-ondas até a solubilização do meio de cultura e depois foram estabilizados em banho maria a 45°C por 15 minutos.
8. Na câmara de fluxo laminar, o meio de cultura foi despejado em placas de Petri, formando camadas com espessura de aproximadamente 3 mm, que logo em seguida foram tampadas.

Para a inoculação das amostras, os passos abaixo foram seguidos:

1. A amostra foi coletada em um saquinho estéril e levada até o laboratório de microbiologia, onde ele foi mantido sob refrigeração até o momento da análise.
2. Na câmara de fluxo laminar, em um frasco de vidro, foram adicionados 360mL de solução 0,85% NaCL e 40 mL de amostra, e esse frasco foi homogeneizado.
3. Num aparelho de filtração, foram acoplados os copos, e colocado com o auxílio de uma pinça uma membrana em cada copo (para essa análise, apenas um copo foi utilizado).
4. Foi adicionado 100mL da solução preparada (salina + amostra) no copo.
5. Uma bomba de sucção foi ligada para realizar a filtração.
6. Depois que toda a solução do copo foi filtrada, 100 mL de solução 0,85% NaCl foram adicionadas ao copo e se deu início a uma nova filtração.
7. Após a filtração da solução 0,85% NaCl, a membrana foi retirada com o auxílio de uma pinça, a placa de pétri já preparada foi aberta e a membrana foi colocada na placa de petri já com o meio.
8. As placas foram inoculadas com a tampa para baixo a 35°C por 48h na estufa

Após a inoculação, as placas foram retiradas da estufa para leitura.

### 4.3.3 BACTÉRIAS ACIDÚRICA

O meio de cultura utilizado nas análises de bactérias acidúricas foi o M-Green fornecido pela Acumedia. O meio M-Green é um meio para detecção de fungos em bebidas (HEXIS CIENTÍFICA), porém devido a um padrão na empresa realizada o estudo, ele foi utilizado para essa análise. O meio utilizado é composto por (HEXIS CIENTÍFICA),:

- 50 g/L de dextrose
- 9 g/L de extrato de levedura
- 5 g/L de digestão enzimática de caseína
- 5 g/L de digestão enzimática de tecido animal
- 2,1 g/L de sulfato de magnésio
- 2 g/L de fosfato de potássio
- 0,05 g/L de diástase
- 005 g/L de tiamina
- 0,026 g/L de verde de bromocresol

Para o preparo do meio de cultura, os passos abaixo foram seguidos:

1. Em um recipiente de vidro foi colocado M-Green para resultar em uma concentração de 73 g/L. Em seguida foi adicionada a quantidade de água destilada necessária.
2. O meio foi colocado em aquecimento, sob constante agitação até que o ponto de fervura fosse atingido, garantindo que o meio de cultura estava completamente homogeneizado.
3. Foi adicionado 20 g/L de agar-agar ao meio e homogeneizado.
4. O meio foi deixado em repouso por 10 minutos.
5. O meio foi distribuído em frascos de vidros limpos com tampas rosqueáveis, para serem utilizados em futuras análises.
6. Todos os frascos contendo o meio de cultura foram colocados na autoclave a 121°C por 15 minutos.
7. Os frascos contendo meio foram guardados sob refrigeração até a sua utilização.
8. No momento de sua utilização, os frascos foram retirados da geladeira e deixados em temperatura ambiente.

9. Os frascos foram colocados no micro-ondas até a solubilização do meio de cultura e depois foram estabilizados em banho maria a 45°C por 15 minutos.
10. Na câmara de fluxo laminar, o meio de cultura foi despejado em placas de Petri, formando camadas com espessura de aproximadamente 3 mm, que logo em seguida foram tampadas.

Para a inoculação das amostras, os passos abaixo foram seguidos:

1. A amostra foi coletada em um saquinho estéril e levada até o laboratório de microbiologia, onde ele foi mantido sob refrigeração até o momento da análise.
2. Na câmara de fluxo laminar, em um frasco de vidro, foram adicionados 360mL de solução 0,85% NaCL e 40 mL de amostra, e esse frasco foi homogeneizado.
3. Num aparelho de filtração, foram acoplados os copos, e colocado com o auxílio de uma pinça uma membrana em cada copo (para essa análise, apenas um copo foi utilizado).
4. Foi adicionado 100mL da solução preparada (salina + amostra) no copo.
5. Uma bomba de sucção foi ligada para realizar a filtração.
6. Depois que toda a solução do copo foi filtrada, 100 mL de solução 0,85% NaCl foram adicionadas ao copo e se deu início a uma nova filtração.
7. Após a filtração da solução 0,85% NaCl, a membrana foi retirada com o auxílio de uma pinça, a placa de pétri já preparada foi aberta e a membrana foi colocada na placa de petri já com o meio.
8. As placas foram inoculadas com a tampa para baixo a 27°C por 120h na estufa em microaerofilia

Após a inoculação, as placas foram retiradas da estufa para leitura. Nas colônias presentes na placa foram pingado peróxido de hidrogênio. As colônias que formaram bolhas eram de bactérias acidúricas e as que não formaram bolhas não eram de bactérias acidúricas.

#### 4.3.4 COLIFORMES

O meio de cultura utilizado nas análises coliformes foi o Endo, no formato de pads fornecido pela Sartorius. O meio Endo é um meio para detecção de coliformes (SARTORIUS). Para o preparo do meio de cultura, os passos abaixo foram seguidos:

1. A embalagem dos pads foi aberta e a quantidade de placas que seriam utilizadas foi retirada da embalagem
2. As placas foram abertas e umedecidas utilizando de 3,0 a 3,5 mL de água destilada dentro da câmara de fluxo laminar.

Para a inoculação das amostras, os passos abaixo foram seguidos:

1. A amostra foi coletada em um saquinho estéril e levada até o laboratório de microbiologia, onde ele foi mantido sob refrigeração até o momento da análise.
2. Na câmara de fluxo laminar, em um frasco de vidro, foram adicionados 360mL de solução 0,85% NaCL e 40 mL de amostra, e esse frasco foi homogeneizado.
3. Num aparelho de filtração, foram acoplados os copos, e colocado com o auxílio de uma pinça uma membrana em cada copo (para essa análise, apenas um copo foi utilizado).
4. Foi adicionado 100mL da solução preparada (salina + amostra) no copo.
5. Uma bomba de sucção foi ligada para realizar a filtração.
6. Depois que toda a solução do copo foi filtrada, 100 mL de solução 0,85% NaCl foram adicionadas ao copo e se deu início a uma nova filtração.
7. Após a filtração da solução 0,85% NaCl, a membrana foi retirada com o auxílio de uma pinça, a placa de pétri já preparada foi aberta e a membrana foi colocada na placa de petri já com o meio.
8. As placas foram inoculadas com a tampa para cima a 35°C por 48h na estufa.

Após a inoculação, as placas foram retiradas da estufa para leitura. As colônias que cresceram com coloração rosa a vermelho escuro sem brilho metálico eram colônias típicas de Enterobacteriaceae (coliformes). As colônias que possuíam uma cor vermelha com um brilho metálico esverdeado eram de *E. coli*. As colônias incolores não eram de coliformes, e, por isso não foram consideradas na contagem.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE DOS RESULTADOS DO SEMESTRE ANTERIOR

Como pode ser observado no gráfico 1, o segundo semestre de 2019 foi bem crítico em termos de contaminações por bolores, tendo em média 15% das amostras coletadas apresentando crescimento de bolores. O mês com maior contaminação de bolor foi setembro, com 38% das amostras contaminadas. Os resultados apresentados não levaram em conta o limite legal, apenas se houve ou não crescimento de bolores naquela amostra. Além disso pode ser observado oscilação nos resultados, ou seja, nem todas as amostras saíam contaminadas.

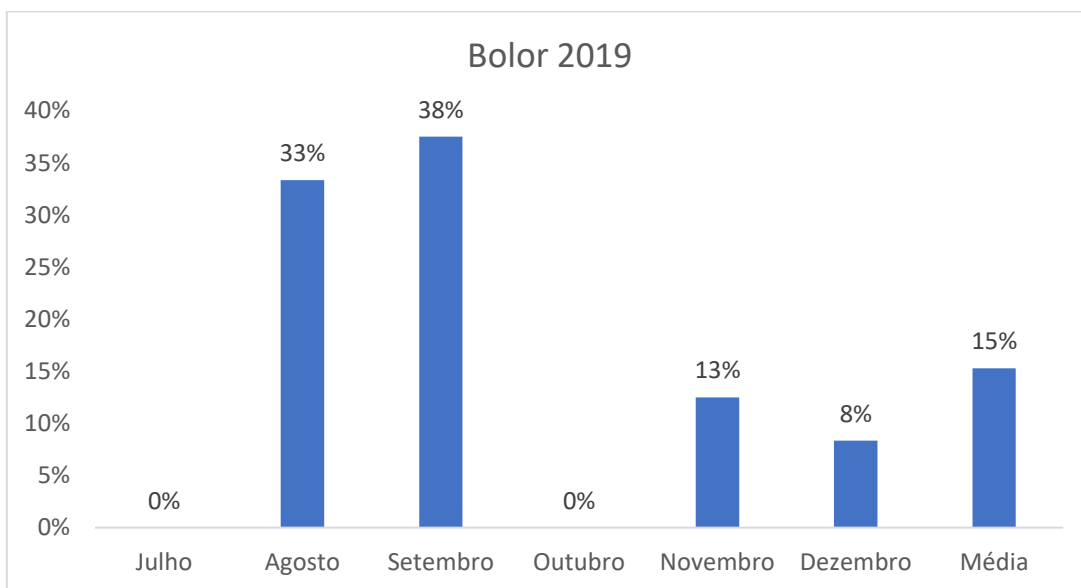


Gráfico 1 - Contaminação por bolor em 2019

Como pode ser observado no gráfico 2, o segundo semestre de 2019 teve uma grande variação em relação a quantidade de amostras contaminadas com leveduras, tendo 43% de amostras contaminadas com leveduras em julho como o máximo, e agosto com 11% de contaminação como o mínimo. Além disso é possível observar que todos os meses tiveram amostras contaminadas com leveduras, indicando um problema crônico.

Uma das características que mais chamou atenção na alta quantidade de contaminação por leveduras, assim como por bolores no xarope simples foi o fato da atividade de água no xarope simples ser extremamente baixa devido a alta quantidade de açúcar ali presente (CUNHA, 2016). Essa contaminação pode indicar que a hipótese de que a limpeza não esteja sendo efetiva e a hipótese de uma possível contaminação na hora da coleta estejam corretas.

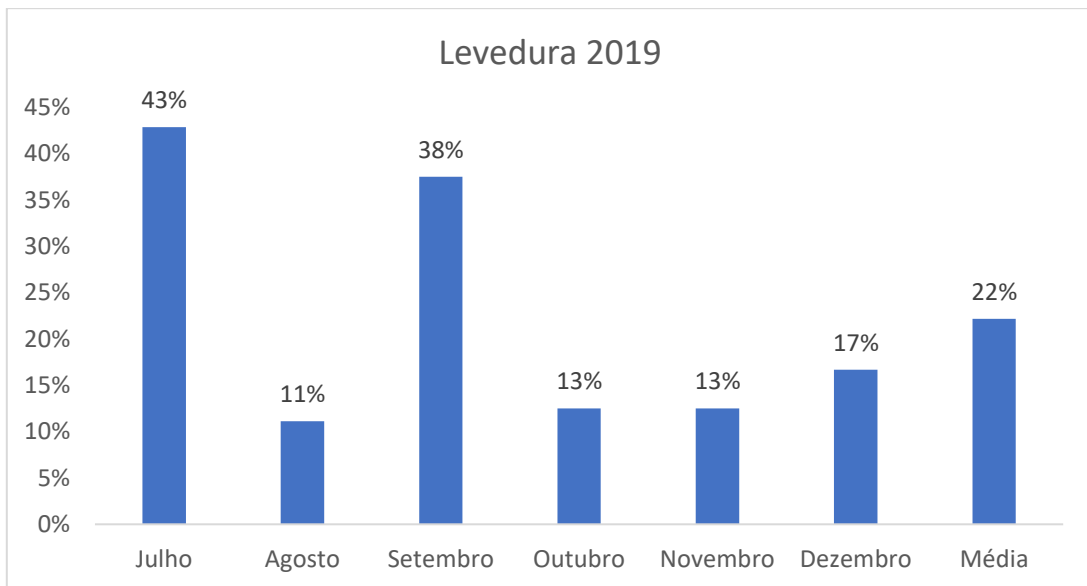


Gráfico 2 - Contaminação por levedura em 2019

Pelo gráfico 3 é possível observar que em todos os meses houve contaminação por bactérias, indicando um problema crônico, sendo que em outubro 100% das amostras coletadas estavam contaminadas.



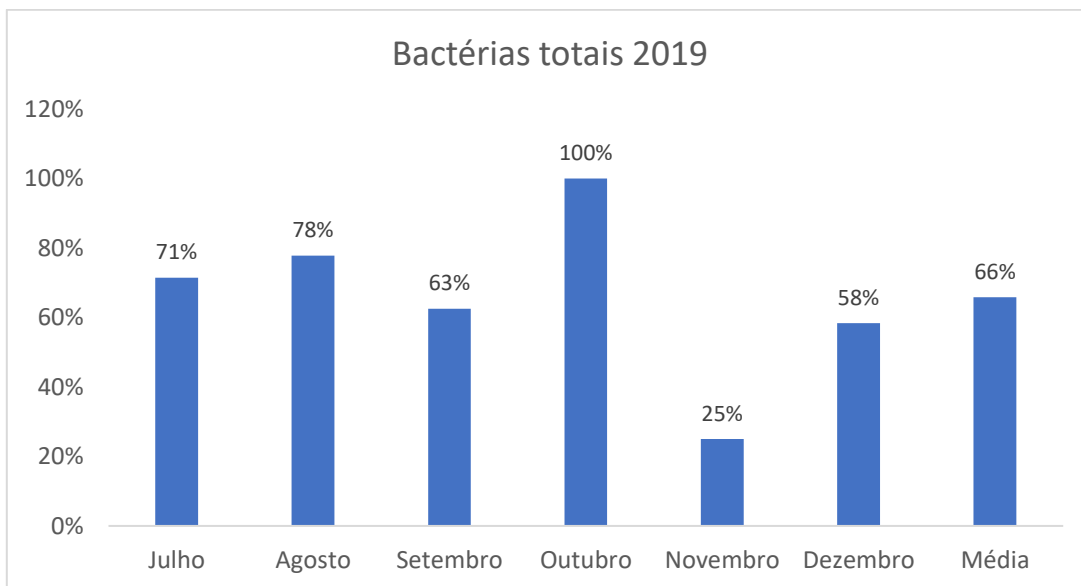


Gráfico 3 - Contaminação por bactérias totais em 2019

Não houve nenhuma amostra contaminada com bactérias acidúricas no segundo semestre de 2019, e, portanto, foi possível concluir que esse tipo de microrganismo não era um problema no processo.

Pelo gráfico contaminação por coliformes em 2019 é possível observar que a contaminação por coliformes também estava presente nas amostras coletadas. O mês com o maior número de amostras coletadas contaminadas por coliformes foi dezembro, com 25%, e os meses com menor número de amostras coletadas contaminadas foi setembro e novembro com 0%.

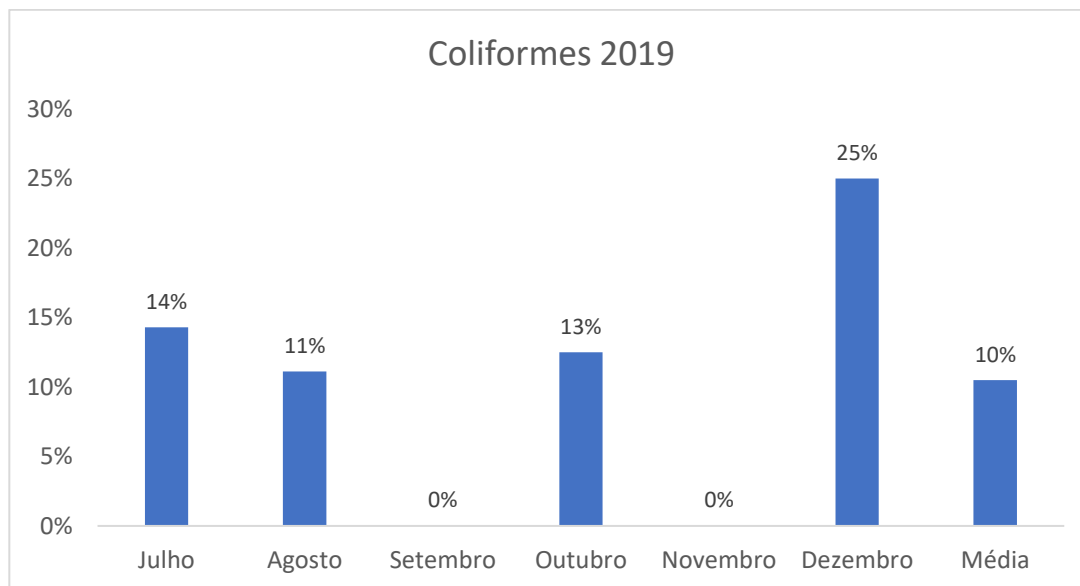


Gráfico 4 - Contaminações por coliformes em 2019

Pelo gráfico 5 é possível observar que dos 5 tipos de microrganismos escolhidos para este estudo (bolores, leveduras, bactérias totais, bactérias acidúricas e coliformes), quatro deles estavam presentes nas amostras: os bolores, as leveduras, as bactérias totais e os coliformes. O único grupo de microrganismo escolhido para o estudo que não estava presente em nenhuma amostra foi o de bactérias acidúricas.

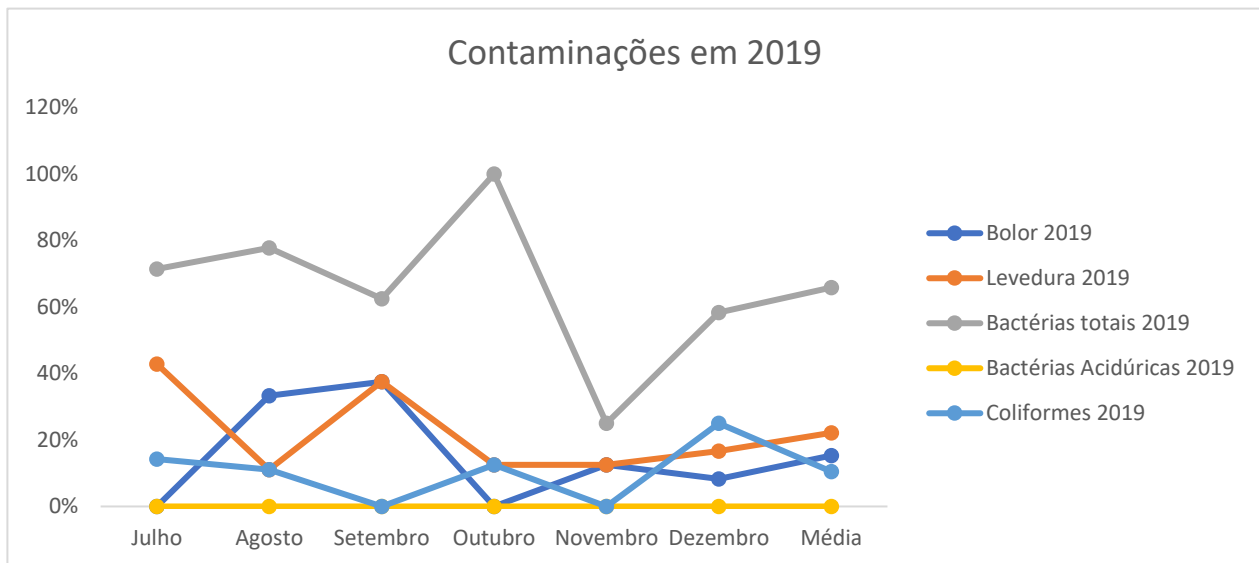


Gráfico 5 - Contaminações em 2019

É válido ressaltar que apesar desses microrganismos estarem aparecendo no xarope simples, eles não estavam impactando o produto final, ou seja, as barreiras presentes no produto final estavam sendo suficientes. As barreiras presentes no produto final eram: baixo pH devido ao ácido cítrico adicionado, conservantes (benzoato de sódio e sorbato de potássio), ambiente com pouco oxigênio e ambiente com alto teor de gás carbônico. O baixo teor de oxigênio é uma das principais barreiras para os bolores, pois eles são microrganismos aeróbios (JUVONEN, VIRKAJÄRVI, *et al.*, 2011). Além disso o sorbato de potássio e o benzoato de sódio são fungicidas e bactericidas (MAIAN FOOD, 2018), contribuindo assim para que o produto final não seja afetado.

## 5.2 AÇÕES REALIZADAS

A primeira ação realizada, em janeiro, foi a de modificar o procedimento de coleta do xarope simples, adicionando a etapa de limpeza profunda dos arredores do ponto de coleta. No procedimento foi incluído que a área deveria ser jateada com um aplicador de espuma contendo um detergente alcalino clorado, e que a espuma deveria agir por 10 minutos. Passados o tempo de ação a espuma devia ser enxaguada com água e prossegue-se para realizar a limpeza da provadeira e a coleta. A operação foi treinada nesse novo procedimento e responsáveis por realizar as coletas foram estabelecidos.

Inicialmente ficou definido um responsável por turno. Foram estabelecidos responsáveis, para diminuir a quantidade de variáveis no problema, ou seja, se apenas uma pessoa realizasse a coleta, o modo que a coleta estava sendo realizada deixaria de ser uma variável. A coleta da amostra era realizada como descrito abaixo:

1. Aplicar detergente alcalino clorado na provadeira e nos arredores da provadeira, incluindo o ralo com um aplicador de espuma.
2. Esperar 10 minutos o detergente agir e depois enxaguar com água.
3. Abrir a provadeira e realizar uma purga inicial de xarope simples.
4. Com uma escova específica para coleta, escovar a provadeira por dentro, fora e os arredores da provadeira com detergente neutro.
5. Enxaguar a região escovada com água.
6. Com uma escova específica para coleta, escovar a provadeira por dentro, fora e os arredores da provadeira com uma solução de ácido nítrico.
7. Enxaguar a região escovada com água.
8. Com uma escova específica para coleta, escovar a provadeira por dentro, fora e os arredores da provadeira com uma solução de ácido peracético.
9. Jogar álcool 70% nos arredores da provadeira, por fora da provadeira e por dentro da provadeira.
10. Abrir a provadeira e realizar uma nova purga, e manter a provadeira aberta.
11. Abrir o saco de coleta e coletar o xarope simples, sem que o saco encoste na provadeira.
12. Fechar o saco de coleta.
13. Fechar a provadeira.
14. Limpar o local com detergente neutro e depois enxaguar.

Para verificar se a terra estava possivelmente contaminando o xarope simples, foi realizada uma análise microbiológica em uma amostra de terra. A terra foi analisada para bolores, leveduras, bactérias totais e bactérias acidúricas. Foi constatado presença de bolores, leveduras e bactérias totais, sendo as leveduras e as bactérias totais com maior quantidade por amostra. Para reduzir a contaminação proveniente da terra foi estabelecido que os sacos de terra que fossem abertos, deveriam ser utilizados o quanto

antes, e, caso não fosse possível acabar com a terra do saco, ele deveria ser enrolado e armazenado em uma sala para reduzir a contaminação da terra por conta do ambiente. Antes dessa ação a terra ficava próxima ao filtro KG, em um local úmido e quente, favorecendo assim a contaminação da terra. Foi levantada a ação de compra de um carrinho com tampa para que o saco aberto de terra pudesse ficar próximo ao local de uso. A ação de compra do carrinho não foi realizada durante o período em que o projeto foi efetuado e nem durante o período no qual os resultados após as ações realizadas são mostrados.

A ação de instalação de uma provadeira no tanque pulmão, para se ter um ponto de coleta mais adequado não foi realizada. Isso ocorreu pois, não havia uma provadeira excedente na área, ela deveria ser comprada e, pois, a instalação demandava a contratação de mão de obra externa, pois a solda da provadeira deveria ser sanitária e feita em espaço confinado (no interior de um tanque). Apesar disso, foi estabelecido a boa prática de sempre autoclavar a provadeira antes do cip, garantindo assim que a provadeira em si, não seria uma fonte de contaminação.

Para garantir que os operadores não estavam contaminando a amostra, eles foram retreinados no procedimento de coleta e acompanhado nas coletas. Para reduzir ainda mais a variabilidade do fator do operador foi estabelecido também um responsável para a coleta, garantindo assim que sempre a mesma pessoa iria fazer a coleta da mesma maneira.

A modificação do procedimento de CIP só foi implementada efetivamente no final de março. Antes de modificar o procedimento propriamente dito, foi necessário fazer um mapeamento na área de todas as válvulas que existiam, onde elas estavam localizadas, o que elas conectavam, e quais delas eram possíveis de serem abertas via supervisório e quais deveriam ser abertas manualmente em campo. Após esse mapeamento foi constatado que apenas as válvulas de dreno precisavam ser abertas manualmente em campo, e que todas as outras poderiam ser abertas do supervisório. Juntamente com o mapeamento as válvulas, também foi feito um mapeamento das bombas existentes e seus posicionamentos. Uma vez tendo o mapeamento pronto, foi definido a ordem de abertura das válvulas para a primeira etapa do CIP, a de enchimento do sistema com solução. O enchimento do sistema com solução significa levar a solução que iria ser

utilizada da planta de CIP, passar por toda a xaroparia simples e depois retornar para a planta de CIP. Essa etapa é crucial, pois a contagem do tempo de circulação de solução só é realizada quando se atinge a concentração e a temperatura estabelecidas para a solução no retorno da planta de CIP. A segunda etapa foi abrir as válvulas para que a solução passasse por todas as tubulações por onde passa o xarope simples, sem se preocupar com a limpeza dos tanques, e por fim a terceira parte foi a de fechar as válvulas para as tubulações por onde passa o xarope simples e abrir as válvulas para as tubulações do spray ball para a limpeza dos tanques. Uma vez definido a ordem de abertura das válvulas, foi feito um teste para garantir que o procedimento iria ocorrer conforme o planejado. A primeira e a segunda etapa ocorreram conforme planejado, porém a terceira etapa não, pois o diâmetro da tubulação do spray ball é muito menor do que a tubulação de xarope, o que faz com que a vazão diminua, causando assim uma piscina de solução no tanque anterior, e uma sucção de ar por algumas bombas posteriores. Para evitar esse problema foi estabelecido que durante a limpeza dos tanques pela tubulação de spray ball iria se abrir de tempos em tempos as válvulas da tubulação de xarope simples, normalizando assim a vazão. Essas válvulas iriam ser abertas quando as bombas comesçassem a fazer um barulho incomum, indicando que não havia mais solução ou quando a chave de nível baixa de algum tanque fosse atuada, indicando assim a formação de piscina no tanque. Após a alteração do procedimento, foi elaborado um caderno com um checklist para o CIP da xaroparia simples. Na parte da frente desse caderno tinha foto da tela do supervisório, indicando onde cada válvula que deveria ser aberta ou fechada estava localizada. Havia também foto em campo de cada válvula que deveria ser aberta ou fechada, caso houvesse algum alarme na válvula ou alguma anomalia, o operador poderia facilmente encontrar a válvula em campo. Após a localização das válvulas estava presente um checklist das limpezas que deveriam ser feitas manualmente antes do CIP e um checklist de todas as válvulas que deveriam ser abertas ou fechadas, os parâmetros que deveriam ser atingidos e o tempo necessário antes de se passar para a próxima etapa em ordem de execução. A parte do checklist foi repetida inúmeras vezes, para que a cada CIP os operadores pudessem fazer o check e garantir que o procedimento estava sendo executado da maneira correta. Uma vez que o procedimento tinha sido elaborado, testado, corrigido e o checklist tinha sido elaborado,

a operação de todos os turnos foi treinada e acompanhada no novo procedimento de CIP, garantindo assim, que todos estavam cientes do novo procedimento e que sabiam executá-lo.

### **5.3 RESULTADOS APÓS AS AÇÕES REALIZADAS**

Antes de iniciar a análise dos resultados após as ações realizadas, é importante ressaltar que as contaminações que ocorreram nos meses de maio e junho não estão presentes, pois os dados estavam indisponíveis no sistema, no momento da coleta de dados.

Nos gráficos dessa seção podemos comparar o resultado do segundo semestre de 2019, antes do estudo ser iniciado, do começo de 2020 (janeiro, fevereiro e metade de março), e o resultado após o término do projeto (a partir de março de 2020).

No gráfico 6 é possível observar que o segundo semestre de 2019 teve muito mais contaminações do que em 2020. Sem levar em consideração os resultados de maio e junho, podemos observar que apenas março teve uma pequena quantidade de amostras contaminadas, indicando que as ações realizadas tiveram efeito para a redução da contaminação de bolores. Como a redução dos bolores se deu em janeiro, podemos associar a contaminação das amostras anteriores por bolores a uma contaminação cruzada na coleta, o pelo ambiente externo ou pelo operador. Como ainda houve contaminação em março, podemos associar também uma pequena quantidade de contaminação proveniente de uma assepsia ineficiente ou de uma terra contaminada.

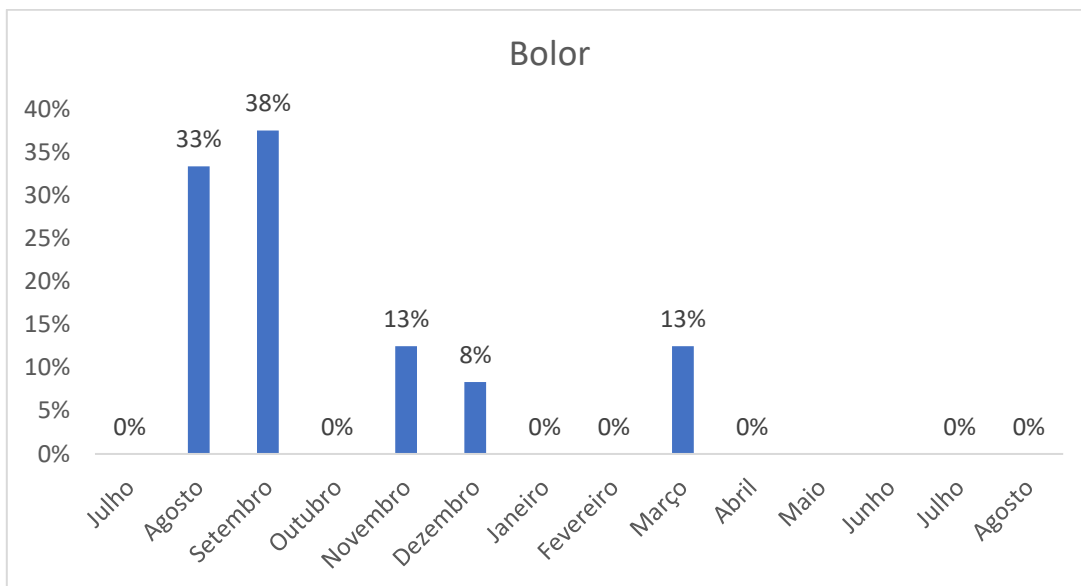


Gráfico 6 - Contaminações por bolores em 2019 e 2020

No gráfico 7 é possível observar que o segundo semestre de 2019 teve contaminações por leveduras em todos os meses. No início de 2020 (janeiro e fevereiro) as contaminações por leveduras se intensificaram, porém após a conclusão das ações no final de março, as contaminações por leveduras são reduzidas. Diferentemente dos bolores em que as contaminações foram zeradas, as contaminações por leveduras ainda aparecem, porém em menor escala, que é o caso de julho de 2020. Uma das possíveis explicações para ainda se ter amostras contaminadas com leveduras é a terra diatomácea. Como mostrado anteriormente, a análise realizada na terra diatomácea apresentou grandes quantidades de colônias de leveduras, sendo assim uma fonte de contaminação que não foi passível de ser zerada, porém foi minimizada.



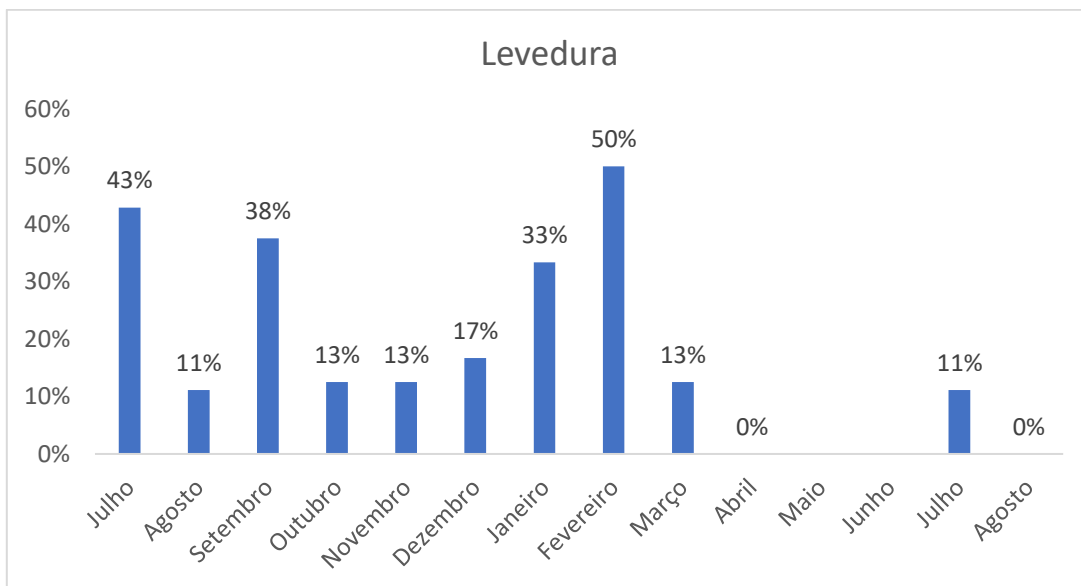


Gráfico 7 - Contaminações por leveduras em 2019 e 2020

No gráfico 8 é possível observar que não houve uma redução de amostras contaminadas, já que o número oscilava muito e, pois, em abril, após a conclusão de todas as ações realizadas, a quantidade de amostras contaminadas era de 100%. Apesar de a quantidade de contaminações ter diminuído após abril, não é possível afirmar que isso é algo estável, e se o resultado realmente for estável a longo prazo, não foi devido as ações realizadas no presente estudo.

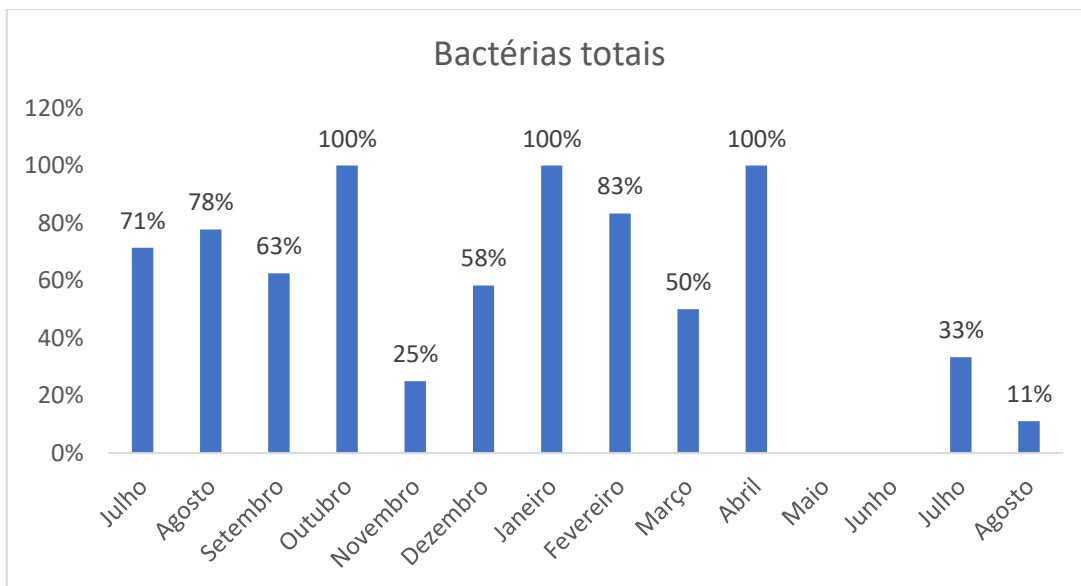


Gráfico 8 - Contaminações por bactérias totais em 2019 e 2020

Não houve contaminação por bactérias acidúricas em nenhum dos meses de 2019 e de 2020. Isso era esperado, pois em 2019 já não havia contaminação por esse tipo de microrganismo.

No gráfico 9 é possível observar que o segundo semestre de 2019 teve mais meses com contaminações por coliformes do que em 2020. No início de 2020 (janeiro e fevereiro) as contaminações por coliformes se intensificaram, porém após a conclusão das ações no final de março, as contaminações por coliformes foram eliminadas. Isso indica que as ações realizadas tiveram efeito, não só para bolores e leveduras, como também para coliformes. Como os resultados se mantiveram zerados após a conclusão das ações, podemos afirmar que o resultado da eliminação dos coliformes é estável.

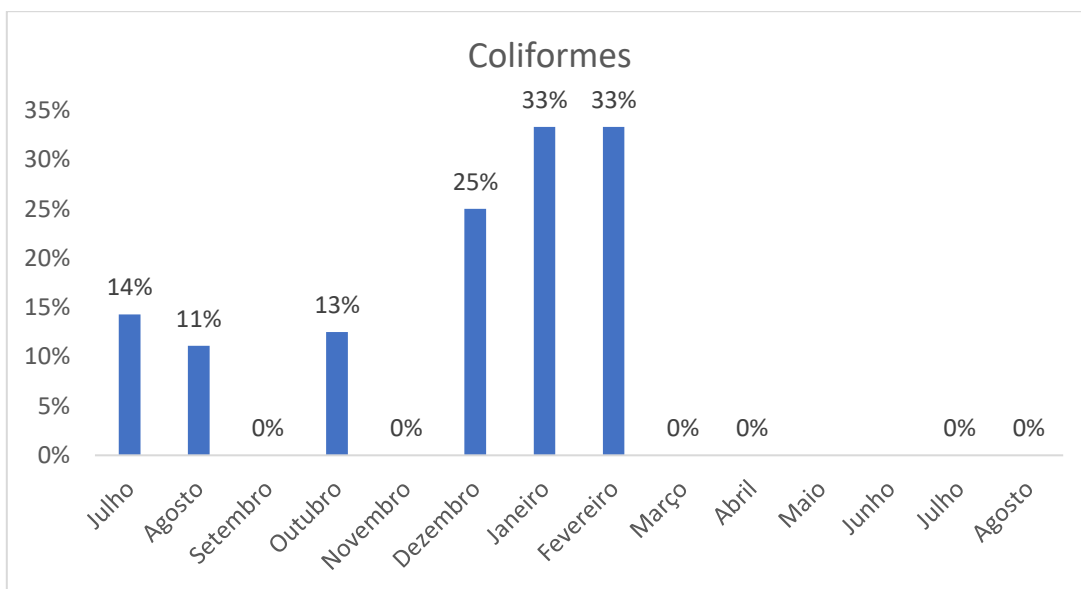


Gráfico 9 - Contaminações por coliformes em 2019 e 2020

## 6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados após as ações realizadas é possível afirmar que a contaminação da amostra de xarope simples por bolor vinha majoritariamente de uma coleta inapropriada. Essa coleta inapropriada se refere tanto em relação a arredores sujos, quanto a contaminação cruzada realizada durante a coleta. Isso pode ser inferido, pois a mudança no procedimento de coleta e o retreinamento da operação no procedimento de coleta foi realizado em janeiro, e pode se perceber que nos meses que procederam essa mudança só houve contaminação em março, e a contaminação que ocorreu foi pequena. O restante da contaminação por bolores vinha provavelmente de uma terra contaminada, que teve sua contaminação controlada por um armazenamento de sacos abertos mais adequados ou de uma assepsia não adequada.

A segunda conclusão que pode ser tomada é a que a ação com maior efeito foi a da mudança de procedimento de CIP, pois o CIP passou a ser realizado de forma adequada, limpando tanto as tubulações quanto os tanques. Essa conclusão pode ser tomada, pois após março as contaminações por coliformes foram eliminadas, assim como as de bolores, e as de leveduras foram reduzidas drasticamente. A contaminação residual por leveduras, provavelmente se deu por parte da terra contaminada.

Em nenhum momento houve contaminação por bactérias acidúricas, porém a contaminação por bactérias totais foi expressiva tanto antes quanto após o estudo realizado. Não houve nenhuma redução de quantidade de amostras contaminadas, com nenhuma das ações tomadas, indicando assim que elas não foram eficientes para esse tipo de microrganismo. Para a eliminação desse tipo de contaminante deve ser feito um outro estudo.

Apesar das amostras contaminadas de xarope simples, o produto final não estava sendo afetado devido as diversas barreiras presentes no produto final, sendo elas: baixo pH devido ao ácido cítrico adicionado, conservantes (benzoato de sódio e sorbato de potássio), ambiente com pouco oxigênio e ambiente com alto teor de gás carbônico.

## BIBLIOGRAFIA

ALTAMAR. Desinfecção por UV-C. Altamar Sistemas Aquáticos, 11 agosto 2018. Disponível em: <<https://altamar.com.br/o-que-e-desinfeccao/>>. Acesso em: 13 setembro 2021.

AMBEV. White Belt. UA Skore, 10 outubro 2019. Disponível em: <<https://ua.skore.io/pt/contents/765185>>. Acesso em: 17 maio 2021.

ANVISA. RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001, publicada em DOU nº7, 10 janeiro 2001. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001.pdf>>. Acesso em: 12 junho 2021.

ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019, 26 dezembro 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: 12 junho 2021.

RYAL, S. 23 Differences between Yeasts and Molds (Yeasts vs Molds). Microbe Note, 24 julho 2018. Disponível em: <<https://microbenotes.com/differences-between-yeasts-and-molds/>>. Acesso em: 17 setembro 2021.

ASHURST, P. R. Carbonated Beverages. Reference Module in Food Science, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965032406>>. Acesso em: 14 agosto 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTESE DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS. Disponível em: <<https://abir.org.br/o-setor/dados/refrigerantes/>>. Acesso em: 9 julho 2021.

BCN RESEARCH LABORATORIES. Spoilage of Carbonated Soft Drinks. BCN labs. Disponível em: <<https://www.bcnlabs.com/beverages>>. Acesso em: 16 setembro 2021.

BIOSAN. O que é Clean in place (CIP) e como funciona. Biosan, s.d. Disponível em: <<https://biosan.net.br/o-que-e-clean-in-place-cip-e-como-funciona/>>. Acesso em: 4 agosto 2021.

BOGSAN, P. D. C. Operações unitárias, 24 junho 2016. Disponível em: <[https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1987792/mod\\_resource/content/1/Opera%C3%A7%C3%B5es%20Unit%C3%A1rias.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1987792/mod_resource/content/1/Opera%C3%A7%C3%B5es%20Unit%C3%A1rias.pdf)>. Acesso em: 19 setembro 2021.

BRASIL. DECRETO Nº 6.871, DE 4 DE JUNHO DE 2009, Brasília, 4 junho 2009. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm)>. Acesso em: 12 junho 2021.

COSENTINO, R. O. Conheça o funcionamento do sistema de lavagem Clean in Place (CIP). Boas Práticas net, 2013. Disponível em: <<http://boaspraticasnet.com.br/conheca-o-funcionamento-do-sistema-de-lavagem-clean-in-place-cip/>>. Acesso em: 11 agosto 2021.

CUNHA, H. V. F. D. A diferença entre Atividade de Água (Aw) e o Teor de Umidade nos alimentos. Food Safety Brazil, 18 setembro 2016. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>>. Acesso em: 13 julho 2021.

FOOD PROCESSING. Process technology for soft drinks. Food Processing, 10 junho 2008. Disponível em: <<https://www.foodprocessing.com.au/content/processing/article/process-technology-for-soft-drinks-357733507>>. Acesso em: 13 agosto 2021.

GOULD, G. W. New Methods of Food Preservation. Maryland: Aspen Publisher, Inc, 1999. Acesso em: 19 setembro 2021.

HACH INDUSTRY. Industry - Soft Drink. Hach, c2021. Disponível em: <<https://www.hach.com/softdrinkguide>>. Acesso em: 16 agosto 2021.

HEXIS CIENTÍFICA. CALDO MGREEN 500G. Hexis Científica. Disponível em: <<https://www.hexis.com.br/produto/caldo-mgreen-500g>>. Acesso em: 15 junho 2021.

HYFOMA. Soft drinks. Safe Food Factory, 29 novembro 2016. Disponível em: <<https://www.safefoodfactory.com/en/knowledge/23-soft-drinks/>>. Acesso em: 11 agosto 2021.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Modern Food Microbiology. 7. ed. [S.l.]: [s.n.], 2005. Disponível em: <[https://www.academia.edu/37575774/James\\_M\\_Jay\\_Martin\\_J\\_Loessner\\_David\\_A\\_Golden\\_Modern\\_Food\\_Microbiology\\_7th\\_Edition\\_Food\\_Science\\_Texts\\_Series\\_20\\_pdf](https://www.academia.edu/37575774/James_M_Jay_Martin_J_Loessner_David_A_Golden_Modern_Food_Microbiology_7th_Edition_Food_Science_Texts_Series_20_pdf)>. Acesso em: 12 agosto 2021.

JUVONEN, R. et al. Microbiological spoilage and safety risks in non-beer beverages. [S.l.]: JULKAISIJA – UTGIVARE – PUBLISHER, 2011. Disponível em: <<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/tiedotteet/2011/T2599.pdf>>. Acesso em: 6 setembro 2021.

K.R. DAVEY, S. C. B. K. O. A new risk analysis of Clean-In-Place milk processing. Food Control, 2013. 248 - 253. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Kenneth-Davey/publication/257398922\\_A\\_new\\_risk\\_analysis\\_of\\_Clean-In-Place\\_milk\\_processing/links/5ac5d08aa6fdcc051daf37ba/A-new-risk-analysis-of-Clean-In-Place-milk-processing.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Kenneth-Davey/publication/257398922_A_new_risk_analysis_of_Clean-In-Place_milk_processing/links/5ac5d08aa6fdcc051daf37ba/A-new-risk-analysis-of-Clean-In-Place-milk-processing.pdf)>. Acesso em: 6 agosto 2021.

KOTHE, C. Tratamento d'água. UFRGS, s.d. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/bebidas-carbonatadas/tratamento-dagua>>. Acesso em: 16 agosto 2021.

KUMAR, P. Microorganisms: Characteristics, Importance and Control. Biology Discussion, s.d. Disponível em: <<https://www.biologydiscussion.com/microorganisms/microorganisms-characteristics-importance-and-control/11105>>. Acesso em: 17 setembro 2021.

LEISTNER, L. Food preservation by combined methods. Food Research International, 25, n. 2, 1992. 151-158. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0963996992901582>>. Acesso em: 19 setembro 2021.

LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. International Journal of Food Microbiology, 2000. 181-186. Disponível em: <<http://envismadrasuniv.org/Physiology/pdf/Basic%20aspects%20of%20food%20preservation.pdf>>. Acesso em: 19 setembro 2021.

MACE, K. D. Microorganisms and Sanitation in the Carbonated Beverage Industry. Journal of the Arkansas Academy of Science, 7, 1955. Disponível em: <<https://scholarworks.uark.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1193&context=jaas>>. Acesso em: 5 junho 2021.

MAGAR, S. T. Microbial spoilage of Beverages and their preservation. Microbe Notes, 20 junho 2021. Disponível em: <<https://microbenotes.com/beverages-spoilage-preservation/>>. Acesso em: 27 agosto 2021.

MAIAN. Benzoato de Sódio. Maian Food, 09 maio 2018. Disponível em: <<https://maian.com.br/services/benzoato-sodio-granulado/>>. Acesso em: 18 setembro 2021.

MAIAN FOOD. Sorbato de Potássio. Maian Food, 15 julho 2018. Disponível em: <<https://maian.com.br/services/sorbato-de-potassio/>>. Acesso em: 18 agosto 2021.

MARQUES, F. Desinfecção no Tratamento de Água. Acquasolution, s.d. Disponível em: <<https://acquablog.acquasolution.com/desinfeccao-no-tratamento-de-agua/>>. Acesso em: 7 setembro 2021.

MENGYUAN FAN, D. M. P. A. D. R. H. The Impact of Clean-In-Place Parameters on Rinse Water Effectiveness and Efficiency, 2015. Disponível em: <[https://pdf.sciencedirectassets.com/271146/1-s2.0-S0260877417X0023X/1-s2.0-S0260877417305046/Mengyuan\\_Fan\\_Rinsing\\_Optimization\\_2017.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEKH%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCXVzLWVhc3QtMSJHMEUCIQcP%2FPKPC7mHq4FCei8KIJT7](https://pdf.sciencedirectassets.com/271146/1-s2.0-S0260877417X0023X/1-s2.0-S0260877417305046/Mengyuan_Fan_Rinsing_Optimization_2017.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEKH%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCXVzLWVhc3QtMSJHMEUCIQcP%2FPKPC7mHq4FCei8KIJT7)>. Acesso em: 3 agosto 2021.

MERCK MILPORE. Technical Data Sheet. Merck Milipore. Disponível em: <[https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Plate-Count-agar,MDA\\_CHEM-105463#anchor\\_DS](https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Plate-Count-agar,MDA_CHEM-105463#anchor_DS)>. Acesso em: 12 junho 2021.

MERCK. Potato Dextrose Agar. Merck. Disponível em: <[https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sial/70139?gclid=CjwKCAjwy7CKBhBMEiwaA0Eb7arefStOKj5IPJNAHdh2GTIWx-uSvAP-WeN2h2cChsjpruELzYiokXRoChZsQAvD\\_BwE#](https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sial/70139?gclid=CjwKCAjwy7CKBhBMEiwaA0Eb7arefStOKj5IPJNAHdh2GTIWx-uSvAP-WeN2h2cChsjpruELzYiokXRoChZsQAvD_BwE#)>. Acesso em: 12 junho 2021.

MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. Cadernos de Saúde Pública - Scielo Brasil, março 1994. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csp/a/pQy9fHxmbtW7Jx7BkxNjttp/?lang=pt>>. Acesso em: 7 setembro 2021.

MOO-YOUNG, Y. C. A. M. Clean-in-place systems for industrial bioreactors: design, validation and operation. Journal of Industrial Microbiology, 1994. 201 - 207. Disponível



em: <<https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/47323593/CIP-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1632277331&Signature=IUSG~kGk8JdLadKDp8GJDEGqfpqNquvleCPFxU0bUJqy31ffyGBVlx48Qbhuy~QUBM7IRoInScmEuH2QaucJcnbopZ4py9OZrAm0PMVwOcgCEkpBkzW~GEsmcs2E0qCPz0sE-Jb5t4MV6RLQ8Hxl3Y1>>. Acesso em: 6 agosto 2021.

MORAIS, V. A. D. E. A. Avaliação microbiológica de amostras de refrigerantes comercializadas no estado de Minas Gerais. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 62, abril 2003. Acesso em: 12 setembro 2021.

NEOGEN. Folha de Especificação técnica M-Green Yeast and Fungi Broth (NCM0134). Neogen. Disponível em: <<https://www.neogen.com/pt/categories/microbiology/m-green-yeast-and-fungi-broth/>>. Acesso em: 14 setembro 2021.

OXOID. Membrane Endo Agar Les. Thermo Fischer Scientific. Disponível em: <[http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=MM0551&cat=&sec=1&c=UK&lang=EN](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=MM0551&cat=&sec=1&c=UK&lang=EN)>. Acesso em: 15 junho 2021.

PORTAL TRATAMENTO DE ÁGUA. Métodos de desinfecção: Quais são os mais eficientes? Portal Tratamento de Água, 23 janeiro 2017. Disponível em: <<https://tratamentodeagua.com.br/metodos-de-desinfeccao-quais-sao-os-mais-eficientes/>>. Acesso em: 7 setembro 2021.

QUALFOOD. Coliformes/Coliformes fecais. Qualfood, s.d. Disponível em: <<https://www.qualfood.com/seguranca-alimentar/avaliacao-de-riscos-microbiologicos/coliformes-coliformes-fecais>>. Acesso em: 11 setembro 2021.

SARTORIUS. Microbiological Testing of Foods, Beverages, Drinking Water and Pharmaceuticals. Sartorius. Disponível em: <<https://www.sartorius.com/shop/medias/?context=bWFzdGVyfGRvY3VtZW50c3w2ODU0NTA2fGFwcGxpY2F0aW9uL3BkZnxkb2N1bWVudHMvaDA4L2gzNS85MDI3Mzc5NT>>

YwNDc4LnBkZnxhNGFkMTE3YzVIYzViOWRiNmQwNTRjZTUzOGRmNjlzN2M3ZmZiOGYyYjJiODMwOWIzZmYyNmYyZWE3ZDRIN2Vh>. Acesso em: 12 junho 2021.

SHANKAR, V. et al. A review on microbial degradation of drinks and infectious diseases: A perspective of human well-being and capabilities. Journal of King Saud University - Science, v. 33, n. 2, março 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364720304067>>. Acesso em: 7 setembro 2021.

WAREING, P. & D. R. Microbiology of Soft Drinks and Fruit Juices. In: \_\_\_\_\_ Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices. 2. ed. [S.l.]: [s.n.], 2007. p. 279-299. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/230483232\\_Microbiology\\_of\\_Soft\\_Drinks\\_and\\_Fruit\\_Juices](https://www.researchgate.net/publication/230483232_Microbiology_of_Soft_Drinks_and_Fruit_Juices)>. Acesso em: 3 setembro 2021.

## ANEXO

Tabela 4 - Correlação entre densidade e grau brix

°Brix	Densidade a 20°C	°Brix	Densidade a 20°C
1	1.00389	38	1.16833
2	1.00779	39	1.17341
3	1.01172	40	1.17853
4	1.01567	41	1.18368
5	1.01965	42	1.18887
6	1.02366	43	1.19410
7	1.02770	44	1.19936
8	1.03176	45	1.20467
9	1.03586	46	1.21001
10	1.03998	47	1.21538
11	1.04413	48	1.22080
12	1.04831	49	1.22625
13	1.05252	50	1.23174
14	1.05677	51	1.23727
15	1.06104	52	1.24284
16	1.06534	53	1.24844
17	1.06968	54	1.25408
18	1.07404	55	1.25976
19	1.07844	56	1.26548
20	1.08287	57	1.27123
21	1.08733	58	1.27703
22	1.09183	59	1.28286
23	1.09636	60	1.28873
24	1.10092	61	1.29464
25	1.10551	62	1.30059
26	1.11014	63	1.30657
27	1.11480	64	1.31260
28	1.11949	65	1.31866
29	1.12422	66	1.32476
30	1.12898	67	1.33090
31	1.13378	68	1.33708
32	1.13861	69	1.34330
33	1.14347	70	1.34956
34	1.14837	71	1.35585
35	1.15331	72	1.36218
36	1.15828	73	1.36856
37	1.16329	74	1.37496