



**Verificação e Validação Teórica das  
Medidas de Controle para Perigos  
Biológicos do Sistema HACCP para  
Pães Brancos – Estudo de Caso**

**João Vitor Orestes Carvalho Pereira**

Projeto Final de Curso  
Engenharia de Alimentos

Orientadores

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

Prof. Pedro Esteves Duarte Augusto, D.Sc.

Outubro de 2012

# VERIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO TEÓRICA DAS MEDIDAS DE CONTROLE PARA PERIGOS BIOLÓGICOS DO SISTEMA HACCP PARA PÃES BRANCOS – ESTUDO DE CASO

*João Vitor Orestes Carvalho Pereira*

Projeto Final de Curso em Engenharia de Alimentos submetido ao corpo docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro de Alimentos.

Aprovado por:

---

Lauro Luís Martins Medeiros de Melo

---

Luciana Maria Ramires Éesper

---

Éricson Brito de Souza

Orientado por:

---

Profª. Karen Signori Pereira, D.Sc.

---

Prof. Pedro Esteves Duarte Augusto , D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Outubro de 2012

Pereira, João Vitor Orestes Carvalho.  
Verificação e Validação Teórica das Medidas de Controle para  
Perigos Biológicos do Sistema HACCP para Pães Brancos – Estudo  
de Caso/ João Vitor Orestes Carvalho. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ,  
2012.

xv, 132p.; il.  
(Projeto Final de Curso) – Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
Escola de Química, 2012.  
Orientador(es): Karen Signori Pereira e Pedro Esteves Duarte  
Augusto

1. *Bacillus cereus*. 2. Intoxicação Alimentar. 3. Esporos Bacterianos.  
4. Projeto Final de Curso. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Karen Signori  
Pereira e Pedro Esteves Duarte Augusto I. Título

À minha família: João Ricardo, Denise, Deborah e Marina

A todos os mestres da Escola de Química

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Professora Karen Signori, minha Orientadora, pelo apoio, dedicação, e também pela paciência.

Ao professor Pedro Augusto, que mesmo a distância me deu todo o suporte para poder concluir o trabalho.

À minha família e amigos por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando.

Aos membros da banca por se interessarem e pela disponibilidade.

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

**VERIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO TEÓRICA DAS MEDIDAS DE  
CONTROLE PARA PERIGOS BIOLÓGICOS DO SISTEMA  
HACCP DE UMA LINHA DE PRODUÇÃO DE PÃES  
BRANCOS – ESTUDO DE CASO**

**João Vitor Orestes Carvalho Pereira**

**Outubro, 2012**

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

Prof. Pedro Esteves Duarte Augusto, D.Sc

## Resumo

Uma das maiores preocupações da Indústria de Alimentos é a segurança de alimentos, que está relacionada à presença de perigos veiculados pelos alimentos no momento do consumo. Como a introdução de perigos pode ocorrer em qualquer estágio da cadeia produtiva de alimentos, é essencial o controle adequado ao longo desta cadeia. Produtos de panificação de alta umidade têm sido implicados em diversos surtos de Doença Transmitida por Alimentos, pois nestes produtos quase todas as bactérias, leveduras e fungos filamentosos são capazes de crescer. Este trabalho tem como objetivo realizar a verificação e validação das medidas de controle do sistema HACCP aplicado em uma linha de pão branco de uma planta de panificação industrial. O estudo de caso realizado na Empresa A, uma empresa de panificação de grande porte, avaliou dados do processo de fabricação do produto, do programa de pré-requisitos e do Sistema HACCP da empresa, comparando-os com dados de tecnologia de panificação, normas de segurança de alimentos como a ISO 22000:2006, diretrizes do *Codex Alimentarius* e outras organizações ligadas à segurança de alimentos. Para alcançar os objetivos do trabalho foi necessário primeiramente realizar a revisão da análise de perigos, para assegurar que todos os perigos prováveis seriam identificados e avaliados. Na revisão da análise de perigos foram identificados perigos biológicos que não haviam sido avaliados na Empresa A. Os perigos biológicos identificados foram espécies de *Bacillus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis*, que são frequentemente isoladas em matérias-primas de panificação, assim como, em pães deteriorados. Com base na avaliação dos perigos foi realizada a avaliação das medidas de controle adotadas na empresa. Só então, foi possível proceder para a parte teórica da validação das medidas de controle e suas combinações. As principais medidas de controle do processo para manter os perigos biológicos em níveis aceitáveis são o forneamento, que é a etapa de tratamento térmico a que o pão é submetido, assim como a utilização de conservadores. Uma das características dos *Bacillus* spp. que justifica sua ocorrência no produto final é a sua termorresistência. Portanto, o conhecimento e a avaliação da curva de forneamento do produto, com métodos baseados na cinética de inativação microbiológica, foram fundamentais para garantir que o tratamento térmico na etapa de forneamento é satisfatório. Na verificação e validação das medidas de controle, da linha de produção de pães brancos, ficou demonstrado que o tratamento térmico bem dimensionado, em conjunto com a utilização de conservadores e características do produto final especificadas, como pH e aw, são essenciais para a inocuidade do alimento. Para cumprir a parte prática da metodologia de validação, foi proposto um programa de análises microbiológicas pareadas em matérias-primas e produtos finais.

## Abstract

Food safety is a major concern of the food industry and it is related to the presence of hazards in the food at the time of consumption. Since the introduction of hazards can occur at any stage of the food chain, adequate control is essential along this chain. Bakery products with high moisture have been implicated in several outbreaks of food-borne illness, in these products almost all bacteria, yeast and filamentous fungi are able to grow. This study aims to perform the verification and validation of HACCP system control measures implemented in a line of white bread from a industrial bakery plant. The case study conducted in Company A, a large scale bakery, evaluated data from the manufacturing process of the product, prerequisites programs and HACCP, comparing them with data from baking technology manuals, food safety standards such as ISO 22000:2006, guidelines of Codex Alimentarius and other organizations related to food safety. To achieve the objectives of this work it was first necessary to conduct a review of hazard analysis to ensure that all hazards would be identified and evaluated. In reviewing the hazard analysis, biological hazards that had not been evaluated in the Company A, were identified. The biological hazards identified were Bacillus species, *B. subtilis* and *B. licheniformis*, which are often isolated in bakery raw materials, as well as in deteriorated breads. Based on the hazard assessment, it was conducted the evaluation of the control measures adopted in the company. Then it could be extended to the theoretical validation of control measures and their combinations. The main control measures for maintaining biological hazards at acceptable levels are baking, the step of heat treatment that the bread is subjected, and the use of conservative. A characteristic of Bacillus spp. which justifies its occurrence in the final product is its heat resistance. Therefore, knowledge and assessment of the product baking curve with methods based on the kinetics of microbial inactivation were essential to ensure that the heat treatment step was satisfactory. In the verification and validation of the white bread production line control measures, it was demonstrated that the well designed thermal treatment, along with the use of conservative and the specified final product characteristics as aw and pH, ensures the food safety. To fulfill the practical part of the validation methodology, it was suggested a paired microbiological tests program for raw materials and final products



## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> Proteínas presentes na farinha de trigo e estrutura das gliadinas e gluteninas, responsáveis pela formação do glúten.....	8
<b>FIGURA 2</b> Estrutura da amilose e da amilopectina presentes no amido da farinha de trigo.....	9
<b>FIGURA 3</b> Corte transversal de um pão de forma apresentando a transformação da massa ao longo do forneamento.....	17
<b>FIGURA 4</b> Fluxograma de Processo.....	31
<b>FIGURA 5</b> Pães de forma com sinais de deterioração por <i>rope</i> .....	44
<b>FIGURA 6</b> Curva de forneamento no centro do produto.....	90
<b>FIGURA 7</b> Perfil de temperatura durante forneamento a 200°C.....	91
<b>FIGURA 8</b> Perfil de temperatura durante forneamento a 260°C.....	91
<b>FIGURA 9</b> Perfil de temperatura experimental e simulado, no centro do produto, com e sem mecanismo de evaporação e condensação durante o processo de forneamento.....	92
<b>FIGURA 10</b> Perfil de temperatura simulado e experimental no centro do produto.....	93

<b>FIGURA 11</b> Perfil de temperatura simulado e experimental na lateral do produto.....	93
<b>FIGURA 12</b> Perfil de temperatura simulado e experimental no topo do produto.....	94
<b>FIGURA 13</b> Perfil de temperatura do miolo durante o forneamento.....	94
<b>FIGURA 14</b> Perfil de temperatura de forneamento a 220°C sob convecção natural.....	95
<b>FIGURA 15</b> Perfil de temperatura de forneamento a 220°C sob convecção forçada.....	96
<b>FIGURA 16</b> Curva de forneamento no centro do produto, com final a 90°C.....	106
<b>FIGURA 17</b> Efeito da concentração de ácido acético no crescimento de <i>B. subtilis</i> e <i>B.licheniformis</i> .....	112
<b>FIGURA 18</b> Efeito da concentração de ácido propiônico no crescimento de <i>B. subtilis</i> e <i>B.licheniformis</i> .....	112
<b>FIGURA 19</b> Efeito da concentração de ácido láctico no crescimento de <i>B. subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> .....	113
<b>FIGURA 20</b> Curva de dissociação do ácido propiônico.....	115

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> Composição centesimal aproximada da farinha de trigo.....	7
<b>TABELA 2</b> Pontuação da Auditoria de pré-requisitos da Empresa A.....	25
<b>TABELA 3</b> Pontuação da Auditoria do Sistema HACCP e Pré-Requisitos da Empresa A.....	38
<b>TABELA 4</b> <i>Bacillus</i> spp. isolados de pão, matérias-primas e grãos de trigo.	47
<b>TABELA 5</b> Parâmetros cinéticos para as linhagens de <i>B. cereus</i> INRA AVZ421 e INRA AVTZ415.....	97
<b>TABELA 6</b> Parâmetros do modelo para a linhagem de <i>B. cereus</i> ADQP 407.....	100
<b>TABELA 7</b> Parâmetros cinéticos para tratamento não-isotérmico.....	102
<b>TABELA 8</b> Parâmetros do modelo independentes da matriz alimentícia....	104
<b>TABELA 9</b> Parâmetros do modelo dependentes da matriz alimentícia.....	104
<b>TABELA 10</b> Parâmetros do modelo para os pHs 4, 5, 6 e 7.....	105
<b>TABELA 11</b> Efeito dos ácidos láctico, acético e propiônico no pH do pão, crescimento e deterioração <i>rope</i> por <i>B.</i>	

*subtilis*.....11 **LISTA DE ABREVIATURAS  
E SIGLAS**

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas  
AIB *American Institute of Baking*  
ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
APPCC Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle  
BSI *British Standard Institution*  
BPF Boas Práticas de Fabricação  
EFSA *European Food Safety Authority*  
FAO *Food and Agriculture Organization*  
FDA *Food and Drugs Administration*  
FSIS *Food Safety and Inspection Service*  
HACCP *Harzard Analysis and Critical Control Point*  
ISO *International Organization for Standartization*  
MAA Ministério da Agricultura e Abastecimento  
NACMCF *Nacional Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods*  
NBR Norma Brasileira Regulamentadora  
OMS Organização Mundial da Saúde  
PCC Pontos Críticos de Controle  
PPHO Procedimentos Padrões de Higiene Operacional  
PPRO Programa de Pré-Requisito Operacional  
SAC Serviço de Atendimento ao Consumidor  
USDA *United States Departament of Agriculture*  
WHO *World Health Organization*

# SUMÁRIO

<b>1.1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO</b> .....	<b>3</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 INGREDIENTES</b> .....	<b>6</b>
2.1.1 Farinha de Trigo.....	6
2.1.2 Fermento Biológico .....	9
2.1.3 Gordura.....	11
2.1.4 Açúcar .....	11
2.1.5 Sal.....	12
2.1.6 Água.....	12
<b>2.2 PROCESSO</b> .....	<b>13</b>
2.2.1 Amassamento.....	13
2.2.2 Divisão e Modelagem .....	14
2.2.3 Fermentação .....	15
2.2.4 Forneamento .....	16
2.2.5 Resfriamento.....	20
2.2.6 Embalagem .....	21
<b>3 SISTEMA HACCP NA EMPRESA</b> .....	<b>22</b>
<b>3.1 PROGRAMAS DE PRÉ-REQUISITOS</b> .....	<b>22</b>
3.1.1 Resultado de Auditoria de Pré-Requisitos .....	24
<b>3.2 O SISTEMA <i>HAZARD ANALYSIS AND CRITICAL CONTROL POINTS</i></b> <b>(HACCP)</b> .....	<b>26</b>
3.2.1 Os Princípios do HACCP .....	27
3.2.2 Plano HACCP .....	27
3.2.3 Equipe HACCP .....	28
3.2.4 Descrição do produto .....	29
3.2.5 Uso previsto.....	29
3.2.6 Fluxograma .....	30
3.2.7 Análise de Perigos.....	32
3.2.8 Pontos Críticos de Controle e Programa de Pré-requisitos Operacionais .....	<b>33</b>
3.2.9 Limites críticos para os PCCs .....	34
3.2.10 Monitoramento dos PCCs .....	35
3.2.11 Controle de Não Conformidades .....	35
3.2.12 Procedimentos de Verificação .....	36
3.2.13 Documentação e Manutenção de Registros .....	37
3.1.14 Resultado de Auditoria do Sistema HACCP da Empresa.....	37
<b>4 REVISÃO DA ANÁLISE DE PERIGOS EM PÃES DE FORMA</b> .....	<b>39</b>

<b>4.1 MATÉRIAS-PRIMAS .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1.1 Farinha de Trigo.....</b>	<b>41</b>
4.1.1.1 Identificação dos perigos .....	41
4.1.1.2 Avaliação dos perigos.....	42
4.1.1.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	48
<b>4.1.2 Água.....</b>	<b>49</b>
4.1.2.1 Identificação dos perigos .....	49
4.1.2.2 Avaliação dos perigos.....	50
4.1.2.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	50
<b>4.1.3 Fermento em Creme.....</b>	<b>51</b>
4.1.3.1 Identificação dos perigos .....	51
4.1.3.2 Avaliação dos perigos.....	52
4.1.3.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	53
<b>4.2 ETAPAS DO PROCESSO.....</b>	<b>54</b>
<b>4.2.1 Recepção, estocagem e armazenagem de Matéria-Prima.....</b>	<b>54</b>
4.2.1.1 Identificação dos perigos .....	54
4.2.1.2 Avaliação dos perigos.....	54
4.2.1.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	55
<b>4.2.2 Pesagem de Ingredientes.....</b>	<b>55</b>
4.2.2.1 Identificação dos perigos .....	55
4.2.2.2 Avaliação dos perigos.....	56
4.2.2.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	56
<b>4.2.3 Amassamento .....</b>	<b>57</b>
4.2.3.1 Identificação dos perigos .....	57
4.2.3.2 Avaliação dos perigos.....	57
4.2.3.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	58
<b>4.2.4 Divisão e Modelagem .....</b>	<b>59</b>
4.2.4.1 Identificação dos perigos .....	59
4.2.4.2 Avaliação dos perigos.....	59
4.2.4.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	59
<b>4.2.5 Enformação e Colocação de Tampa .....</b>	<b>60</b>
4.2.5.1 Identificação dos perigos .....	60
4.2.5.2 Avaliação dos perigos.....	60
4.2.5.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	60
<b>4.2.6 Fermentação .....</b>	<b>61</b>
4.2.6.1 Identificação dos perigos .....	61
4.2.6.2 Avaliação dos perigos.....	61
4.2.6.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	61
<b>4.2.7 Forneamento .....</b>	<b>62</b>
4.2.7.1 Identificação dos perigos .....	62
4.2.7.2 Avaliação dos perigos.....	62
4.2.7.3 Avaliação das Medidas de Controle .....	64
<b>4.2.8 Desenformação e Retira de Tampa.....</b>	<b>67</b>
4.2.8.1 Identificação dos perigos .....	67

4.2.8.2	Avaliação dos perigos.....	67
4.2.8.3	Avaliação das Medidas de Controle .....	67
<b>4.2.9</b>	<b>Resfriamento.....</b>	<b>67</b>
4.2.9.1	Identificação dos Perigos.....	67
4.2.9.2	Avaliação dos perigos.....	68
4.2.9.3	Avaliação das Medidas de Controle .....	71
<b>4.2.10</b>	<b>Seleção e Fatiamento.....</b>	<b>71</b>
4.2.10.1	Identificação dos perigos .....	71
4.2.10.2	Avaliação dos perigos.....	72
4.2.10.3	Avaliação das Medidas de Controle .....	72
<b>4.2.11</b>	<b>Embalagem .....</b>	<b>73</b>
4.2.11.1	Identificação dos perigos .....	73
4.2.11.2	Avaliação dos perigos.....	73
4.2.11.3	Avaliação das Medidas de Controle .....	74
<b>4.2.12</b>	<b>Empilhamento e Expedição/Distribuição.....</b>	<b>74</b>
<b>4.3</b>	<b>PRODUTO FINAL .....</b>	<b>75</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Identificação dos Perigos .....</b>	<b>75</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Avaliação dos Perigos.....</b>	<b>75</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Avaliação das Medidas de Controle .....</b>	<b>76</b>
<b>4.4</b>	<b>DESCRIÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PRODUTO ACABADO.....</b>	<b>77</b>
<b>4.5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>5</b>	<b>VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE .....</b>	<b>82</b>
<b>5.1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>82</b>
<b>5.2</b>	<b>DIRETRIZES PARA A VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE DO SISTEMA HACCP .....</b>	<b>83</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Etapas preliminares à validação .....</b>	<b>83</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Processo de Validação.....</b>	<b>85</b>
5.2.2.1	Parte científica ou apoio técnico para o sistema HACCP .....	85
5.2.2.2	Demonstração prática na planta provando que o sistema HACCP pode ser executado como esperado.....	86
<b>5.3</b>	<b>VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE .....</b>	<b>88</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Inativação de Microrganismos-Tratamento Térmico.....</b>	<b>88</b>
5.3.1.1	Perfil de temperatura .....	90
5.3.1.2	Inativação de <i>Bacillus</i> spp. ....	9697
5.3.1.2.1	<i>Bacillus cereus</i> .....	97
5.3.1.2.2	<i>Bacillus subtilis</i> .....	101
5.3.1.2.3	<i>Bacillus licheniformis</i> .....	105
5.3.1.3	Patógenos não formadores de esporos.....	106+07
5.3.1.4	Parâmetros Operacionais Críticos (FSIS) / Critérios de Processo e de Produto (ICMSF).....	107
5.3.1.5	Critério de Performance/Desempenho.....	108
<b>5.3.2</b>	<b>Conservadores .....</b>	<b>109</b>
5.3.2.1	Critério de Produto .....	115

5.3.2.2 Objetivo de segurança de alimento.....	115
<b>5.3.3 Combinação das medidas de controle .....</b>	<b><u>115</u>116</b>
<b>5.3.4 Programa de análises para validação .....</b>	<b>117</b>
<b>5.3.5 Resultado da Validação .....</b>	<b>119</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b><u>119</u>120</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>123</b>



# **Verificação e Validação Teórica das Medidas de Controle para Perigos Biológicos do Sistema HACCP para Pães Brancos – Estudo de Caso**

## **1.1 INTRODUÇÃO**

Vários produtos de panificação têm sido implicados na veiculação de patógenos microbianos como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*. Produtos de panificação de alta umidade têm sido relacionados em diversos surtos de Doença Transmitida por Alimento (DTA), pois nestes produtos quase todas as bactérias, leveduras e fungos filamentosos são capazes de crescer (SMITH, 2004).

Segundo a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001, DTA “é causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico” (BRASIL, 2001).

A segurança de alimentos está relacionada à presença de perigos veiculados pelos alimentos no momento do consumo (pelo consumidor). Como a introdução de perigos pode ocorrer em qualquer estágio da cadeia produtiva de alimentos, é essencial o controle adequado ao longo desta cadeia. Assim, a segurança de alimentos é garantida com esforços combinados de todas as partes participantes da cadeia produtiva de alimentos (ABNT, 2006).

A industrialização foi a maior responsável pela proliferação de diversos sistemas de gestão da qualidade, visando atender a nichos de mercado que buscam melhorias para a satisfação de clientes cada vez mais exigentes. Para tanto, as indústrias se viram pressionadas a se adequarem aos referenciais de qualidade por meio das normas consolidadas, como *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP), em português traduzida como Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), e aquelas estabelecidas pela *International Organization for Standardization* (ISO) (WILKINSON, 2000). Outra mudança causada pelas normatizações foi a exigência de certificação por parte

das indústrias de seus fornecedores, pois a conformidade final de um produto está relacionada com a conformidade em todos os elos da cadeia de suprimentos de uma indústria.

No Brasil, o conceito de Boas Práticas de Fabricação (BPF) foi introduzido em 1970 nas indústrias farmacêuticas, e na área de alimentos, normatizados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da Portaria nº. 368/97, e pelo Ministério da Saúde, Portaria nº. 326/97. Estas Portarias estabelecem os requisitos gerais de higiene e boas práticas de fabricação para alimentos de consumo humano, visando garantir a qualidade sanitária dos alimentos e evitar danos à saúde humana (BRASIL,1997).

Segundo o Guia do *Codex Alimentarius* (CAC, 1969) as Boas Práticas de Fabricação são um pré-requisito para a implantação do sistema HACCP. Constituem a base higiênico-sanitária da implantação deste sistema, sendo indispensáveis no controle de possíveis fontes de contaminação cruzada, assim como, para garantir que o produto atende às especificações de identidade e qualidade.

Devido às novas exigências sanitárias e aos requisitos de qualidade, ditados tanto pelo mercado interno quanto pelos principais mercados internacionais, o governo brasileiro, juntamente com a iniciativa privada, vem desenvolvendo, desde 1991, a implantação em caráter experimental do Sistema de Prevenção e Controle, com base na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (BRASIL, 1998).

O sistema HACCP, que tem fundamentos científicos e caráter sistemático, permite identificar perigos específicos e medidas para seu controle, com a finalidade de garantir a segurança dos alimentos. O HACCP é uma ferramenta que permite avaliar os perigos e estabelecer sistemas de controle focados na prevenção ao invés da análise do produto final (CAC, 1969).

Além de melhorar a segurança dos alimentos, a aplicação do sistema HACCP pode proporcionar outros benefícios importantes, como facilitar a inspeção por parte das autoridades reguladoras e promover o comércio internacional pelo aumento da confiança na segurança dos alimentos. Embora a aplicação do sistema HACCP tratada no documento dirija-se à segurança dos

alimentos, esse conceito pode ser aplicado a outros aspectos de qualidade dos mesmos (CAC, 1969).

O estudo de caso foi realizado na Empresa A, uma empresa de panificação industrial de grande porte, localizada na Região Metropolitana do Rio de Janeiro. A linha de produção de pão de forma branco tem uma capacidade de produção aproximada de 130 mil peças por dia.

## **1.2 OBJETIVOS**

Este trabalho tem como objetivo realizar a verificação e validação das medidas de controle do sistema HACCP aplicado em uma linha de pão branco de uma planta de panificação industrial. Para alcançar estes objetivos é necessário garantir que as entradas da análise de perigos estão atualizadas, que os programas de pré-requisitos operacionais e elementos do plano HACCP estão implementados e são eficazes, e por fim, que os níveis de perigos estão dentro dos níveis identificados como aceitáveis. No trabalho são discutidos os perigos biológicos, que são o principal tema dos guias para a validação do Sistema HACCP.

## **1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO**

No CAPÍTULO 1, buscou-se introduzir o leitor na questão de segurança de alimentos em produtos de panificação e o cenário atual dos sistemas de gestão de segurança dos alimentos.

No CAPÍTULO 2, são abordados os conceitos básicos de tecnologia de panificação, apresentando os principais ingredientes e processos de fabricação de pães de forma brancos.

A descrição do sistema de gestão segurança de alimentos na Empresa A é realizada no CAPÍTULO 3. Esta descrição apresenta os conceitos do

Sistema HACCP e sua aplicação na Empresa A. Neste capítulo o resultado de uma auditoria de terceira parte é apresentado para demonstrar o grau de conformidade do Sistema HACCP implementado na empresa.

No CAPÍTULO 4, é apresentada a revisão de análise de perigos em pães de forma branco. A revisão da análise de perigos compreende as principais matéria-primas utilizadas na Empresa A, todas as etapas do processo de fabricação do pão de forma branco da empresa e o produto final. Para realizar a revisão foram utilizados dados microbiológicos e epidemiológicos da literatura, além dos procedimentos e parâmetros operacionais do processo em que se baseou o estudo de caso.

O resultado da validação teórica das medidas de controle é apresentado no CAPÍTULO 5. A principal ferramenta para se realizar a validação teórica foi a aplicação dos modelos de inativação térmica na etapa de forneamento. Neste capítulo também é apresentado um programa de análises microbiológicas que deve ser realizado para cumprir a validação prática das medidas de controle.

No CAPÍTULO 6, são apresentadas as conclusões do estudo, resumindo os resultados obtidos e orientando como estes podem ser utilizados para complementar a documentação de segurança de alimentos da empresa A e adequar algumas medidas de controle.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

A indústria panificadora tem passado por uma revolução nos últimos 150 anos. Pequenas padarias artesanais, que eram presentes em cada vilarejo, deram lugar à indústria panificadora de alta tecnologia. A produção industrial predominou sobre panificadoras variadas, já que o pão poderia ser produzido de maneira mais eficiente. Produtividade se tornou a chave do sucesso. Tecnologias de panificação diferentes foram desenvolvidas para responder melhor a novas demandas do mercado (DECOCK; CAPPELLE, 2005).

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº263, de 22 de setembro de 2005, da ANVISA, pão “é o produto obtido da farinha de trigo e ou outras farinhas, adicionados de líquido, resultantes do processo de fermentação ou não e cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos” (BRASIL, 2005).

Novos materiais e ingredientes foram introduzidos na composição do pão, enquanto pesquisas geravam um constante e impressionante progresso na produção de pão (BALAJI, 1991apud MONDAL; DATTA, 2008).

Água e farinha são os ingredientes mais significantes em uma receita de pão, por afetarem a textura e o miolo. Nas formulações de pães, as quantidades dos demais ingredientes são calculadas sobre a farinha de trigo, que corresponde à base de 100% (ZANONI; PERI, 1993).

A utilização de aproximadamente 50 % de água resulta em um pão leve com textura fina. Com a farinha representando 100% os outros ingredientes seguem a medida com aproximadamente 2 % de fermento, 4% de açúcar, 2% de sal e 3 % de gordura (GIANNOU; KESSOGLOU; TZIA, 2003).

## **2.1 INGREDIENTES**

### **2.1.1 Farinha de Trigo**

Algumas características de pães como elasticidade e viscosidade da massa, dependem diretamente da quantidade dos dois tipos de proteínas (solúveis e insolúveis em água) existentes na farinha utilizada (COULTATE, 2004). As características da farinha dependem, conseqüentemente, do tipo de grão/cereal utilizado para sua fabricação. A composição da farinha de trigo varia de acordo com a variedade do trigo e de seu grau de extração (MATUDA, 2008). Para se avaliar a qualidade da farinha de trigo é observada a umidade, a quantidade e qualidade das proteínas, o amido, a quantidade de cinzas, além de outras propriedades da massa resultante do preparo da farinha de trigo.

Os grãos dos cereais possuem muitas características em comum. Sua estrutura é dividida da seguinte forma: o embrião ou germe da nova planta, o endosperma (aproximadamente 80% o grão), reserva de nutriente para a planta, e as camadas protetoras da película da semente, ou mais conhecida como o farelo (COULTATE, 2004).

O pH da farinha de trigo está na faixa de 5,7 a 6,1(ZANONI; PERI, 1993).

A composição centesimal da farinha de trigo é apresentada a seguir na Tabela 1.

**TABELA 1:** Composição centesimal aproximada da farinha de trigo.

<b>Componentes (%)</b>	<b>Farinha de Trigo 72% de Extração</b>	<b>Farinha de Trigo 80% de Extração</b>
Umidade	13,0 a 15,0	13,0 a 15,0
Amido	65 a 70	64 a 69
Proteína (N x 5,7)	8 a 13	9 a 14
Celulose (fibra)	traços a 0,2	0,2 a 0,35
Lipídeos (gordura)	0,8 a 1,2	1,0 a 1,6
Açúcar	1,5 a 2,0	1,5 a 2,0
Cinzas	0,3 a 0,6	0,6 a 0,8

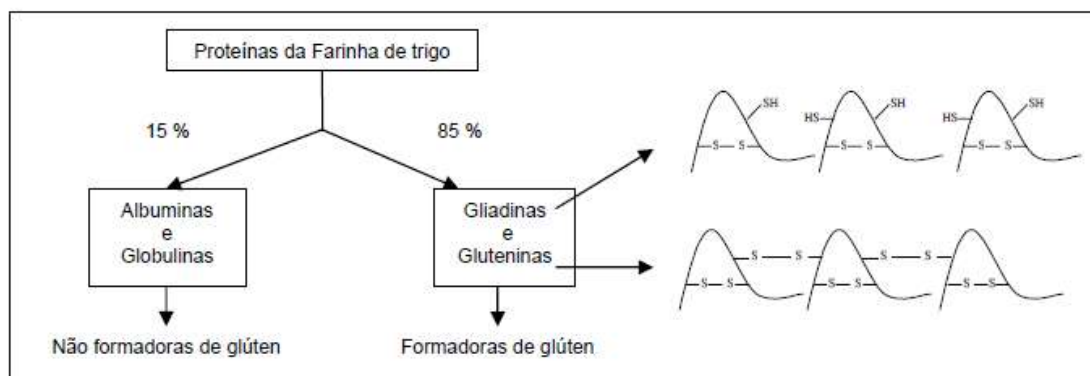
**FONTE:** ALMEIDA, 2006 – Modificado.

As proteínas presentes na farinha de trigo formam o glúten ao se agregar água à farinha, e ao se iniciar um processo de amassamento. O resultado é uma rede protéica, que tem características viscoelásticas. O glúten dá a viscoelasticidade à massa necessária para a produção de pão, ajudando a reter o gás produzido pela levedura, fazendo com que o pão cresça (CAUVAIN; YOUNG, 2007).

As proteínas do glúten são divididas em solúveis e insolúveis em álcool, estas últimas conferem propriedades de panificação, sendo a glutenina, com pontes dissulfeto intermoleculares e intramoleculares, responsável pela característica de coesão e elasticidade, e a gliadina, com pontes dissulfeto intramoleculares, pela extensibilidade da massa (PENFIELD; CAMPBELL, 1990 apud MATUDA, 2008).

A Figura 1 apresenta um esquema sobre as proteínas presentes na farinha de trigo e sua relação com a formação de glúten.

**FIGURA 1:** Proteínas presentes na farinha de trigo e estrutura das gliadinas e gluteninas, responsáveis pela formação do glúten.



**FONTE:** MATUDA, 2008

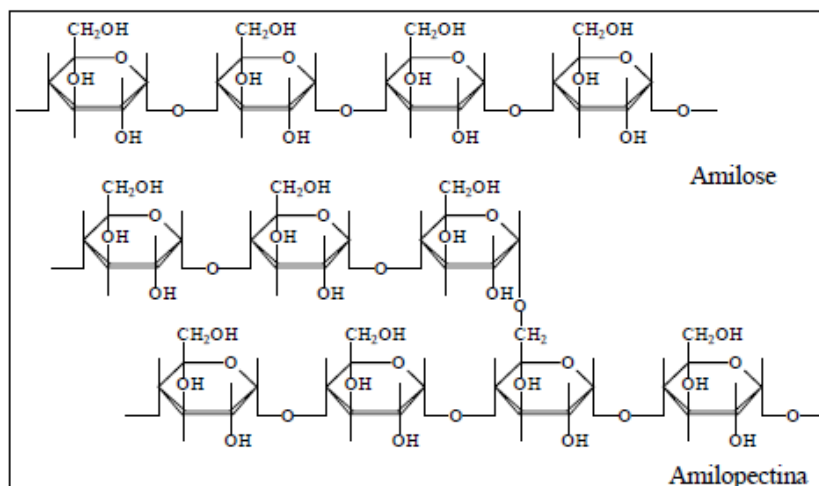
A portaria nº 132 de 1999, do Ministério da Saúde (MS), estabelece como teor máximo de cinzas 1,5 % base seca, para farinha de *Triticum durum*, quanto menor for o teor de matéria mineral, melhor é a qualidade tecnológica da extração. Teor de proteína mínimo de 11% e umidade máxima 15 %, normalmente assegura a conservação da qualidade da farinha durante o período de estocagem comercial (BRASIL, 1999).

O principal carboidrato da farinha de trigo é o amido, que se apresenta em forma de grânulos. O amido de trigo, como a maioria dos amidos, é constituído de dois polímeros de glicose arranjados em duas conformações distintas, conhecidos como amilose e amilopectina. A amilose, que constitui 23% do peso do amido, é uma cadeia linear de glicose, sem ramificações, ligada por ligações glicosídicas  $\alpha$ 1:4. Já a amilopectina é ramificada. A amilopectina possui suas cadeias principais com ligações  $\alpha$ 1:4, enquanto os pontos de ramificação possuem ligações do tipo  $\alpha$ 1:3 e  $\alpha$ 1:6 (STAUFFER, 1998).

A Figura 2 apresenta as estruturas das ligações químicas das moléculas de amilose e amilopectina.



**FIGURA 2:** Estrutura da amilose e da amilopectina presentes no amido da farinha de trigo.



**FONTE:** STAUFFER, 1998 – Modificado.

Nem todos os grânulos de amido da farinha de trigo são íntegros, existem diversos desestruturados. Isto ocorre durante o processo de produção da farinha onde alguns grânulos são rompidos, sendo então chamados de amido danificado. O grânulo de amido danificado ou simplesmente amido danificado será uma fonte de alimento para o fermento durante a fermentação da massa. A farinha deve possuir também atividade enzimática, mais conhecida como atividade diastática ou atividade amilolítica. Esta atividade diz respeito à atuação das amilases,  $\alpha$ -amilase e da  $\beta$ -amilase na farinha. Amilase é uma enzima que age especificamente sobre o amido (ALMEIDA, 2006).

### 2.1.2 Fermento Biológico

Fermento biológico é o produto obtido de culturas puras de leveduras (*Saccharomyces Cerevisiae*) por procedimento tecnológico adequado e empregado para dar sabor próprio e aumentar o volume e a porosidade dos produtos forneados. Os fermentos biológicos destinam-se a ser empregados no preparo de pães e certos tipos de biscoitos e produtos de confeitaria (BRASIL,

1977).

A levedura *Saccharomyces Cerevisiae* é utilizada como fermento em panificação para metabolizar açúcares, sob condições anaeróbias, produzindo gás carbônico necessário para o crescimento da massa e para obtenção de compostos aromáticos característicos de produto de panificação fermentado. A quantidade adicionada à massa depende do tipo de pão. Para massas salgadas varia entre 1 e 4% em relação à quantidade de farinha (CASTRO, 2006 apud MATUDA, 2008).

No processo de crescimento do pão, a levedura é misturada à massa úmida, na presença de uma pequena quantidade de açúcar. Este açúcar é convertido a gás pelo fermento, fazendo o pão crescer. O trabalho do fermento é tão fundamental no processo de panificação que ainda não há outro método para substituí-lo (O'BRIEN, 2004).

O processo comercial de produção de leveduras inclui algumas etapas de manufatura começando com um pequeno inóculo puro de *S. cerevisiae* que cresce em um número de fermentações de tamanho crescente até que o estágio de fermentação comercial é alcançado. As principais matérias-primas utilizadas são a cultura de *S. cerevisiae* pura e o melaço. Ao final do processo, as células de leveduras são separadas do licor de fermentação, por centrifugação e lavagem, resultando no creme concentrado de leveduras. Como o creme não passou por filtração, mistura e extrusão as leveduras sofrem menos dano resultando em maior qualidade e redução da contaminação microbiológica. O creme tem 80 % de umidade, é armazenado em tanques resfriados entre 2 e 5 °C e pode ser entregue aos clientes nesta forma (O'BRIEN, 2004).

Outras formas nas quais são encontradas as leveduras são: o fermento fresco, seco ativo e seco instantâneo. O fermento fresco possui 67-70% de umidade. É obtido através do deságue do creme que é prensado ou filtrado a vácuo. A vida útil é de 45 dias sob refrigeração, entre 2 e 7°C. O fermento seco ativo é produzido pela secagem do fermento fresco, onde se reduz sua umidade até 7-9%. Isto permite a sua estocagem à temperatura ambiente por seis meses sem perda de poder fermentativo. Este tipo de fermento para ser utilizado requer prévia reidratação em água morna. A produção do fermento seco instantâneo é a que requer mais tecnologia. Fermento seco instantâneo é

produzido por fermentação e usualmente secado por ar quente a 94-96% de matéria seca. O processo de secagem com leito fluidizado multi-estágio é um processo comercial efetivo para produção do fermento seco instantâneo. Este produto possui a vantagem de ter vida útil de dois anos. Não necessita ser reidratado sendo diretamente aplicado à massa (AKBARI et. al) .

### **2.1.3 Gordura**

A adição de gordura vegetal aumenta a extensibilidade da massa, aumenta a maquinabilidade, auxilia na retenção dos gases produzidos durante a fermentação, aumenta o volume específico e reduz a taxa de endurecimento dos pães. Óleos e gorduras são geralmente usados em concentrações baixas no pão. As gorduras na faixa de 1-5% em base farinha aumentam o volume do pão pela lubrificação da massa, e também melhoram a qualidade de conservação, deixando o pão macio por mais tempo. No entanto o poder fermentativo da levedura é afetado, sendo reduzido com o aumento da concentração de gordura na massa (ALMEIDA, 2006).

### **2.1.4 Açúcar**

O açúcar comum, sacarose, é adicionado com a função de substrato inicial para a fermentação e é responsável pela reação de caramelização e juntamente com aminoácidos pela reação de Maillard, conferindo cor e sabor característico no final do forneamento.

Os açúcares são comumente utilizados nos produtos de confeitaria fina, numa proporção de 2-20% base farinha. No entanto é comum na produção de massas salgadas adicionarem-se de 0,5% a 4%, base farinha, de açúcar para a massa crescer mais rapidamente e para corar a crosta. Contudo se a concentração de açúcar aumentar o efeito será de retardo na fermentação, que

será verificado a partir de 5% base farinha de açúcar. O retardo da fermentação se dá em função da pressão osmótica (ALMEIDA, 2006).

### **2.1.5 Sal**

O sal, cloreto de sódio, interage na formação da rede de glúten, fortalecendo a rede, e controla a fermentação devido ao efeito osmótico na célula de levedura, porém a sua função mais importante é a de fornecer sabor (MATUDA, 2008).

O sal aumenta a estabilidade da massa contribuindo com a formação do glúten, pelo fato da sua força iônica favorecer a coesão da rede protéica. Dentro dos limites ideais de concentração, o sal pode melhorar a força da farinha, conseqüentemente alterar a reologia da massa tornando-a mais “dura”, favorecendo a retenção de gás (CAUVAIN; YOUNG, 2007).

O sal ainda ajuda a ressaltar o aroma e o gosto dos demais ingredientes das formulações. A velocidade de fermentação também pode ser controlada pelo sal, quanto maior sua concentração, mais lenta a fermentação. Em geral se utilizam de 1,5 a 2% b.f. (base farinha) de sal para produção de pães (ALMEIDA, 2006).

### **2.1.6 Água**

Possui a função de hidratar a farinha, inchando os grãos de amido, assegurando a união das proteínas que darão origem à rede de glúten na qual se insere o amido. Ao mesmo tempo promove a formação de um meio úmido favorável às atividades fermentativas e enzimáticas (CALVEL, 1987 apud MATUDA, 2008).

A quantidade de água absorvida depende da qualidade da farinha de trigo e é determinada pelo método de absorção, através do farinograma. Uma farinha de boa qualidade garante boa absorção de água e retenção da umidade

durante o processamento da massa. Melhores resultados de volume específico do pão são obtidos quando o nível de água absorvido é o maior possível antes da massa se tornar pegajosa, porém o volume específico não depende apenas da absorção de água, mas também do tempo de batimento. A parte não absorvida pelos componentes da farinha permanece como água livre (LAAKSONEN; ROSS, 2000).

## **2.2 PROCESSO**

Na empresa em que se realizou o estudo de caso, o processo utilizado é o Processo Direto, ou Massa Sem Tempo. Neste processo a mistura dos ingredientes é realizada em uma só etapa, parte do amassamento é realizado em velocidade lenta para homogeneização, e parte em velocidade rápida para desenvolvimento completo da massa. De acordo com a escolha do produtor e equipamentos disponíveis, ingredientes da massa podem variar. A massa pronta é então dividida, boleada, repousada ou não, modelada, repousada e forneada (GIANNOU; KESSOGLOU; TZIA, 2003).

### **2.2.1 Amassamento**

Após a pesagem dos ingredientes, os mesmos são adicionados à masseira.

A mistura consiste em homogeneizar os ingredientes, dispersar, solubilizar e hidratar uniformemente os componentes da massa. O trabalho mecânico contribui para o desenvolvimento da estrutura do glúten e incorpora bolhas de ar. Estas bolhas, também chamadas de alvéolos, encontram-se achatadas após o amassamento devido ao peso da massa (DOBRSZCZYK, 2004). Assim, uma mistura heterogênea e espessa de água e farinha é

convertida em uma massa viscoelástica homogênea de aspecto seco. No caso do processo direto são utilizadas duas velocidades de mistura: a primeira para a homogeneização dos ingredientes e absorção da água e a segunda para o trabalho mecânico da massa (STAUFFER, 1998).

A temperatura da massa também deve ser rigorosamente acompanhada, pois o fermento e suas reações bioquímicas são sensíveis à temperatura, assim como a consistência da massa. A temperatura de saída da massa pode estar entre 25 e 32°C, dependerá da formulação, dos equipamentos, e do processo. É recomendado para massa produzida pelo processo direto uma temperatura entre 27 e 30°C (CAUVAIN; YOUNG, 2007). Na empresa é utilizado o método massa sem tempo, com masseira rápida; a fim de inibir a fermentação a temperatura final deve ser menor que 27°C.

A temperatura da massa após a etapa de mistura é determinada considerando o calor de fricção, o calor específico de cada ingrediente e o de hidratação. A temperatura da água deve ser controlada, assim como a camisa de resfriamento da masseira (ALMEIDA, 2006).

### **2.2.2 Divisão e Modelagem**

Após a mistura, a massa é dividida em pedaços com peso definido e modelada para se obter o formato desejado. A divisão e a modelagem modificam a estrutura de alvéolos de gás e contribuem para o bom desenvolvimento da rede de glúten. A modelagem excessiva deve ser evitada por gerar calor e promover fermentação (GIANNOU; KESSOGLOU; TZIA, 2003).

### 2.2.3 Fermentação

A fermentação é causada pela levedura de panificação (*S. cerevisiae*). Devido à fermentação, o açúcar é convertido em umidade e CO<sub>2</sub>. A fermentação da massa é uma etapa básica do processo, responsável pela granulidade, textura e sabor do pão; esta fase é considerada tão essencial que mesmo após milhares de anos depois de sua descoberta, ela não sofreu praticamente nenhuma modificação.

No início da etapa de fermentação as condições são aeróbicas, porém a concentração de oxigênio é baixa, pois parte do oxigênio disperso na massa foi consumido na formação do glúten e na respiração da levedura. Para fins de panificação esta etapa é geralmente rápida, passando então as condições da massa a serem anaeróbicas. Assim as leveduras metabolizam os açúcares, e nesta metabolização produz-se etanol, CO<sub>2</sub>, compostos orgânicos e energia (ALMEIDA, 2006).

A levedura necessita de cerca de 45 minutos, sob condições favoráveis para adaptar-se totalmente à fermentação, em alguns casos a adaptação pode se dar entre 30 e 120 minutos. Existem outros dois fatores que devemos atentar na fermentação: a temperatura e a umidade relativa. A primeira afetará diretamente a velocidade de crescimento, enquanto a segunda o fará em menor escala. A temperatura de fermentação exerce um grande efeito na velocidade de produção de gás pela levedura. Em uma temperatura de 30°C, a velocidade de fermentação é três vezes mais rápida do que a 20°C. Entre as temperaturas estudadas de 24 a 52°C (ALMEIDA, 2006), com o aumento da temperatura pode haver aumento na velocidade de fermentação até 46°C, a partir desta temperatura ocorrem danos irreversíveis à levedura, comprometendo a fermentação.

A umidade relativa está em geral entre 75 e 90%. Baixa umidade relativa tende a ressecar a casca, produzindo um pão sem brilho. Alta umidade relativa pode causar condensação de umidade no produto, resultando em uma superfície manchada ou descolorada.

O pH do meio também deve ser mantido em um intervalo entre 4 e 6, para obterem-se resultados ótimos. A concentração de sal também exerce efeito negativo sobre a velocidade de fermentação. Os inibidores de fungos que são agregados à massa para retardar o aparecimento de fungos filamentosos nos pães, também retardam a velocidade de fermentação (ALMEIDA, 2006).

#### **2.2.4 Forneamento**

O forneamento é a etapa onde se transforma a massa em pão. Logo que a massa é propriamente assada, se tornando pão, resulta em um produto com qualidade e atributos sensoriais superiores. O pão fresco usualmente apresenta uma atraente casca crocante e amarronzada, um aroma agradável, características boas de corte, uma macia e elástica textura do miolo, e uma sensação úmida na boca (GIANNOU; KESSOGLOU; TZIA, 2003).

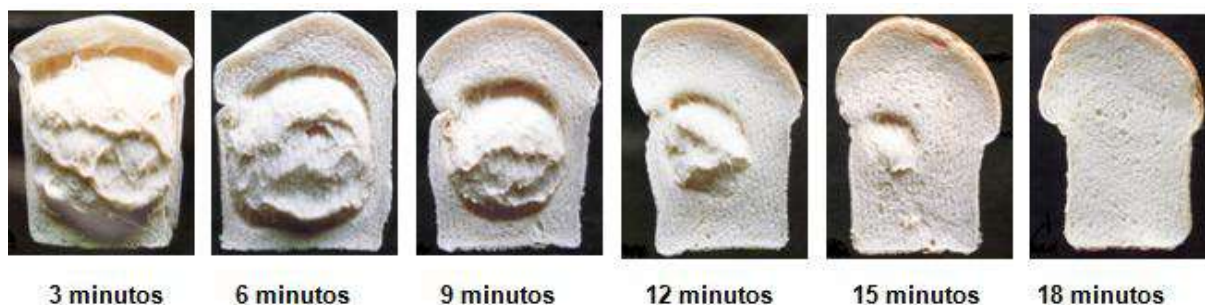
Forneamento é a última, mas a mais importante, etapa na produção de pães. Uma série de mudanças físicas, químicas e biológicas, como a vaporização da água, formação da estrutura porosa, expansão do volume, desnaturação protéica, gelatinização do amido, formação da casca e etc. ocorrem durante o forneamento.

Cada produto de panificação, e cada forno têm seu protocolo adequado de forneamento. Pães de forma podem ser trabalhados na faixa de 180-190°C por 20-35 minutos, e sem vapor de água (ALMEIDA, 2006).

A Figura 3 apresenta o miolo do pão de forma ao longo do forneamento.



**FIGURA 3:** Corte transversal de um pão de forma apresentando a transformação da massa ao longo do forneamento.



**FONTE:** Apresentação treinamento de forneamento Empresa A

O desenvolvimento do pão resulta da aceleração da produção de gás carbônico e da expansão das bolhas de gás presentes na massa. Entretanto, quando a temperatura interna atinge 50 a 60°C, as leveduras são destruídas cessando a produção de gás carbônico. A gelatinização do amido e a coagulação do glúten marcam o fim da plasticidade da massa e o pão atinge o volume final. Finalmente ocorre a formação da crosta devido ao ressecamento da superfície e pela formação da cor devido à caramelização dos açúcares e à reação de Maillard (WIGGINS, 1998).

No início do forneamento há um aumento da produção de CO<sub>2</sub>, que se dá em função do aumento de temperatura. A elevação da temperatura provoca a gelatinização do amido e as enzimas da farinha atuam tanto no amido danificado quanto em gelatinizado. As temperaturas ótimas de trabalho das enzimas são mais altas do que a temperatura de fermentação. O forneamento disponibiliza mais substratos para as enzimas amilases, a uma temperatura mais favorável, o que faz com que a levedura tenha mais açúcar disponível para metabolizar, aumentando a produção de gás. Este aumento da produção de gás faz com que haja um ganho de volume no começo do forneamento. Este ganho de volume, ou melhor, esta primeira subida que é oriunda da continuação da fermentação dentro do forno chama-se, *oven rise*, subida de forno. Este aumento de volume se dá comumente nos 6-8 primeiros minutos de forneamento (DOBRSZCZYK, 2004).

Com o decorrer do forneamento, a temperatura aumenta inativando as leveduras, por volta de 60°C, e inativando as amilases, por volta de 80°C.

Durante esta etapa forma-se uma crosta na superfície dos pães. Esta crosta, que é quase impermeável, dificulta a saída de umidade da massa, o que é desejável no produto final. Esta evaporação ocorrida pela transmissão de calor expande os gases dentro da massa/ pão, água, etanol, ácidos orgânicos e CO<sub>2</sub>, causando uma segunda subida do pão no forno. Esta segunda subida é função da pressão dos gases de dentro do pão para fora, sendo chamada de *oven spring*, salto de forno, que é responsável pelo aparecimento de rachaduras na crosta do pão (ALMEIDA, 2006).

Durante o forneamento a casca se forma conforme a máxima vaporização ocorre. A formação da casca é um dos fatores limitantes, que restringe a expansão da massa. A casca pode restringir o fluxo de vapor d'água do centro para a superfície da massa. Lostie et al. (2002) consideraram que a casca age como resistência a transferência de massa e calor durante o forneamento.

Internamente, ao nível coloidal das proteínas do glúten, começa um processo chamado de coagulação do glúten. Com o passar do forneamento as proteínas têm suas ligações enfraquecidas e os grãos de amido plastificam-se e deste modo facilitam a distensão das células e o afinamento das suas paredes, permitindo que as células expandam mais, sem que se perca o gás por completo. Novas células começam a se formar na matriz de glúten, pela saída de dióxido de carbono que se encontrava dissolvido. As paredes das células e os fios de glúten vão afinando-se, e a característica altamente plástica do amido permite que os fios de glúten se alonguem. O glúten ao final do forneamento terá sido totalmente coagulado. Quando o forneamento estiver completo a estrutura do glúten terá sido destruída e sobrarão uma matriz porosa e permeável de amido, que após o resfriamento terá uma consistência firme, típica de produtos de panificação (WIGGINS, 1998).

No que diz respeito às temperaturas, à medida que a massa vai aquecendo sua aparência de massa e propriedades reológicas modificam-se. Até os 64°C a massa não perde sua aparência de massa. Quando o aquecimento aproxima-se dos 65°C a massa começa a se modificar, tendendo a apresentar aparência de pão, e ainda possui extensibilidade. Quando o aquecimento aproxima-se dos 80°C a massa tem aparência de pão e sua extensibilidade cai drasticamente. Acima dos 88°C tem-se a aparência de pão

e um residual de extensibilidade. Em torno dos 95°C tem-se o pão, com elasticidade e sem extensibilidade. Uma das razões para cessar a expansão da massa durante o forneamento é a resistência à extensão. Dependendo das características reológicas as células na massa as paredes das células fechadas talvez resistam à expansão (ZHANG et al., 2007).

O aumento de temperatura também está relacionado com a retenção de CO<sub>2</sub>. A taxa de saída de CO<sub>2</sub> não aumenta significativamente até a faixa dos 55°C. Entre os 55°C e os 72°C esta taxa aumenta. A partir dos 72°C a taxa de saída de CO<sub>2</sub> cresce rapidamente, atingindo um máximo aos 88°C. Este aumento abrupto da taxa de saída de CO<sub>2</sub> dá-se pelo fato de existirem alguns fatores o influenciando, tais como, a gelatinização do amido, a coagulação do glúten e a movimentação da água de proteína para o amido. Nesta situação a viscosidade da massa fica muito alta. A alta viscosidade colabora com o aumento da pressão de gás nas células, as moléculas de gás da célula vão mudar entre células adjacentes e finalmente serão transportadas para fora da massa, favorecendo o aumento da taxa de saída de CO<sub>2</sub>, limitando a capacidade de expansão. Esta taxa mantém-se relativamente constante até os 97°C, quando então cai rapidamente (BLOKSMA, 1990; DA; THORVALDSSON; SKJOLDEBRND, 1998).

A desnaturação de proteína e a gelatinização do amido afetam difusão de água, por liberar e absorver água. Estes dois fenômenos ocorrem no intervalo de temperatura de 60 a 85 °C e contribuem para a mudança de massa para miolo. Maiores temperaturas da superfície da massa e transporte de calor no sentido do centro da massa resultam em um aumento da quantidade de água no centro do pão devido à evaporação e condensação. Este processo continua até que a temperatura do miolo atinge 100°C (PURLIS & SALVADORI, 2009). Thorvaldsson e Skjoldebrnd (1998) desenvolveram um processo para estudar continuamente transferência de calor e água no pão utilizando um instrumento de fibra óptica infravermelho próximo e termopares. O experimento mostrou que a água parece mover-se para a região mais fria e não para o centro geométrico.

A gelatinização é uma combinação do evento de fusão da porção cristalina e da transição vítrea da porção amorfa do grânulo de amido. O grânulo de amido não é solúvel em água fria, porém, quando aquecido em

meio aquoso, absorve água, intumescce e as pontes de hidrogênio são rompidas, permitindo a incorporação de água pelo amido. Esta incorporação aumenta a separação entre as cadeias e a aleatoriedade, e diminui o número e tamanho das regiões cristalinas. Quando a temperatura de fusão dos cristais de amido é excedida, o estado do sistema é próximo ao de um sólido, ponto conhecido como temperatura de gelatinização. Em pães, a gelatinização marca a transformação entre estrutura viscoelástica e esponja sólida, variando de 60 a 90°C (PATERAS, 2007).

A formação da casca e o escurecimento do pão durante o forneamento são os principais fatores para a formação do sabor do pão. O escurecimento é principalmente resultado de uma reação de Maillard que caramelização. O escurecimento da casca ocorre quando a temperatura é maior que 110° C e mostra uma correlação experimental com a perda de peso e a temperatura do forno. A cor da superfície é uma outra importante característica de produtos assados e pode ser considerado um índice crítico de forneamento (ZANONI; PERI; BRUNO, 1995).

A reação de Maillard é importante para a formação de cor e aroma na casca do pão, mas pode ser associada à formação de compostos tóxicos como acrilamida que é cancerígena. O escurecimento do pão ocorre em baixa atividade de água e alta temperatura superficial (VANIN, LUCAS E TRYSTAM, 2009; ZHANG; DATTA, 2006).

### **2.2.5 Resfriamento**

Esta é uma etapa tão importante quanto as outras anteriormente descritas. Em geral não se dá o devido valor a esta etapa. Por exemplo, a estocagem dos produtos resfriando em local contaminado, pode favorecer a contaminação por bolores reduzindo a validade comercial do produto. Há que se reduzir a possibilidade de contaminação, mantendo o produto em ambiente fresco e limpo (ALMEIDA, 2006). O produto deve ser resfriado a uma

temperatura menor que 42°C para evitar a condensação de vapor d'água na embalagem.

### **2.2.6 Embalagem**

Após o resfriamento, o produto é fatiado e embalado em embalagem de polietileno de baixa densidade, que é um material de baixa barreira a vapor d'água e oxigênio. O método utilizado para fechar a embalagem é o laço com fitilho. Por ser uma embalagem frágil e de baixa barreira o ambiente em que o produto é estocado é essencial para a manutenção de sua qualidade e segurança.

### **3 SISTEMA HACCP NA EMPRESA**

Na empresa o sistema HACCP está implantado desde 2005, recebeu uma certificação da própria empresa em 2006, desde então vem sendo atualizado, sofrendo manutenção, e sendo auditado para certificar sua conformidade.

Para avaliar o sistema HACCP da empresa a Norma de referência utilizada será a ISO 22000 (ABNT, 2006). A Norma integra os princípios do sistema HACCP e as etapas de aplicação desenvolvidas pela Comissão do *Codex Alimentarius*. Por meio de requisitos auditáveis, esta Norma combina o plano HACCP com Programas de Pré-Requisitos (PPR). A análise de perigos é a chave para um sistema de gestão da segurança de alimentos eficaz, que auxilie na organização do conhecimento requerido para estabelecer uma combinação eficaz de medidas de controle. Esta Norma requer que todos os prováveis perigos, considerando toda a cadeia produtiva de alimentos, sejam identificados e avaliados, incluindo os que podem estar associados ao tipo de processo e instalações utilizadas. Assim, esta norma fornece os meios para determinar e documentar porque certos perigos identificados precisam ser controlados por uma organização particular.

#### **3.1 PROGRAMAS DE PRÉ-REQUISITOS**

A produção de alimentos seguros requer que o sistema HACCP seja construído sobre uma fundação sólida de programas de pré-requisitos. Cada segmento da indústria de alimentos deve prover condições necessárias enquanto os alimentos estão sob seu controle. Isso tem sido alcançado através da aplicação de Boas Práticas de Fabricação. Programas de Pré-requisitos proveem as condições de operação e ambientais básicas que são necessárias para a produção de alimentos seguros, e não adulterados (NACMCF, 1997).

Nesta parte será apresentado o programa de pré-requisitos (PPR) da empresa. A documentação de apoio para realizar a revisão é a legislação brasileira e outros documentos internacionais, como o *Codex Alimentarius*, diretrizes do *Food and Drug Administration* (FDA) e o PAS 220:2008 (CAC, 1969; BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 2008; NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS, 1997).

A ISO 2200:2006 define os PPR como sendo as condições básicas e atividades necessárias para manter um ambiente higiênico ao longo da cadeia produtiva de alimentos, adequadas para a produção, manuseio e provisão de produtos finais seguros e de alimentos seguros para o consumo humano (ABNT, 2006).

Para facilitar a avaliação da conformidade do programa de pré-requisitos o resultado de uma auditoria de terceira parte, baseada na FSSC 22000, foi utilizado. As principais não conformidades são apresentadas, e seu possível impacto na segurança dos alimentos é discutido.

A empresa conta com um Manual de Boas Práticas de Fabricação, e com outros documentos que completam os programas de pré-requisitos e demonstram sua implantação.

Seguem listados os programas de pré-requisitos implantados na unidade:

- 1) Programa de Sanidade
- 2) Programa de Controle de Químicos
- 3) Programa de Controle de Pragas
- 4) Programa de Atenção a Reclamações de Clientes e Consumidores
- 5) Programa de Rastreabilidade e Recall
- 6) Programa de Controle de Alergênicos
- 7) Programa de Boas Práticas de Fabricação
  - 7.1) Hábitos e Higiene Pessoal
  - 7.2) Edificações, Instalações e Equipamentos.
  - 7.3) Calibração
  - 7.4) Qualidade da água / gelo, ar e monitoramento microbiológico
  - 7.5) Armazém de Matéria Prima e Produto Acabado

- 7.6) Transporte
- 7.7) Controle de Corpos Estranhos e Metais
- 7.8) Capacitação
- 7.9) Seleção de Matérias-Primas
- 7.10) Controle de Qualidade em Produto Acabado
- 7.11) Processo

A forma em que estão organizados os programas de pré-requisitos não segue o padrão de nenhuma norma ou legislação citada anteriormente, mas estes programas cobrem os principais pontos das normas.

O programa de pré-requisitos da empresa foi baseado em uma norma interna de alimentos seguros, que tem como referências diretrizes do FDA, AIB e *Codex Alimentarius*. Os pré-requisitos definidos pela empresa foram elaborados de forma robusta, de modo a cobrir os principais pontos das normas discutidas. Um requisito do PAS 220 (BSI, 2008) que não é abordado diretamente pelo programa de pré-requisitos da empresa é o de defesa de alimentos, que visa proteger o alimento de vandalismo, terrorismo ou sabotagem. O grau de conformidade da aplicação destes pré-requisitos é apresentado pelo resultado de uma auditoria de diagnóstico realizada em 2011.

### **3.1.1 Resultado de Auditoria de Pré-Requisitos**

A Tabela 2 apresenta o resultado da Auditoria de pré-requisitos realizada. A pontuação é baseada no número de conformidades encontradas em cada pré-requisito.



**TABELA 2:** Pontuação da Auditoria de pré-requisitos da Empresa A.

<b>Programa de Pré-Requisito</b>	<b>Pontos Possíveis</b>	<b>Pontos Obtidos</b>	<b>Pontuação %</b>
Programa de Sanidade	11	7	64%
Programa de Boas Práticas de Fabricação	56	37	66%
Programa de Reclamações de Consumidores	4	3	75%
Programa de Rastreabilidade e Recall	16	15	94%
Programa de Controle de Químicos	11	9	82%
Programa de Controle de Alergênicos	20	17	85%
Programa de Controle de Pragas	14	10	71%
<b>Total</b>	<b>132</b>	<b>98</b>	<b>74%</b>

**FONTE:** Relatório Final da Auditoria de Pré-Requisitos, Empresa A.

As não conformidades encontradas, que podem afetar a segurança do alimento devido a perigos biológicos, são descritas a seguir.

As não conformidades no programa de sanidade foram: falta de higienização profunda em estruturas aéreas e partes de equipamentos sem contato direto com o produto, frequência de programação de higienização do resfriador não cumprida, falta de registro de ações corretivas para desvios no controle de bioluminescência e filtros de insufladores de ar da planta saturados.

Na parte de equipamentos e instalações foram detectados vazamentos de farinha, água e massa. Também foi registrada uma não conformidade devido a um reservatório de água estar aberto.

Estas não conformidades embora relevantes, não impossibilitam a aplicação do sistema HACCP. São falhas pontuais que devem ser corrigidas para evitar a introdução de perigos no processo.

### **3.2 O SISTEMA *HAZARD ANALYSIS AND CRITICAL CONTROL POINTS* (HACCP)**

Devido às novas exigências sanitárias e aos requisitos de qualidade, ditados tanto pelo mercado interno quanto pelos principais mercados internacionais, o governo brasileiro, juntamente com a iniciativa privada, vem desenvolvendo, desde 1991, a implantação em caráter experimental do Sistema de Prevenção e Controle, com base na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (BRASIL, 1998).

O sistema HACCP, que tem fundamentos científicos e caráter sistemático, permite identificar perigos específicos e medidas para seu controle, com a finalidade de garantir a segurança dos alimentos. O HACCP é uma ferramenta que permite avaliar os perigos e estabelecer sistemas de controle focados na prevenção ao invés da análise do produto final (CAC, 1969).

Além de melhorar a segurança dos alimentos, a aplicação do sistema HACCP pode proporcionar outros benefícios importantes, como facilitar a inspeção por parte das autoridades reguladoras e promover o comércio internacional pelo aumento da confiança na segurança dos alimentos. Embora a aplicação do sistema HACCP tratada no documento dirija-se à segurança dos alimentos, esse conceito pode ser aplicado a outros aspectos de qualidade dos mesmos (CAC, 1969).

### **3.2.1 Os Princípios do HACCP**

O sistema HACCP consiste em sete princípios, a seguir (CAC, 1969):

Princípio 1 - Realizar uma análise de perigos.

Princípio 2 - Determinar os PCC.

Princípio 3 - Estabelecer os limites críticos.

Princípio 4 - Estabelecer um sistema para monitorar o controle dos PCC.

Princípio 5 - Estabelecer a ação corretiva a ser adotada quando o monitoramento indicar que um determinado PCC não está sob controle.

Princípio 6 - Estabelecer procedimentos de verificação para confirmar que o sistema HACCP está funcionando com eficácia.

Princípio 7 - Estabelecer um sistema de documentação de todos os procedimentos e os registros apropriados a esses princípios e à aplicação dos mesmos.

### **3.2.2 Plano HACCP**

É o documento preparado de acordo com os princípios do Sistema HACCP para garantir o controle de perigos importantes para a segurança dos alimentos em determinado segmento da cadeia de alimentos (CAC, 1969).

O plano HACCP da empresa está estruturado da seguinte forma:

Perfil do Produto (descrição e uso pretendido)

Diagrama de Fluxo do Processo (PPR OP e PCCs)

Análise de Perigos do Processo

Plano Mestre HACCP (PCC, medida de controle, perigo, procedimento de monitoramento, ações corretivas, verificação, registro e responsáveis)

A estrutura do Manual HACCP da empresa, além de apresentar o plano HACCP, tem os itens de Identificação e organograma da empresa, apresentação da equipe, resumo dos programas de pré-requisitos, análise de perigos em matérias-primas, histórico das revisões do Manual e referências bibliográficas.

### **3.2.3 Equipe HACCP**

A equipe de segurança de alimentos da empresa possui combinação de conhecimentos multidisciplinares e experiência em segurança de alimentos. Estão familiarizados com os produtos, processos, equipamentos e perigos a segurança de alimentos. A equipe foi capacitada para a implementação do sistema HACCP por uma empresa especializada. O coordenador da Equipe HACCP possui diversos cursos na área de segurança de alimentos, incluindo curso de Auditor Líder de Sistema de Gestão da Qualidade. Os demais integrantes da equipe possuem ao menos o curso de elaboração e implementação de planos HACCP, e o curso de auditor interno HACCP.

### **3.2.4 Descrição do produto**

Conforme a diretriz do *Codex Alimentarius*, a descrição do produto foi elaborada contendo uma descrição completa, incluindo informações relevantes sobre segurança, tais como composição, estrutura físico-química, tratamentos microbicidas ou microbiostáticos, embalagem, durabilidade e condições de armazenamento (CAC, 1969).

Pão de Forma (500g): Produto em forma de paralelepípedo elaborado com massa de farinha de trigo fortificada com ferro e ácido fólico, fermentado, tampado, assado, fatiado, embalado em embalagem de polietileno e fitilhado.

Tolerância de conservação: Propionato de cálcio 0,4 a 1,0% base farinha

Umidade: 34 a 38 %

Atividade água máxima: 0,98

pH: 5,1 a 5,3

Vida útil: 12 dias

### **3.2.5 Uso previsto**

O uso previsto do produto deve ser baseado nos usos esperados do mesmo por parte do usuário ou do consumidor final (CAC, 1969).

Uso e cliente intencionado: público em geral.

População sensível: celíacos.

Requisitos de armazenamento: temperatura e umidade ambiente.

Potencial de mau uso pelo consumidor: não identificado.

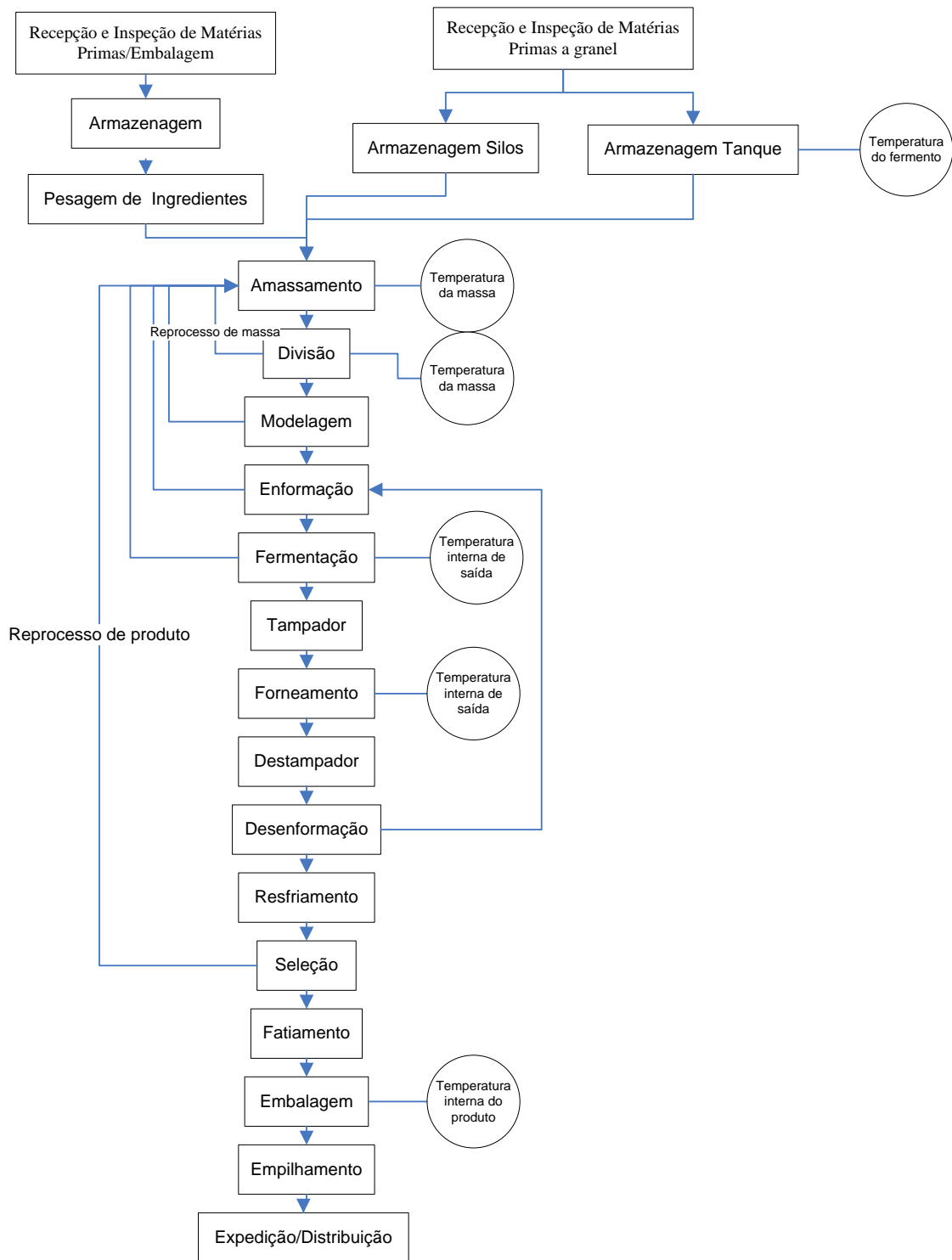
Forma de utilização: consumo direto.

### **3.2.6 Fluxograma**

O fluxograma apresentado na Figura 4 foi elaborado baseado no fluxograma do Manual HACCP, que é confirmado pela equipe HACCP na linha de produção abrangendo todas as etapas da operação.

As medidas de controle existentes, parâmetros dos processos e o rigor com o qual cada um é aplicado, ou procedimentos que podem influenciar a segurança de alimentos, devem ser descritos na extensão necessária à condução da análise de perigos (ABNT, 2006).

**FIGURA 4: Fluxograma de processo**



**FONTE:** Manual HACCP Empresa A, 2012 - Modificado

### **3.2.7 Análise de Perigos**

A equipe HACCP conduziu uma análise de perigos para identificar, no plano HACCP, quais são os perigos cuja eliminação ou redução a níveis aceitáveis é essencial à produção de um alimento seguro. Foi realizada a listagem de todos os perigos potenciais associados a cada etapa, análise de perigos e consideração sobre as medidas para controlar os perigos identificados.

Segundo a ISO 22000, a identificação dos perigos deve ser baseada em: informações preliminares e dados coletados, experiência, informações externas, incluindo dados epidemiológicos e outros históricos, e informações da cadeia produtiva de alimentos relativas à segurança de alimentos que podem ser de importância para a segurança dos produtos finais, intermediários e do alimento no momento de consumo.

Para cada perigo identificado deve ser determinado o nível aceitável deste no produto final, sempre que possível. A justificativa para esta determinação e o resultado devem ser registrados.

A ISO 22000 explicita que todas as matérias-primas, os ingredientes e os materiais que entram em contato com o produto devem ser descritos em documentos na extensão necessária à condução da análise de perigos (ABNT, 2006).

Fatores que devem ser considerados na análise de perigos segundo o anexo à CAC/RCP1 - 1969: a provável ocorrência de perigos e a severidade dos efeitos prejudiciais à saúde; a avaliação qualitativa e ou quantitativa da presença de perigos a sobrevivência ou multiplicação dos microrganismos de importância; a produção ou persistência de toxinas e agentes químicos ou físicos nos alimentos; e, as condições que causam os fatores acima (CAC, 1969).

Na empresa a análise de perigos foi realizada baseada na resolução RDC nº 12 de 2001 e nas especificações de matérias-primas definidas para todas as plantas da empresa (BRASIL, 2001).



Com o objetivo de atualizar a análise de perigos, incluir dados de avaliação de risco e outros artigos relevantes à segurança de produtos de panificação foi realizada a revisão da análise de perigos, que é apresentada no item 4.

### **3.2.8 Pontos Críticos de Controle e Programa de Pré-requisitos Operacionais**

A determinação de um PCC no sistema HACCP pode ser facilitada pela aplicação da árvore decisória. A árvore decisória deve ser usada como orientação para determinar os PCCs e sua aplicação deve ser flexível, considerando se a operação está relacionada à produção, ao abate, ao processamento, ao armazenamento, à distribuição ou outro fim (CAC, 1969).

Conforme a ISO 22000, as medidas de controle selecionadas devem ser classificadas de acordo com a necessidade de serem gerenciadas através dos PPR operacionais ou pelo plano APPCC.

A ISO 22000 não utiliza uma árvore decisória para estabelecer os PCCs, ela determina que a seleção e a classificação de uma medida de controle devem ser conduzidas usando uma abordagem lógica, que inclui avaliações com relação ao seguinte:

- Efeito sobre os perigos a segurança de alimentos identificados, em relação ao rigor aplicado;
- Viabilidade para monitoramento (por exemplo, habilidade de ser monitorada em tempo adequado para permitir correções imediatas);
- Posição dentro do sistema em relação a outras medidas de controle;
- Probabilidade de falhas no seu funcionamento ou variações significantes no processo;
- Severidade das consequências em caso de falhas no seu funcionamento;

- Se a medida de controle é especificamente estabelecida e aplicada para eliminar ou reduzir significativamente o nível de perigos;
- Efeitos sinérgicos (isto é, interações que ocorrem entre duas ou mais medidas, sendo o resultado de seus efeitos combinados maior que a soma de seus efeitos individuais).

As principais diferenças entre os PCCs e os pré-requisitos operacionais são que os PPR operacionais não têm obrigatoriamente a etapa de definição de limite crítico, e quando um PPR operacional está fora de controle o impacto sobre a segurança dos alimentos deve ser avaliado e então se define se será tratado como um alimento potencialmente inseguro. No caso dos PCCs sempre que o limite crítico é excedido os alimentos são tratados com potencialmente inseguros.

Os PPR operacionais devem ser documentados e devem incluir as seguintes informações para cada programa: perigos a segurança de alimentos a serem controlados pelo programa, medidas de controle, procedimentos de monitoramento que demonstrem que os PPR operacionais estão implementados; correções e ações corretivas a serem tomadas se o monitoramento mostrar que os PPR operacionais não estão sob controle, responsabilidades e autoridades, e registros de monitoramento (ABNT, 2006).

Na empresa não foram identificados PCCs para perigos biológicos. Todas as medidas de controle para estes perigos são gerenciadas por PPR e PPR operacionais, que são discutidos na revisão da análise de perigos, além dos métodos de monitoramento e as ações corretivas em caso de desvio.

### **3.2.9 Limites críticos para os PCCs**

Para cada PCC devem ser especificados e validados limites críticos. Em alguns casos, será estabelecido mais de um limite crítico para uma determinada etapa. Critérios frequentemente utilizados incluem medidas de temperatura, tempo, teor de umidade, pH, Atividade de Água (aw), cloro

disponível, assim como parâmetros sensoriais, tais como aspecto e textura (CAC, 1969).

Limites críticos baseados em dados subjetivos (assim como inspeção visual do produto, processo, manipulação etc.) devem ser apoiados por instruções ou especificações e/ou educação e treinamento (ABNT, 2006).

### **3.2.10 Monitoramento dos PCCs**

O monitoramento é a medida ou observação programada de um PCC em relação aos seus limites críticos. Os procedimentos de monitoramento devem ser capazes de detectar perda de controle no PCC (CAC, 1969).

O sistema de monitoramento deve consistir em procedimentos relevantes, instruções e registros que cubram o seguinte: medições ou observações que forneçam resultados dentro de um período de tempo adequado; dispositivos de monitoramento usados; métodos de calibração aplicáveis; frequência de monitoramento; responsabilidade e autoridade relacionadas ao monitoramento e à avaliação dos resultados; requisitos de registros e métodos (ABNT, 2006).

Os métodos de monitoramento e a frequência devem ser capazes de determinar quando os limites críticos foram excedidos em tempo do produto ser isolado antes de ser usado ou consumido (ABNT, 2006).

### **3.2.11 Controle de Não Conformidades**

Devem ser estabelecidas ações corretivas específicas para cada PCC no sistema HACCP, com o propósito de lidar com os desvios quando os mesmos ocorrerem. As ações devem garantir que seja retomado o controle do PCC (CAC, 1969).

Os produtos elaborados sob condições nas quais os limites críticos tenham sido excedidos, são produtos potencialmente inseguros e devem ser tratados como não-conformes. Produtos elaborados sob condições onde os PPR operacionais não estejam conformes devem ser avaliados em relação às causas da não conformidade e suas consequências em termos de segurança de alimentos e, quando necessário, devem ser tratados como produtos não-conformes. Para produtos não-conformes devem ser tomadas ações para prevenir que entrem na cadeia produtiva de alimentos, portanto todos os lotes afetados devem ser mantidos sob controle da organização, até que tenham sido avaliados. Se for possível assegurar que: os perigos à segurança de alimentos considerados tenham sido reduzidos aos níveis definidos como aceitáveis, ou se o produto ainda atende aos níveis aceitáveis de perigos, apesar da não-conformidade, estes produtos podem entrar na cadeia de alimentos (ABNT, 2006).

Caso os produtos que já não estejam mais sob controle da organização sejam subsequentemente determinados como inseguros, a organização deve notificar as partes interessadas relevantes e iniciar o recolhimento (ABNT, 2006).

Os procedimentos relativos aos desvios e ao destino do produto devem ser documentados nos registros do sistema HACCP (CAC, 1969).

### **3.2.12 Procedimentos de Verificação**

Antes da implementação das medidas de controle dos PPR operacionais e do plano APPCC, e depois de qualquer modificação nestes, a organização deve validar que as medidas de controle selecionadas são capazes de realizar o controle pretendido dos perigos, e que são eficazes e capazes de, em combinação, assegurar o controle dos perigos identificados. Se o resultado da validação mostrar que um elemento citado não pode ser confirmado, a medida de controle e suas combinações devem ser modificadas e reavaliadas (ABNT, 2006).

A validação das medidas de controle é discutida no item 5.

Para determinar se o sistema HACCP funciona corretamente, podem ser utilizados métodos de verificação e de auditoria, procedimentos e testes, incluindo amostragem aleatória e análises. A frequência de verificação deve ser suficiente para confirmar se o sistema HACCP está funcionando de modo eficaz (CAC, 1969).

Se o sistema de verificação for baseado em análises de amostras do produto final e se tais amostras analisadas mostrarem não-conformidade com o nível aceitável do perigo à segurança de alimentos, os lotes afetados do produto devem ser tratados como potencialmente inseguros (ABNT, 2006).

### **3.2.13 Documentação e Manutenção de Registros**

Para aplicação do sistema HACCP é essencial que a manutenção dos registros seja eficiente e correta. Os procedimentos do sistema HACCP devem ser documentados (CAC, 1969).

A Alta Direção deve assegurar que o sistema de gestão da segurança de alimentos seja continuamente atualizado. Para isso, a equipe de segurança de alimentos deve avaliar o sistema de gestão da segurança de alimentos em intervalos planejados. A equipe deve, então, considerar se é necessário analisar criticamente os perigos, os PPR operacionais estabelecidos e o plano HACCP (ABNT, 2006).

### **3.1.14 Resultado de Auditoria do Sistema HACCP da Empresa**

Uma auditoria de diagnóstico, de terceira parte, do Sistema HACCP e Pré-Requisitos, realizada na empresa em 2011 avaliou as conformidades do sistema de segurança alimentar da planta. A auditoria foi baseada nas normas ISO 2200 e PAS 220:2008.

A Tabela 3 apresenta a pontuação do resultado da Auditoria. A pontuação é baseada no número de conformidades encontradas.

**TABELA 3:** Pontuação da Auditoria do Sistema HACCP e Pré-Requisitos da Empresa A

<b>Categoria</b>	<b>Pontos Possíveis</b>	<b>Pontos Obtidos</b>	<b>Pontuação em %</b>
<b>Pré-requisitos</b>	<b>132</b>	<b>98</b>	<b>74%</b>
<b>HACCP</b>	<b>106</b>	<b>99</b>	<b>93%</b>

**FONTE:** Relatório Final Auditoria do Sistema HACCP, Empresa A.

As não conformidades encontradas na Auditoria HACCP foram: a falta de validação da base científica do sistema HACCP e a falta da revisão anual da validação, a não validação da análise de perigos para a determinação de PCC ou dos limites críticos, e a falta de identificação de medidas de controle específicas para cada perigo identificado, não apenas a indicação do programa de pré-requisito a que pertence à medida.

A pontuação da Auditoria indica que o Sistema HACCP da empresa é bem desenvolvido, porém as não conformidades apontam falhas na base do sistema. Para se avaliar a eficácia do sistema HACCP é fundamental a etapa de validação.

#### **4 REVISÃO DA ANÁLISE DE PERIGOS EM PÃES DE FORMA**

Produtos de panificação, como muitos outros alimentos processados, são sujeitos à deterioração. Enquanto a deterioração física e química limita a validade comercial de alimentos de panificação de baixa e média umidade, deterioração microbiológica é a preocupação em alimentos de alta umidade, produtos com atividade de água maior que 0,85.

Deterioração refere-se a qualquer mudança na condição de um alimento que o torna menos palatável no momento de consumo. Os problemas de deterioração de produtos de panificação podem ser subdivididos em deterioração física, um exemplo é perda de umidade, ou *staling*, deterioração química, como a rancificação, e deterioração microbiológica, crescimento de levedura, fungos filamentosos e bactérias. Produtos de panificação de alta umidade também têm sido implicados em diversos surtos de DTA (SMITH, 2004).

A fonte de deterioração microbiológica de pão mais comum é o crescimento de fungos filamentosos. Menos comum, mas que continua causando problemas em climas úmidos, é a deterioração conhecida como *rope*, causada por *Bacillus* spp. (PATERAS, 2007). *Bacillus* spp. presentes em matérias-primas sobrevivem ao forneamento, germinam no resfriamento, e crescem sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Pão com *rope* possui aroma similar a melão maduro. O miolo do pão fica descolorido e pegajoso, devido à degradação da proteína e do amido durante o crescimento da bactéria. Problemas com *rope* podem ser resolvidos com o uso de conservadores químicos, propionatos, ou por conservadores naturais e ácidos orgânicos (SMITH, 2004).

Na empresa a análise de perigos foi parcialmente documentada e apresentada no Manual HACCP. É necessário revisar a análise de perigos, documentando as fontes consultadas, e apresentar os resultados relevantes à segurança do alimento. A primeira etapa da análise é identificar os principais perigos que estão presentes em matérias-primas, ambiente fabril e etapas do processo que podem comprometer a segurança do produto acabado. Através

da avaliação destes perigos será possível definir se as medidas de controle implementadas são suficientes para eliminar, ou reduzir os perigos identificados a níveis aceitáveis, ou se novas medidas de controle são necessárias.

Para realizar a identificação dos perigos e medidas de controle foram consideradas as seguintes fontes: dados epidemiológicos, legislação, documentação de qualidade da indústria, histórico de reclamações de consumidores, histórico de análises laboratoriais dos produtos e água. A descrição do produto, identificação do uso pretendido, construção e confirmação do fluxograma do processo foram elaborados a partir da observação *in loco* do processo produtivo, pesquisa de legislação, análise da documentação de qualidade da indústria.

#### **4.1 MATÉRIAS-PRIMAS**

As matérias-primas da formulação do produto são: farinha de trigo, água, fermento, açúcar cristal, gordura vegetal líquida, sal refinado, fosfato monocálcio, fosfato tricálcio, emulsificante e propionato de cálcio.

Na empresa os perigos considerados em matérias-primas foram os requisitos microbiológicos da Resolução RDC nº 12/ANVISA (BRASIL, 2001). Para farinha de trigo, água e fermento a análise de perigos será revisada, para as outras matérias-primas os microrganismos definidos na RDC nº 12 foram considerados suficientes, pois na literatura não foram evidenciados outros perigos, assim como a avaliação apresentada no Manual HACCP da empresa.

No açúcar cristal os perigos biológicos são Coliformes a 45° C, que devem estar presentes em contagens menores que 10<sup>2</sup> UFC/g, e *Salmonella* spp., ausente em 25 g. Para a matéria-prima sal refinado não foram identificados perigos biológicos, assim como no propionato de cálcio, emulsificante, fosfato monocálcio e fosfato tricálcio. Na gordura vegetal líquida os perigos são coliformes 45°C, que deve ser menor que 5 UFC/g e



*Staphylococcus* coagulase positiva, menor que 10<sup>2</sup> UFC/g A probabilidade de ocorrência desses perigos acima dos níveis aceitáveis é baixa.

Segundo Batista (2003), a severidade de *Salmonella* spp. é média, assim como a de *Escherichia coli*. Para *Staphylococcus aureus* a severidade é considerada baixa. No Manual HACCP da empresa estes perigos são classificados como tendo severidade alta. A classificação de Batista (2003) será a utilizada na revisão. A medida de controle aplicada para todos os perigos biológicos dessas matérias-primas é a verificação do laudo do fornecedor de matéria-prima, na recepção. O programa de análise anual de matérias-primas faz parte da verificação. O programa de pré-requisito que oferece suporte a esta medida é o de seleção de matérias-primas, que inclui o programa de avaliação de fornecedores.

#### **4.1.1 Farinha de Trigo**

##### 4.1.1.1 Identificação dos perigos

Os perigos à segurança de alimentos identificados na farinha foram *Salmonella* spp. e *Bacillus* spp. células vegetativas e esporos. Coliformes a 45°C são considerados microrganismos indicadores, sendo um parâmetro utilizado nas medidas de controle para esta matéria-prima, conforme exigido na Resolução RDC nº 12, o perigo que será considerado deste grupo é *E. coli*.

Dentro da espécie *Bacillus* destacam-se *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis*. Outros *Bacillus* como *B. pumilus* e *B. megaterium* também podem estar presentes na farinha, e no produto final (EFSA, 2005; GRAVES et al., 1967; BAILEY; VON HOLY, 1993).

Fungos filamentosos e leveduras estão presentes, mas serão considerados microrganismos deterioradores, não patogênicos, sendo brevemente discutidos.

#### 4.1.1.2 Avaliação dos perigos

Os fungos filamentosos e leveduras são frequentemente isolados em farinha de trigo em concentrações próximas de  $10^2$ - $10^3$  UFC/g (BERGHOFER et al., 2003). Fungos filamentosos são considerados deterioradores e não patogênicos, por isso a severidade da contaminação de produtos com estes microrganismos não é considerada. Os perigos associados aos fungos filamentosos em matérias-primas são micotoxinas, porém estas são consideradas perigos químicos. Ainda assim, a contaminação inicial por fungos filamentosos não deve exceder  $10^3$  UFC/g (PATERAS, 2007).

Fungos Filamentosos e leveduras são a principal causa de contaminação microbiológica em pães. A probabilidade de sua ocorrência acima de níveis satisfatórios, que permitam seu crescimento no produto final, em etapas antes do forneamento é muito baixa e tais microrganismos possuem baixa resistência ao calor (PATERAS, 2007). Portanto esta contaminação por fungos filamentosos será discutida apenas para etapas após o forneamento

Os artigos sobre perigos biológicos pesquisados não apontaram *E. coli* como um contaminante comum de matérias-primas de panificação. Portanto, a resolução RDC nº 12 serve como única referência. A dose para causar enfermidade em adultos saudáveis é de  $10^6 - 10^{10}$  células/ g (BATISTA, 2003).

Os requisitos microbiológicos mínimos para a farinha de trigo são definidos pela Resolução RDC 12. *Salmonella* spp, ausência em 25 g, coliformes a 45°C menor que  $10^2$  UFC/g e *B. cereus* menor que  $3 \times 10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001)

*Salmonella* spp. tem sido encontrada em farinha; aproximadamente 1.3% de 4000 amostras de farinha de trigo analisadas em um estudo continham *Salmonella* spp (RICHTER, 1993). Embora a farinha seja muito seca para o crescimento, células podem ser viáveis por meses (RICHTER, 1993). A temperatura de crescimento varia entre 5,5°C e 45,6°C, o pH entre 4,1 e 9,0, a atividade de água mínima para crescimento é 0,95, e o  $D_{60^\circ\text{C}}$  é de 1,73 min. A dose para causar enfermidade em adultos saudáveis é de  $10^5 - 10^{10}$  células/ g (HITM, 2011) .

A maioria dos surtos de salmonelose envolvendo produtos de panificação envolveu *Salmonella* Enteritidis PT4, *Salmonella* Enteritidis PT7, e *Salmonella* Typhimurium. Na maioria dos surtos, ovos foram confirmados como o veículo de transmissão suspeito (SMITH, 2004).

*Bacillus* spp. são bactérias Gram-positivas, aeróbias, em forma de bastonete e formadora de endosporo. Por meio de seus esporos resistentes podem causar deterioração nos alimentos (BAILEY; VON HOLY, 1993). Esporos são dormentes, sua principal função é garantir a sobrevivência da bactéria em momentos de stress ambiental, são resistentes ao calor, secagem, químicos, radiação UV e gama (JÄÄSKELÄINEN, 2008).

Esporos de *B. cereus* podem germinar e se multiplicar em alimentos com elevada atividade de água e de baixa acidez, em temperaturas que variam de 4 a 55°C (EFSA, 2005). São causadores de dois tipos de enfermidades, denominadas síndrome emética e síndrome diarréica.

Na avaliação de risco da *European Food Safety Authority* (EFSA), a avaliação da dose-resposta de toxina emética levantou que uma concentração de 0,03-13,3 microgramas por grama de alimentos foi detectada em um surto que estudantes tiveram vômitos e dores abdominais. Por ser um grupo de toxinas termorresistentes, muitas vezes a contagem de *B. cereus* encontrada no alimento é baixa, pois foi inativado durante tratamento térmico, mas não suas toxinas. Um grande número de alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções com curto período de incubação continham entre  $10^5$ - $10^8$  *B. cereus*/g. Doenças causadas por outros *Bacillus* spp. são relacionadas a um número de células ou esporos igual a  $10^6$  ou maior.

Na Inglaterra e País de Gales no período de 1993 a 1999, de 1093 casos de surtos com agente conhecido, 2% foi causado por *B. cereus* e 1% por *B. subtilis* (EFSA, 2005).

A dose infecciosa de células viáveis ou esporos de *B. cereus* para a toxina diarréica varia entre  $10^5$  e  $10^8$  células ou esporos por grama de alimento (EFSA, 2005). A doença é caracterizada por dor abdominal e diarréia. O período de incubação é entre 8 e 16h e os sintomas persistem por 12 a 24 horas (JÄÄSKELÄINEN, 2008).

Doenças causadas por outros *Bacillus* spp. tem sido pouco investigadas. SalKinoha-Salonen et al. (1999) já na década de 90 confirmaram que algumas linhagens de *B. licheniformis* são toxigênicas.

Graves et al. (1967) examinaram farinha de 11 moinhos dos Estados Unidos e encontraram 18,2% das amostras contaminadas por *B. cereus*, 9,1% continham *B. licheniformis*, e 45,3% continham *B. subtilis*. No trigo foram encontrados *B. cereus* em 27,3% das amostras. O nível de contaminação por *B. cereus* na farinha de trigo foi geralmente menor que  $10^3$  esporos/g. Portanto, esporos de *Bacillus* spp. são comumente encontrados em farinha e produtos a base de farinha, como também no ambiente de panificação.

Bailey e Von Holy (1993) realizaram um estudo em matérias-primas, equipamentos e produto acabado para determinar as espécies de *Bacillus*, mais prováveis de causar contaminação em pães de forma. Nos estudos não encontraram *B. cereus* em pães de forma, produto acabado, foram encontrados *B. Subtilis* e *B. licheniformis*. Após forneamento *B. subtilis* se apresentou maior prevalência. O fermento compactado foi a maior fonte de *Bacillus*. *Bacillus* isolados de matérias-primas, massa, superfícies de contato e amostras de pão foram caracterizadas, e estavam distribuídas em 41,5% de *B. licheniformis*, 38,4% de *B. subtilis*, 12% de *B. megaterium*, 3,9% *B. pumilis*, 2,5% *B. laterosporus* e 1.1% *B. cereus* (BAILEY; VON HOLY, 1993).

Em um estudo realizado por Rosenkvist e Hansen (1995), 97% de 350 amostras de grão de trigo continham níveis de esporos de *Bacillus* abaixo de 20 UFC/g.

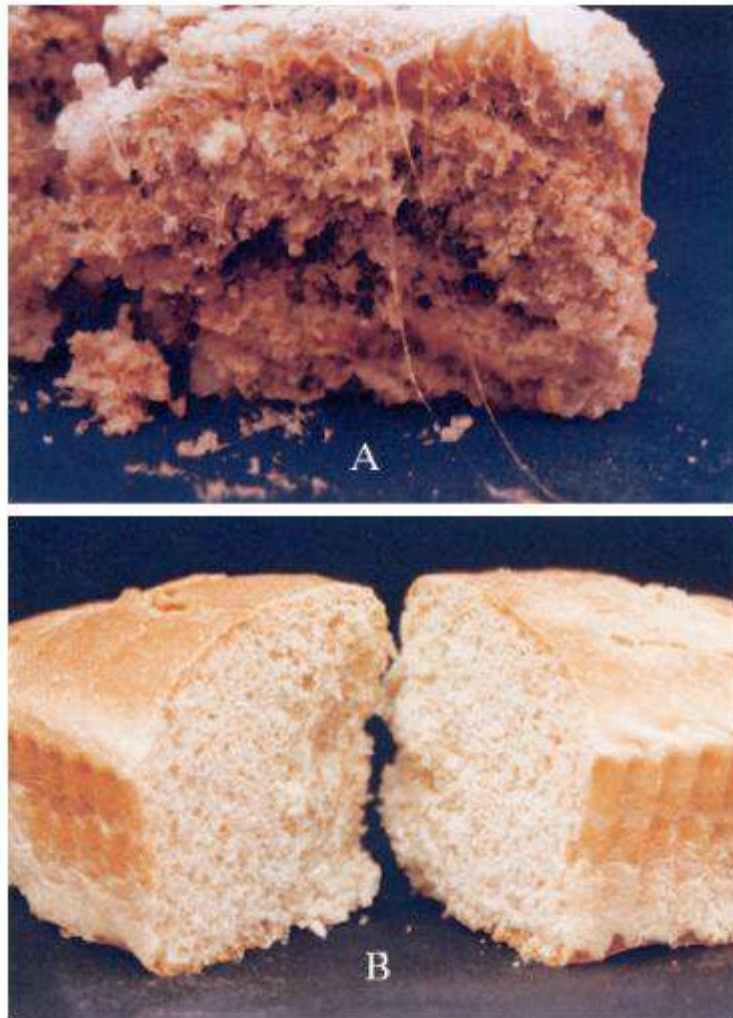
Kaur examinou amostras de farinha, fermento, gordura e melhorador a base de soja e encontrou *B. cereus* raramente, e em número abaixo de 100 UFC/g. Das amostras de farinha, 33% apresentaram *B. cereus*, ocasionalmente em contagem maior que 10 UFC/g.

Há uma frequente incidência de *Bacillus* em farinha e outros ingredientes, tais microrganismos podem se multiplicar rapidamente causando a condição conhecida como *rope*. A deterioração é percebida por um odor desagradável, semelhante a melões podres, seguido por um miolo descolorido e pegajoso, causado por degradação do amido e proteínas e pela produção de polissacarídeos extracelulares que conferem viscosidade (VOYSEY, 1989, apud PATERAS, 2007). *Ropiness* é a deterioração de pão mais importante

depois da contaminação por fungos filamentosos e ocorre particularmente no verão, quando as condições climáticas favorecem o crescimento de bactérias.

A figura 5 apresenta dois pães de forma com sinais de deterioração por *rope*.

**FIGURA 5:** Pães de forma com sinais de deterioração por *rope*.



**FONTE:** PEPE, 2003

Deterioração tipo *rope* ocorre com contagens de *B. subtilis* da ordem 8 log UFC/g (KRAMER; GILBERT, 1989). A quantidade de *B. cereus* requerida para produzir toxina é de aproximadamente  $10^5$  esporos/g. Surtos causados por *Bacillus* spp. são sub relatadas, já que os sintomas são geralmente amenos e auto-limitantes (SMITH, 2004).

Esporos de *B. cereus* podem germinar e se multiplicar em alimentos úmidos de baixa acidez, em temperatura que variam de 4 a 55°C (EFSA, 2005). O pH para crescimento varia entre 4,3 e 9,0, a aw mínima é 0,91, o  $D_{60}^{\circ}\text{C}$  é de 1 minuto, para células vegetativas, e o  $D_{100}^{\circ}\text{C}$  é de 2,7 a 3,1 minutos para esporos. O  $D_{56,1}^{\circ}\text{C}$  para a toxina diarréica é de 5min, o  $D_{126}^{\circ}\text{C}$  90min para emética (KRAMER; GILBERT, 1989; EFSA, 2005).

Em estudos realizados por Rosenkvist e Hansen (1995) a contagem de *Bacillus* em pães brancos comprados no varejo, sem conservadores ou massa azeda, foi de  $10^6$  ufc/g após 2 dias de armazenamento a temperatura ambiente, 25 a 30°C, mas nenhum apresentava *rope*. Em pães produzidos em laboratório com matérias-primas com contagens entre 0 e 6 UFC/g, após um dia a 30° C, a contagem de *Bacillus* variou entre 4.8 e 6.8 log UFC/g.

A prevalência de *B. subtilis* pode ser explicada por sua maior termorresistência, determinada nos estudos por inoculação. Em estudo realizado por Rosenkvist e Hansen, a única espécie associada com *rope* foi a *B. subtilis*. Mesmo com baixas contagens de esporos em matérias-primas, *B. licheniformis* e *B subtilis* resultaram em  $10^7$  *Bacillus* por grama de miolo de pão, em dois dias. Estes resultados indicam uma necessidade de controle do crescimento de *Bacillus*, principalmente *subtilis* e *licheniformis* (ROSENKVIST; HANSEN, 1995).

O perfil de *Bacillus* spp. isolados de pão, matérias-primas e grãos de trigo, com e sem sintomas de *rope*, é apresentado na Tabela 4.

**TABELA 4:** *Bacillus spp.* isolados de pão, matérias-primas e grãos de trigo.

Espécies	Pão com "rope" (%)	Pão normal(%)	Matérias-Primas(%)	Grãos de Trigo (%)
<i>B. megaterium</i>	0	0	0	2,9
<i>B. cereus</i>	0	2,2	0	0,4
<i>B. mycoides</i>	0	0	0	1,1
<i>B. licheniformis</i>	0	23,9	53,8	48,2
<i>B. subtilis</i>	100	69,6	22,5	7,2
<i>B. pumilus</i>	0	2,2	3,8	1,1
<i>B. firmus</i>	0	0	2,5	5,4
<i>B. macerans</i>	0	0	0	2,5
<i>B. circulans</i>	0	0	2,5	5,4
<i>B. stearothermophilus</i>	0	0	0	0,4
<i>B. brevis</i>	0	0	3,8	2,2
<i>B. sphaericus</i>	0	0	1,3	2,5
<i>B. lentus</i>	0	0	0	1,1
<i>B. badius</i>	0	0	1,3	7,6
<i>B. pantothenicus</i>	0	0	0	0,4
Linhagens não identificadas	0	2	8,8	11,9
Número de amostras	18	46	80	278

**FONTE:** ROSENKVIST; HANSEN, 1995 - Modificado

Kaur realizou estudos com pães inoculados com esporos de 6 diferentes linhagens de *B. cereus* e concluiu que o risco de intoxicação alimentar devido a *B. cereus* em pão de 400g é mínimo, quando inoculados na massa em contagem menor que  $10^4$  UFC/g.

Doenças causadas pelo consumo de pão com *rope* são consideradas improváveis devido à aparência do miolo; no entanto, altas contagens de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, sem sinais de *rope*, podem causar DTA (ROSENKVIST; HANSEN, 1995). O risco de DTA devido à presença de *B. cereus* em pão é considerado baixo devido à baixa frequência em que foram isolados em produto acabado (KAUR, 1986; BAILEY; VON HOLY, 1993; ROSENKVIST; HANSEN, 1995). No entanto, para garantir a segurança do produto, medidas de controle para *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis* são importantes, pois devem ser tomadas em combinação para se alcançar o objetivo desejado.

No histórico da empresa não há ocorrência de *B. cereus* na farinha acima do limite de  $3 \times 10^3$  UFC/g, no entanto existem poucos dados que quantifiquem a concentração encontrada na análise microbiológica, pois os dados enviados pelo fornecedor apenas apresentam os critérios como aprovados segundo a Resolução RDC nº 12. Portanto, a probabilidade de ocorrência de *B. cereus* em farinha de trigo, em níveis que comprometam a segurança do produto final é baixa.

#### 4.1.1.3 Avaliação das Medidas de Controle

Os requisitos microbiológicos mínimos para a farinha de trigo definidos pela Resolução RDC 12, *Salmonella* spp, ausência em 25 g, coliformes a 45°C menor que  $10^2$  UFC/g e *B. cereus* menor que  $3 \times 10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001), são controlados na empresa pelo laudo de análise da matéria-prima. No entanto as análises de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, apontados como os mais freqüentes na matéria-prima e produto final, nunca foram realizadas.

A verificação do laudo de análise da matéria-prima é o principal controle realizado na recepção, e também no processo. O objetivo deste controle é limitar a contagem inicial de microrganismos que será introduzida no processo.

Kaur (1986) demonstrou que uma contaminação por *B. cereus* maior do que  $10^4$  UFC/g registrada na massa, torna as etapas e medidas de controle subsequentes do processo insuficientes para eliminar ou reduzir o perigo a níveis aceitáveis no produto final. A análise microbiológica não é realizada para cada lote de matéria-prima, é realizada a cada 2 meses. O programa de avaliação de fornecedor é que garante a confiabilidade deste controle. A frequência de análise poderia ser ajustada para que acompanhasse a troca do lote do trigo utilizado no moinho.

O desenvolvimento de *rope* ficou raro em muitos países porque a adição de propionato de cálcio, boa higiene e boas práticas de fabricação o mantém sob controle. No entanto em países do mundo em que níveis de sal estão



sendo reduzidos há um aumento do risco de desenvolvimento de *rope*, especialmente se inibidores não forem utilizados na massa (PATERAS, 2007)

O programa de sanidade também impede que desvios ocorram no recebimento e estocagem da matéria-prima, impedindo, por exemplo, que haja contaminação entre um lote antigo de matéria-prima e outro que está sendo recebido. A frequência de higienização dos silos é fundamental para este controle

Como o controle nesta etapa não é suficiente para garantir um produto final seguro, medidas de controle adicionais, para os perigos identificados nesta matéria-prima, são apresentadas nas etapas do processo e no produto final.

#### **4.1.2 Água**

A água utilizada na linha de produção é da rede pública de distribuição, o que reduz a probabilidade de se encontrar perigos na água na entrada da planta, se comparada com água de outras formas de abastecimento.

A água para a elaboração dos pães deve ser potável; segundo a Portaria nº 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde, água para consumo humano é a água cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde.

##### 4.1.2.1 Identificação dos perigos

Patógenos associados à contaminação por matéria fecal. Os Microrganismos indicadores são Coliformes termotolerantes e *E. coli*.

#### 4.1.2.2 Avaliação dos perigos

Coliformes totais são bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a  $35,0 \pm 0,5$  °C em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo (BRASIL, 2004).

Os Coliformes termotolerantes são subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a  $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas, tendo como principal representante a *Escherichia coli*. A *E. coli* fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a  $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidasenegativa, não hidrolisa a uréia e apresenta atividade das enzimas  $\beta$  galactosidase e  $\beta$  glucoronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos. Estes microrganismos devem estar ausentes em 100ml de água (BRASIL, 2004).

A probabilidade de ocorrência dos perigos identificados acima dos níveis aceitáveis é baixa. A severidade de ocorrência de *E. coli* de alguma linhagem patogênica é média.

#### 4.1.2.3 Avaliação das Medidas de Controle

Análises semanais do pH e cloro residual livre, que devem estar entre 6,0 e 9,5 e acima de 0,5 mg/l respectivamente.

Análises mensais para a verificação dos padrões de potabilidade da água da rede pública de distribuição, dos principais reservatórios da fábrica, e de pontos em que a água entra diretamente no processo.

Além desses controles, existe o programa de higienização dos reservatórios de água, para garantir que não ocorra contaminação da água na planta.

#### **4.1.3 Fermento em Creme**

O fermento em creme, 80% de umidade, é transportado em caminhões esterilizados e isolados. Como o creme não passa por filtração, mistura ou extrusão, as leveduras sofrem menos dano aumentando a qualidade e reduzindo a contaminação microbiológica.

Como o fermento não é propagado sob condições de cultura pura, nas etapas comerciais de fermentação, contém vários contaminantes microbiológicos. Somado a isso, o meio em que a levedura cresce é particularmente adequado para o crescimento de vários microrganismos (O'BRIEN, 2004).

##### 4.1.3.1 Identificação dos perigos

No Manual HACCP da empresa os perigos considerados são Coliformes a 45°C e *Salmonella* spp., seguindo a Resolução RDC nº 12; além destes também é considerado *E. coli*. No estudo de caso realizado na empresa A é considerado, além destes, *Enterococcus* spp, devido a evidências levantadas no estudo realizado por O'Brien (2004).

Fermento pode conter bactérias lácticas, leveduras selvagens e fungos filamentosos. Existem evidências de que o fermento pode conter esporos de

*Bacillus*, como mostrado nos estudos de Bailey e von Holy (1993) e O'Brien (2004).

#### 4.1.3.2 Avaliação dos perigos

Fungos Filamentosos crescem mais devagar se comparados com leveduras selvagens ou bactérias, portanto usualmente não representam problema a não ser que o fermento seja estocado por longos períodos com temperaturas elevadas (O'BRIEN, 2004).

No estudo realizado por O'Brien não foram encontrados *Salmonella* nem *S. aureus* em três tipos de fermento: creme, comprimido ou seco. O fermento em creme não continha esporos de bactérias ou *Listeria* spp.. Apenas o fermento seco apresentou presença de *Bacillus* causadores de *rope*.

As contagens foram altas para *Enterococcus* sp., que foram de 3 a 4 log maiores do que aquelas registradas para coliformes e *E. coli*. As contagens de *Enterococcus* sp. foram 1 a 2 log maiores em amostras armazenadas a 10°C do que a 4 °C , demonstrando o efeito que uma quebra na cadeia do frio durante armazenagem e distribuição pode ter sob a validade comercial e inocuidade de produtos.

*Enterococcus* spp. pertencem ao grupo das bactérias lácticas e estão presentes em solos, águas, plantas, microbiota autóctone de vários alimentos e como membros da microbiota intestinal de humanos e animais. Esses microrganismos foram considerados por muito tempo como comensais, mas o aumento da severidade das infecções nosocomiais causadas por enterococos multirresistentes a antimicrobianos e a falta de conhecimento sobre seus fatores de virulência geram insegurança na utilização de cepas deste gênero na produção de alimentos como culturas fermentadoras e/ou probióticas. A diferença entre uma cepa de *Enterococcus* sp. com potencial patogênico e outra aparentemente segura para uso em processamento de alimentos não é clara, e a probabilidade de que esta última adquira fatores de virulência merece investigação (MALAVAZI, 2007).

O acompanhamento da vida-de-prateleira do fermento mostrou que a armazenagem a alta temperatura, maior que 10°C, causou deterioração e que o microrganismo predominante era *Lactobacillus* (O'BRIEN, 2004).

A probabilidade de ocorrência de coliformes, *E. coli* e *Salmonella* spp. é baixa, a de *Enterococcus* spp. deve ser avaliada para o caso da empresa, pois análises nunca foram realizadas, e não foi evidenciada relação deste microrganismo com contaminação para utilizá-lo como indicador de qualidade higiênica em alimentos. A severidade de *E. coli* e *Salmonella* spp. é média. A de *Enterococcus* spp. é baixa.

Os artigos pesquisados não apontaram para perigos microbiológicos em fermento creme para panificação, os que apresentaram perigos foram principalmente em outros tipos de fermento.

#### 4.1.3.3 Avaliação das Medidas de Controle

O controle de laudo de matéria-prima seguindo a Resolução RDC nº 12 para *Salmonella* spp. ausência em 25 g e Coliformes 45°C < 10<sup>2</sup> UFC/g é considerado um requisito microbiológico suficiente para a segurança do processo, pois as evidências mostram que o fermento em creme é o mais seguro do ponto de vista microbiológico. Este controle quando aplicado em conjunto com o controle de temperatura de recepção e do tanque de fermento, garante que nenhum perigo é introduzido no processo, acima dos níveis aceitáveis. A armazenagem do fermento tem temperatura controlada, menor que 10°C e o monitoramento é realizado a cada uma hora.

O tanque de fermento na empresa é higienizado com solução detergente alcalina com um sistema *Clean in Place* (CIP). O monitoramento da eficiência da higienização é realizada através do pH da água de enxágüe, para garantir que não há presença de sanitizantes. A ATP-bioluminescência é utilizada para garantir um número seguro de microrganismos e/ou restos de matéria orgânica após a higienização. Critérios estabelecidos pelas Forças Armadas Norte-Americanas para fermento comprimido restringe o número de *Bacillus*

causadores de *rope* a menos de 2 log UFC/ml ou g (Shapton and Shapton, 1993).

## **4.2 ETAPAS DO PROCESSO**

### **4.2.1 Recepção, estocagem e armazenagem de Matéria-Prima**

#### 4.2.1.1 Identificação dos perigos

Os perigos *E. coli* e *Bacillus* spp. estão associados à contaminação nos silos, reservatórios de água e tanques de armazenagem de fermento. Para as demais matérias-primas não foram identificados perigos.

#### 4.2.1.2 Avaliação dos perigos

A probabilidade de ocorrência é baixa para todos os perigos, levando em consideração o histórico de não conformidades da empresa, e a severidade média, para *E. coli*, e baixa para *Bacillus* spp.

#### 4.2.1.3 Avaliação das Medidas de Controle

Programa de higienização de tanques de fermento, silos de farinha e reservatórios de água. Para a recepção de água há ainda filtros microbiológicos e correção do cloro residual. Todas as matérias-primas são recebidas com laudo de análise microbiológica. Análises não são realizadas a cada lote. Para matérias-primas que necessitam de refrigeração a medida de controle é a temperatura que é monitorada.

#### **4.2.2 Pesagem de Ingredientes**

Fermento, farinha e água não passam por esta etapa e são adicionados direto a masseira, na etapa de amassamento.

##### 4.2.2.1 Identificação dos perigos

Esta é a primeira etapa do processo em que ocorre contato direto de manipuladores com o produto. Portanto, nesta etapa há o perigo de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva por parte dos manipuladores, assim como *Salmonella* spp. e *E. coli*. Em todas as etapas em que há o contato direto com manipuladores esses perigos precisam ser considerados (BRABES, 2005). Há, também, a possibilidade de contaminação de equipamentos e utensílios com estes microrganismos.

Por se tratar de um ambiente de panificação, a pesagem é realizada dentro da linha de produção e a presença de *Bacillus* spp. e esporos no ar, utensílios e equipamentos também deve ser considerada.

#### 4.2.2.2 Avaliação dos perigos

Para *Bacillus* spp. a contaminação encontrada em equipamentos e utensílios não deve ser muito maior que a concentração encontrada na matéria-prima, que é a fonte inicial da contaminação. Bailey e Von Holy (1993) apontaram que a contaminação de equipamentos não influenciava muito no processo, mesmo com uma frequência de higienização inadequada.

Deste modo, a probabilidade de ocorrência em níveis acima do aceitável pode ser considerada baixa. A severidade é a mesma discutida anteriormente para o perigo. Nos artigos não foi evidenciada resistência a sanitizantes destes microrganismos, portanto devem ser utilizados os recomendados para higienização de equipamentos de indústria de alimentos.

A probabilidade de ocorrência de *S. aureus* acima dos níveis aceitáveis é baixa; embora humanos sejam portadores, as matérias-primas não necessitam de refrigeração, e não são suscetíveis a crescimento de *S. aureus*. Para *Salmonella* spp. e *E. coli* a probabilidade é baixa, pois os manipuladores teriam de ser os portadores destes microrganismos, e há na empresa os exames periódicos de manipuladores implantados, além de outras medidas de BPF que reduzem o risco. Na fábrica são utilizadas matérias-primas derivadas de ovos em outras linhas, que podem ser fonte de *Salmonella* spp..

#### 4.2.2.3 Avaliação das Medidas de Controle

As medidas de controle são das BPFs, especialmente hábitos, higiene e saúde de manipuladores. A verificação é realizada pela análise microbiológica mensal realizada na mão dos colaboradores. Para *E. coli*, *S. aureus* e Enterobacteriaceae o resultado satisfatório é a ausência, para fungos o máximo são 15 colônias na placa RODAC de 25 cm<sup>2</sup>. O programa de sanidade, que



inclui teste de ATP - bioluminescência, para monitoração dos procedimentos de limpeza e sanitização são essenciais para o controle dos perigos em equipamentos e utensílios. Estes controlam todos os perigos identificados na etapa. O controle para evitar contaminações cruzadas é importante para se evitar a contaminação por *Salmonella* spp. de matérias-primas derivadas de ovo. Este controle é realizado através de higienização das bancadas e equipamentos de pesagem e os utensílios para pesagem são utilizados para apenas uma matéria-prima.

### **4.2.3 Amassamento**

É nesta etapa que se juntam todos os ingredientes do produto.

#### 4.2.3.1 Identificação dos perigos

Os perigos são: *Bacillus* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus*, *E. coli*, conforme já discutido anteriormente.

#### 4.2.3.2 Avaliação dos perigos

Nesta etapa há a possibilidade de contaminação por *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *E. coli* por manipuladores, pois algumas matérias-primas são adicionadas à masseira manualmente. Também existe a possibilidade de contaminação de equipamentos e utensílios.

Um dos fatores que aumentam a probabilidade de ocorrência de *Bacillus* spp. é o reprocesso. Como as migalhas se originaram de pães danificados, esporos de *Bacillus* termorresistentes que sobrevivem ao forneamento podem estar presentes nas migalhas e pode ser esperado aumento pela germinação,

multiplicação e esporulação, antes de ser reintroduzido no processo. O número de esporos vai depender do nível original da massa, e as condições de armazenagem dos pães danificados e migalhas antes da reintrodução (BAILEY; VON HOLY, 1993).

Nesta etapa a probabilidade de ocorrência é baixa para todos os perigos, e a severidade é a mesma apresentada anteriormente.

#### 4.2.3.3 Avaliação das Medidas de Controle

É importante que o reprocesso de massa e pães seja feito de acordo com as normas de BPF para evitar a introdução de novos perigos no processo. Um intervalo máximo de tempo de reprocesso deve ser fixado.

Além das medidas discutidas na etapa de pesagem de ingredientes, parâmetros operacionais estão presentes nesta etapa. Para a segurança de alimentos é importante o controle de temperatura da massa, menor que 27°C. Embora sejam relevantes para o controle de possível crescimento de microrganismos, os parâmetros operacionais são fundamentais para manter a propriedades físico-químicas do produto dentro da faixa especificada. Também é importante a limpeza operacional dos equipamentos, que faz parte do programa de sanidade, e tem como objetivo evitar acúmulo de massa nos equipamentos, que possa resultar em contaminação cruzada ou contaminação com resíduos de massa.

A verificação da efetividade do programa de sanidade é a análise microbiológica mensal da superfície de equipamentos que tenham contato direto com o produto. São realizadas análises para Enterobacteriaceae e *E. coli*, o resultado satisfatório é a ausência destes microrganismos, para fungos o máximo aceitável é 15 colônias na placa RODAC de 25 cm<sup>2</sup>.

A absorção da farinha é um parâmetro fundamental que tem impacto na aw e umidade do produto final. Na empresa, este parâmetro é próximo de 50% e só deve ser alterado com permissão do setor de processos, pois os parâmetros de forno devem ser ajustados.

## 4.2.4 Divisão e Modelagem

### 4.2.4.1 Identificação dos perigos

Perigos Identificados: *Bacillus* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus* e *E. coli*, conforme já discutido anteriormente.

### 4.2.4.2 Avaliação dos perigos

Em estudo realizado por Bailey e Von Holy (1993), *Bacillus* spp. na esteira da divisora e boleadora apresentaram esporos no *swab* acima de 2 log UFC/*swab*, devido ao acúmulo de massa, criando condições favoráveis a germinação de esporos, multiplicação de células e resporulação. Nenhuma limpeza foi realizada durante 6h de produção, permitindo que a massa acumulada recontaminasse a massa fresca (BAILEY; VON HOLY, 1993).

A probabilidade de ocorrência dos perigos é devida à manipulação, contaminação de equipamentos e utensílios. Severidade e probabilidade dos perigos são as mesmas das etapas de pesagem de ingrediente e amassamento.

### 4.2.4.3 Avaliação das Medidas de Controle

Programa de sanidade, incluindo limpeza operacional. Higiene e saúde de manipuladores. Temperatura da massa < 27 °C

## **4.2.5 Enformação e Colocação de Tampa**

### 4.2.5.1 Identificação dos perigos

Apenas esporos termorresistentes de *Bacillus* podem estar presentes, mas em concentrações muito baixas devido à alta temperatura atingida. A concentração de esporos de *Bacillus* será, portanto, menor que a encontrada na massa.

### 4.2.5.2 Avaliação dos perigos

As formas após saírem do forno a temperaturas acima de 180°C são resfriadas rapidamente até 40°C, portanto estão em uma faixa segura, não apresentam células vegetativas, e mesmo esporos termorresistentes sofrem inativação.

### 4.2.5.3 Avaliação das Medidas de Controle

É necessário apenas o controle de limpeza de formas, para evitar que resíduos de massa fiquem aderidos à cavidade das formas.

## 4.2.6 Fermentação

### 4.2.6.1 Identificação dos perigos

Os perigos associados à etapa são: *Bacillus* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus*, *E. coli*.

### 4.2.6.2 Avaliação dos perigos

Foi demonstrado por Rosenkvist e Hansen (1993) que *Bacillus*, provenientes de matérias-primas e equipamentos, não se multiplicam na massa durante a fermentação, embora ocorra germinação dos esporos. Farmiloe et al. (1954) encontraram resultado semelhante para *B. subtilis*, metade dos esporos germinou nesta etapa, sem apresentar aumento da contagem de *B. subtilis*.

Nos estudos realizados por Kaur (1986), não houve multiplicação de *B. cereus*.

Bailey e Von Holy (1993) observaram um crescimento de 0,5 log UFC/g em uma massa que continha 2,6 log UFC/g .

Nesta etapa a probabilidade de ocorrência é baixa para todos os perigos, e a severidade é a mesma apresentada anteriormente.

### 4.2.6.3 Avaliação das Medidas de Controle

As medidas são as do programa de sanidade e higiene e saúde de colaboradores.

A temperatura da massa na saída do provador é definida como parâmetro de processo e deve estar entre 35 e 40° C. Esta temperatura é ótima para o desenvolvimento de todos os microrganismos, mas devido à presença de levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, em altas concentrações, estas acabam por inibir o crescimento dos demais microrganismos. O tempo de fermentação é de 1h. A medição da temperatura da massa é realizada a cada batelada de massa.

Não existe na empresa parâmetro definido para o pH da massa nesta etapa do processo, é um parâmetro importante, pois vai definir o pH do produto final e também influenciará na inativação de microrganismos no forno.

#### **4.2.7 Forneamento**

##### 4.2.7.1 Identificação dos perigos

Os perigos são: *Bacillus spp.*, *Salmonella spp.*, *S. aureus* e *E. coli*. Fungos filamentosos e Leveduras também estão presentes.

##### 4.2.7.2 Avaliação dos perigos

Esta é a etapa responsável pela eliminação de todas as células vegetativas presentes na massa, inclusive as de *Saccharomyces cerevisiae* do fermento. Os esporos de *Bacillus*, por serem termorresistentes, podem sobreviver ao tratamento térmico, por isso sua concentração inicial deve ser mínima.

Para atingir atributos de textura e qualidade desejados, a maioria dos produtos de panificação recebe apenas processamento de tratamento térmico moderado. Por exemplo, pão é assado a altas temperaturas, entretanto,

durante o forneamento, a temperatura no centro do miolo raramente excede 100°C por alguns minutos. A temperatura no miolo úmido é aparentemente limitada devido ao resfriamento pela vaporização que é suficiente para manter o ritmo com a transferência de calor lenta para o interior (FARMILOE et al, 1954).

A probabilidade de ocorrência dos perigos acima de níveis que possam comprometer a segurança do produto é baixa para todos os perigos, considerando as medidas anteriormente tomadas. Mas um desvio na etapa de forneamento, mesmo com todas as medidas tomadas anteriormente possibilita o crescimento de *Bacillus* a níveis que afetam a segurança do produto final.

A condição letal de tratamento térmico para *Penicillium* e *Aspergillus* é de 68 a 70°C por 20 minutos em um método de forneamento tradicional (Olsen, 1965).

Células vegetativas de *Bacillus subtilis* em solução tampão foram inativadas em 2 min a 75 °C (FARMILOE et al.,1954).

Farmiloe et al. (1954) constataram que para esporos de *B. subtilis* a redução da concentração inicial é viável, mas para a eliminação completa o tempo de forneamento pode chegar a uma hora. Para concentrações de 10<sup>6</sup> UFC/g é inviável a eliminação com o forneamento.

Em quantidades da ordem de 10<sup>6</sup> UFC/g, algumas espécies de *Salmonella* spp. podem sobreviver ao forneamento em produtos de panificação (SMITH, 2004).

Bailey e Von Holy (1993) estimaram a redução de *Bacillus* spp. em 1 log UFC/g, com uma contagem inicial de 3,1 log UFC/g, que estaria dentro do limite da legislação para farinha. *B. subtilis* foi isolado com maior freqüência de pães devido a sua maior termorresistência. *B. licheniformis* também foi isolado de produtos finais com uma freqüência alta.

Kaur considerou improvável a sobrevivência de *B. cereus* em pães de 400g, quando a contagem inicial é menor que 10<sup>4</sup> UFC/g.

O tempo de redução decimal a 90°C estimado para *B. cereus* é 10 minutos, para *E. coli* o D<sub>70°C</sub> 0,001 minuto, *Salmonella* spp. D<sub>70°C</sub> 0,001 minuto e *S. aureus* D<sub>70°C</sub> de 0,1 minuto (SMITH, 2004). *B. subtilis* D<sub>100°C</sub> 6,5min, em água destilada (CONESA et. al, 2003).

O  $D_{60^{\circ}\text{C}}$  para *S. aureus* está na faixa de 5.2 a 7.8 minutos , mas sua toxina é termorresistente, e o tratamento de forneamento não poderá ser utilizado para controlar este perigo (HITM, 2011).

#### 4.2.7.3 Avaliação das Medidas de Controle

A redução estimada para *Bacillus* spp. é de 1 log UFC/g (BAILEY; VON HOLY, 1993). Para *Salmonella* spp., *E. coli* e *S. aureus* a eliminação deve ser alcançada. Os esporos de *Bacillus* sofrem menor redução, como será demonstrado na validação da medida de controle.

Para fungos filamentosos e leveduras o tratamento deve ser suficiente para a eliminação de células viáveis.

A temperatura interna no centro de um produto é medida a cada batelada de massa, em intervalos de aproximadamente 10 minutos, e esta deve estar acima de 90°C na saída do forno. As temperaturas de cada zona do forno também são monitoradas e são parâmetros de processo.

A temperatura de 90°C é suficiente para a inativação de células vegetativas no produto. As temperaturas efetivamente atingidas no centro do produto estão entre 95 e 98° C.

Esta medida de controle pode ser revista, pois embora para a inativação de células vegetativas a temperatura de 90°C seja suficiente, como parâmetro de processo é insuficiente. A umidade e  $a_w$  provavelmente não atingiriam a especificação, pois a absorção na massa não é dimensionada para um forneamento que alcance apenas 90°C. Deste modo, a conclusão é que este parâmetro, que tem como objetivo garantir a segurança do alimento, pode falhar ao aprovar produtos que obviamente sofreram um desvio no processo. Desvio este que pode não ser registrado por outras medidas de controle, como os termômetros de temperatura de cada zona do forno, que trabalham com um padrão com faixa aceitável grande, e o tempo de forneamento, aproximadamente 20 minutos, que também pode sofrer pequenos ajustes. Isso pode resultar em uma situação em que todos os seus indicadores de processo



e segurança estão dentro da faixa, mas seu produto está com parâmetros fora da especificação. Estes parâmetros, pH, umidade e atividade de água, são verificados em uma frequência baixa, uma vez ao mês, para se tomar as ações corretivas, antes da liberação dos produtos.

Portanto, o controle de temperatura na etapa de forno, deve ser estabelecido como um PPR operacional, seguindo os pontos da avaliação recomendados pela ISO 22000. Esta medida é fundamental para a segurança do alimento, devido à redução do número de células e esporos, e influencia o crescimento de microrganismos no produto final.

É possível monitorar os parâmetros a tempo de tomar ações corretivas imediatas; a etapa não foi desenhada para o controle do perigo, mas seu ajuste é necessário para a segurança do produto. Grandes variações de temperatura, em que o produto sai com temperatura interna menor que 90°C, afetam outras propriedades do produto, como textura, que impossibilitam a sua desenformação e fatiamento. Este fato torna o desvio evidente, e a probabilidade de um produto final com tratamento térmico inadequado ser expedido é muito baixa. No entanto, as pequenas variações afetam a umidade e atividade de água do produto, que impactam em menor grau a segurança do produto final. Na validação do processo será apresentada uma estimativa de como a variação na temperatura interna afeta a inativação de microrganismos no produto.

Os perigos controlados por este PPR são: *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E.coli* e *Bacillus* spp. A seguir, as medidas de controle, correções e ações corretivas, responsabilidade e autoridade, e registro do monitoramento do PPR são descritos, o que não está descrito nos procedimentos da empresa será apresentado como sugestão de melhoria.

O tempo de forno é de aproximadamente 20 minutos. Ajustes operacionais são realizados pelo forneiro variando 1 minuto para mais ou menos. Variação para tempos menores que o limite inferior são improváveis. Em caso de ajuste de tempos menores que os padrões de processo a supervisão deve ser avisada, e o tempo deve ser anotado na planilha de produção. O monitoramento é realizado a cada batelada de massa e registrado em planilha de produção, pelo forneiro.

As temperaturas das 4 zonas do forno devem estar entre 180 a 250° C. O monitoramento batelada de massa pelo forneiro. Para desvios na temperatura de uma ou mais zonas o ajuste deve ser realizado pelo forneiro, o desvio anotado na planilha de produção e a supervisão de produção deve ser alertada. Uma sugestão em caso de desvios de temperatura do forno abaixo do padrão é o acompanhamento da temperatura interna do produto na saída do forno; a medida pode ser feita 4 vezes em intervalos de 5 minutos, até que se passe o tempo de forno para o produto. Este acompanhamento seria realizado pela supervisão de produção e registrado na planilha de produção. Caso seja registrado valores abaixo de 90°C as ações devem ser tomadas de acordo com o procedimento para produtos não conformes.

A temperatura interna na saída do forno deve ser maior que 90°C. O forneiro deve realizar a medida a cada batelada e fazer o registro em planilha de produção. Em caso de desvio a supervisão é alertada. O produto é então tratado como produto não conforme, que poderá ser reprocessado, ou descartado. A sugestão é colocar um limite mais próximo à temperatura dimensionada para o processo, que é próxima a 95°C, para poder monitorar também variações que possam afetar a umidade e atividade de água. Neste caso seriam tomadas ações corretivas que não seriam imediatas, que seria a análise dos parâmetros físico-químicos 24 horas após embalados e verificação da curva de forno do produto até 24 horas após o desvio.

Estas ações têm um impacto direto na ocorrência de fungos filamentosos e leveduras após o forneamento, principalmente por causa da umidade e atividade de água. A utilização de PPR operacionais para controle de bolores e leveduras não é indicada para não desviar o foco que é a segurança, mas é de grande importância na indústria de panificação, por isso deve ser discutida em material de apoio ao Sistema HACCP.

## **4.2.8 Desenformação e Retira de Tampa**

### 4.2.8.1 Identificação dos perigos

Apenas perigos associados a equipamentos contaminados e manipuladores, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus*.

### 4.2.8.2 Avaliação dos perigos

A operação é automática, sem contato manual; em caso de falha do sistema há o contato do operador com a forma. Como o produto está acima de 80°C e os perigos associados à etapa possuem baixa resistência térmica, a probabilidade de contaminação é considerada baixa.

### 4.2.8.3 Avaliação das Medidas de Controle

Controle de higienização do equipamento deve ser realizado assim como higiene e saúde de manipuladores

## **4.2.9 Resfriamento**

### 4.2.9.1 Identificação dos Perigos

Os perigos são: *Bacillus* spp., células vegetativas presentes no ar e equipamentos, esporos que sobreviveram ao forneamento, *Salmonella* spp., *S. aureus* e *E. coli*.

Presença de fungos filamentosos e leveduras. A partir desta etapa o controle de contaminação por fungos filamentosos e leveduras se torna crítico.

#### 4.2.9.2 Avaliação dos perigos

*Salmonella* spp., *S. aureus* e *E. coli* probabilidade baixa, associada à contaminação de equipamento e manipulação.

Probabilidade de contaminação por fungos filamentosos alta e por leveduras baixa. Os fungos filamentosos estão presentes principalmente no ar, em equipamentos, manipulação inadequada também é fonte de contaminação.

Um problema recorrente limitando a validade comercial de produtos de panificação de alta umidade é crescimento de fungos filamentosos. Muitos são capazes de crescer com atividade de água maior que 0.8 (SMITH, 2004).

Deterioração de pães por fungos filamentosos ocorre devido à contaminação pós-processamento. Pães frescos saindo do forno são livres de fungos filamentosos e seus esporos devido à inativação térmica durante o forneamento (PATERAS, 2007).

O ambiente dentro de uma panificadora não é estéril por causa de ingredientes secos, especialmente farinha, que contém esporos de fungos filamentosos, e a farinha se espalha facilmente pelo ar. Foi estimado que 1g de farinha contém até 8000 esporos de fungos filamentosos. Em algumas padarias um número similar de esporos fixa-se em 1m<sup>2</sup> de superfície a cada hora (DOERRY, 1990 apud PATERAS, 2007).

Deterioração por fungos em pães deve-se principalmente a *Penicillium* spp.; outros deterioradores comuns são *Aspergillus*, *Monilia*, *Mucorales*, *Neurospora* *Endomyces*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Rhizopus* (RYAN et al. 2008; PATERAS, 2007).

Segundo Spicher (1984 apud SMITH, 2004), durante estudo de um ano, a partir de pães obtidos de 46 padarias e armazenados em sacos plásticos a 22°C por 5 a 6 dias, *Penicillium* spp. estava presente em quase todos os pães,

enquanto *Apergillus* spp. e *Cladosporium* spp. ocorreram em aproximadamente metade dos pães. *P. butonii* foi isolado em até 30 % de todos os pães.

Num outro estudo *Penicillium roqueforti* causou 85% de toda deterioração observada. Ryan et al. (2008) consideraram a linhagem *P. roqueforti* a mais difundida e responsável por 74% da deterioração de pães.

Enquanto bactérias são mais comumente implicadas em surtos de DTA, fungos filamentosos, que frequentemente limitam a validade comercial de produtos de panificação, também podem ser questão de saúde pública. Embora produtos de panificação “embolorados” sejam rejeitados pelo consumidor, fungos filamentosos podem secretar micotoxinas em produtos de panificação sem sinais visíveis de deterioração. Alguns fungos filamentosos, incluindo *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, e *Penicillium* spp. podem secretar uma ou mais toxinas, que podem ser teratogênicas e carcinogênica (TABIBI, 1974; VISCONTI E BOTTALICO, 1983; apud SMITH, 2004).

Exposição a micotoxina pode ocorrer diretamente, por consumo de pães contaminados, e indiretamente, como resultado de pessoas consumindo produtos animais alimentados com pães contaminados. Micotoxinas são muito resistentes e não serão inativadas pelo processamento térmico projetado para eliminação de fungos termorresistentes (PATERAS, 2007).

Um crescimento significativo de fungos filamentosos é necessário para formar micotoxinas em pães e o risco para a saúde pública em países desenvolvidos é mínimo (LEGAN,1993). Os consumidores tendem a rejeitar um pão inteiro, ao invés de cortar a parte “embolorada” visivelmente e comer o resto. O risco indireto via animal alimentado com pão também é mínimo (OSBORNE, 1980 apud PATERAS, 2007).

Em países em desenvolvimento climas úmidos prevalecem, foi evidenciado que *A. ochraceus* é o contaminante dominante de espécies ocratoxigênicas nestes países (ARROYO, 2005)

Arroyo (2005) concluiu que há um risco significativo de contaminação por ocratoxina, produzida por *P. verrucosum*, se forem utilizadas concentrações baixas de conservadores. Ocratoxina A é uma importante micotoxina produzida por *Aspergillus* e *Penicillium*, particularmente *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* e *Penicillium verrucosum*. No estudo realizado, a concentração da micotoxina chegou a 60.000 microgramas/Kg de amostra em 21 dias, até 14

dias estava abaixo de 5.000 microgramas/Kg. A Legislação europeia estabelece 3 microgramas/Kg de alimento como máximo (UNIÃO EUROPEIA, 2006).

Por enquanto, não há evidências suficientes que levem a considerar fungos filamentosos como um perigo em pães, devido às micotoxinas. Estas são consideradas perigos químicos quando associadas as matérias-primas. A exposição ao perigo devido ao desenvolvimento de bolores no produto final é considerada baixa. A Resolução RDC nº 7 , de 18 de Fevereiro de 2011, estabelece como limite máximo tolerado 10 microgramas/Kg de ocratoxina A para produtos de cereais (BRASIL, 2011).

Muitas reclamações de sabor desagradável em pães, quando não relacionado a *rope*, estão associados a leveduras. Contaminações com leveduras selvagens são raras quando o pão é feito por processos curtos, mas podem ocorrer quando fermentações longas ou esponjas são aplicadas (SEILER, 1993, apud PATERAS, 2007).

Leveduras, bem como fungos filamentosos, não sobrevivem ao forneamento, mas o pão pode ser contaminado durante o resfriamento ou fatiamento. A maior fonte de contaminação é contato com equipamento sujo ou produtos, com concentração alta de açúcar, contaminados.

Existem dois tipos de leveduras envolvidas na deterioração de pão (LEGAN; VOYSEY, 1991, apud PATERAS, 2007). O primeiro tipo são as “leveduras fermentativas” e o açúcar presente no pão é fermentado por estas leveduras. A deterioração é manifestada pelo desenvolvimento de um odor alcoólico e de éster. Muitos tipos podem causar este defeito. *Saccharomyces cerevisiae*, que é o fermento, é encontrada com maior frequência. O segundo tipo de leveduras deterioradoras é denominado de “leveduras filamentosas”. São conhecidas como *chalk moulds* porque são brancas e crescem se espalhando na superfície e são confundidas com fungos filamentosos. A espécie mais comum é *Pichia burtonii* que tem a habilidade de crescer rapidamente em pães e tem mostrado mais resistente a conservadores e sanitizantes do que fungos filamentosos. Não produzem toxinas (PITT e HOCKING, 2009; PATERAS, 2007; SMITH, 2004).

#### 4.2.9.3 Avaliação das Medidas de Controle

Controle microbiológico do ar é essencial, além de equipamentos, superfícies e manipulação. A contagem máxima de fungos aceitável em superfícies e mãos de manipuladores é de 15 colônias em 25 cm<sup>2</sup> da placa RODAC.

O monitoramento do controle microbiológico do ar fornece dados para a substituição de elementos filtrantes do sistema de ventilação, e adequações do sistema. O monitoramento para *Bacillus sp.* especificamente não é realizado, mas para outros microrganismos indicadores. O meio utilizado é Agar Batata Dextrose e os microrganismos controlados são fungos, sendo a contagem máxima 30 UFC/placa (50 cm<sup>2</sup>), com um tempo de exposição de 30 minutos.

O método de processamento também tem mostrado efeito na taxa de crescimento de fungos filamentosos. Por exemplo, pão feito de massa sem tempo tem uma validade comercial menor do que pães fabricados pelo método tradicional (PATERAS, 2007).

#### **4.2.10 Seleção e Fatiamento**

##### 4.2.10.1 Identificação dos perigos

Os perigos são: *Bacillus spp.*, células vegetativas presentes no ar e equipamentos, esporos que sobreviveram ao forneamento, *Salmonella spp.*, *S. aureus* e *E. coli*.

Presença de fungos filamentosos e leveduras.

#### 4.2.10.2 Avaliação dos perigos

Após o forneamento a possibilidade de recontaminação é menor, devido à casca com baixa aw e pouco permeável, porém quando o pão é fatiado existe a possibilidade dos esporos de *Bacillus* serem transferidos para o miolo úmido (BAILEY; VON HOLY, 1993). No fatiamento há o risco da contaminação por *Bacillus* spp, fungos filamentosos e leveduras, pois o miolo, mais úmido que a casca, fica acessível.

A probabilidade de contaminação com *Bacillus* spp. do ar e equipamentos é baixa.

A probabilidade de ocorrência de fungos filamentosos no ar, equipamentos e manipulação é alta, já a probabilidade de ocorrência de leveduras baixa.

A probabilidade de contaminação com *E. coli*, *Salmonella* spp. e *S. aureus* é baixa.

#### 4.2.10.3 Avaliação das Medidas de Controle

Higienização do equipamento é a principal medida de controle, lâmina contaminada levará a contaminação para o miolo que é mais suscetível ao crescimento microbiano. Controla todos os perigos identificados.

A qualidade do ar, para controle de fungos filamentosos, leveduras e *Bacillus*, superfícies, e manipulação, para todos os perigos, também deve ser controlada.



## 4.2.11 Embalagem

### 4.2.11.1 Identificação dos perigos

Os perigos são: *Bacillus* spp., células vegetativas presentes no ar e equipamentos, esporos que sobreviveram ao forneamento, *Salmonella* spp., *S. aureus* e *E. coli*.

### 4.2.11.2 Avaliação dos perigos

Probabilidade de contaminação com fungos filamentosos alta, pois podem estar presentes no ar, equipamento e superfícies, e também a contaminação ocorre através de manipulação inadequada.

Contaminação por *Bacillus* spp. presentes no ar e equipamentos, devido à exposição do miolo é baixa.

Probabilidade de contaminação por *S. aureus*, *E.coli* e *Salmonella* spp. é baixa.

Produtos podem ser embalados antes de serem completamente resfriados. Isto resulta em condensação de umidade dentro da embalagem e na superfície do produto, condições que conduzem ao crescimento de fungos filamentosos (SEILER, 1968, apud SMITH, 2004).

A casca do pão é bem seca, se a umidade relativa na atmosfera estiver abaixo de 90% fungos filamentosos não irão crescer. Tais microrganismos são relativamente lentos para se desenvolverem, então em climas secos a superfície de um pão fatiado pode estar seca antes do crescimento de bolor ser suficiente para ser visível. Em atmosferas úmidas, e em pães embalados, fungos filamentosos irão crescer rapidamente, pois a embalagem previne a

perda de umidade. Pães fatiados são mais suscetíveis à contaminação por fungos filamentosos devido à exposição da parte interna (PATERAS, 2007).

#### 4.2.11.3 Avaliação das Medidas de Controle

A temperatura de embalagem do produto é crítica para fungos filamentosos, o limite de temperatura é de 42°C. Outros perigos também serão controlados por este parâmetro, pois a umidade do produto ficará dentro da especificação, se as medidas anteriores forem seguidas. Este deve ser mais um PPR operacional. O seu controle é simples, deve ser realizado pelo líder de embalagem para 4 amostras de cada batelada e anotado na planilha de produção. Em caso de desvio a supervisão deve ser alertada. Para garantir que o resfriamento seja eficiente, deve-se verificar o tempo de resfriamento, se a exaustão e ventilação estão ligadas e a temperatura ambiente.

A qualidade do ar, para controle de fungos filamentosos, leveduras e *Bacillus* spp., equipamentos, superfícies, e manipulação, para todos os perigos, também deve ser controlada. Para fungos filamentosos e leveduras esta etapa do processo é crítica e desvio em qualquer um dos pontos controlados por pré-requisitos e pré-requisito operacional resulta em grande probabilidade de ocorrência de bolor.

#### **4.2.12 Empilhamento e Expedição/Distribuição**

Perigos Biológicos não foram identificados para esta etapa. Os produtos já estão embalados, e o risco de contaminação por manipulação, equipamentos, superfícies ou ar contaminados são improváveis. Só ocorrem em caso de falha no fechamento da embalagem, ou ruptura. Medida de controle aplicada na expedição é o *checklist* de caminhão.

## 4.3 PRODUTO FINAL

### 4.3.1 Identificação dos Perigos

No produto final os perigos que são encontrados com maior frequência são esporos de *Bacillus* spp., que podem germinar e crescer ao longo da validade comercial. *Salmonella* spp., *E. coli* e *S. aureus* são perigos à segurança do produto final. Fungos filamentosos e leveduras também são encontrados, mas não são considerados perigos (RYAN, 2008; EFSA, 2005, PATERAS, 2007; SMITH, 2004).

### 4.3.2 Avaliação dos Perigos

A ocorrência de *Salmonella* spp., *S.aureus* e *E. coli* tem probabilidade muito baixa de ocorrer se as medidas para as etapas anteriores forem tomadas. Pode-se considerar um produto final inócuo.

Durante a validade comercial do produto existe probabilidade de germinação e crescimento de *Bacillus* mesmo com as medidas de controle adotadas durante o processo, e com contagens iniciais dentro dos limites estipulados. Mais barreiras são necessárias para evitar o crescimento ao longo da validade comercial, pois o pH e aw do produto permitem o crescimento destes microrganismos.

Para fungos filamentosos e leveduras também existe a probabilidade de ocorrência, pois as medidas de controle apontadas anteriormente mesmo sofrendo pequenas variações resultam em produtos deteriorados.

### 4.3.3 Avaliação das Medidas de Controle

Adição de propionato de cálcio 0,4 a 1,0% é uma medida de controle para *Bacillus* spp. e fungos filamentosos e leveduras no produto final. Esta medida sozinha não é suficiente para controlar os perigos, todas as medidas de controle citadas no processo devem estar devidamente implementadas e dentro dos limites estabelecidos. Os parâmetros físico-químicos do produto devem estar dentro da especificação: pH, 5,1 a 5,3, aw máxima 0,98 e umidade entre 34 e 38% (KAUR, 1986; ROSENQUIST E HANSEN, 1998; PATERAS, 2007 ; RYAN, 2008).

O propionato de cálcio, INS 282, segundo a legislação Resolução nº 386, de 5 de agosto de 1999 e o *Codex Alimentarius* (CAC, 1995) não tem concentração restrita para uso em pão restrita. Na legislação europeia (UNIÃO EUROPEIA, 1995) é limitado a 3000mg/Kg na forma de ácido propiônico.

Segundo King (1981 apud SMITH, 2004) um bom conservador químico ou natural deve ter os seguintes atributos: ter um espectro antimicrobiano amplo, não ser tóxico para humanos, ser efetivo em baixas concentrações, ter um efeito mínimo no pH dos produtos, não deve afetar o aroma, cor e sabor dos produtos na quantidade utilizada pretendida, estar disponível na forma seca, ter uma boa solubilidade em água, não ser corrosivo, ser estável durante armazenagem, não ter efeitos adversos na fermentação ou características no pão, e ter bom custo-benefício.

Agentes antimicóticos como propionatos e sorbatos, reduzem o risco de crescimento e produção de micotoxina em pão (LENNOX e McELROY, 1984)

Em três produtos analisados da linha de Pães Brancos, a umidade excedeu o limite superior da especificação em 5 ocasiões, na análise mensal realizada durante um ano. Este dado sugere que deve ser realizado um acompanhamento dos parâmetros de absorção, forneamento, e a umidade do produto final.

Nas análises físico-químicas mensais realizadas em 2011, em 3 diferentes pães brancos da linha de produção, foi verificado que o valor de aw foi menor que 0,960 em todas as análises realizadas. Um estudo com maior

frequência de amostragem pode ser realizado para reduzir o limite superior da especificação dos produtos da linha.

O pH é um importante parâmetro porque influencia na dissociação do ácido propiônico, e também a inativação de microrganismos na etapa de forneamento. Em 2011 foi registrado pH acima da especificação 5,1 a 5,3, em 2 meses. Para controle de *B. cereus* o EFSA recomenda pH abaixo de 4,5 e aw abaixo de 0,92, neste processo não é possível alcançar estes valores.

Não há documentação de apoio que justifique validade comercial de 12 dias, do ponto de vista da segurança de alimentos. Levando em conta a qualidade, o *staling* e a rancidez dos lipídeos são os principais fatores que limitam a vida útil

#### **4.4 DESCRIÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PRODUTO ACABADO**

A verificação das condições microbiológicas é realizada através de análise mensal do produto acabado, conforme especificações da Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

A única referência utilizada na empresa para o produto é a Resolução RDC nº 12, Coliformes a 45°C < 10<sup>2</sup> UFC/g e *Salmonella* sp. ausente em 25g. Diversos estudos apontam a possível presença de *Bacillus* spp. em pães, mesmo considerando contagens iniciais baixas em matérias-primas, menores que o limite da legislação para matérias-primas. As contagens de referência, Resolução RDC nº 12, não são apresentadas no Manual HACCP da empresa, mas deveriam para guiar os objetivos de cada etapa e o objetivo final de segurança do alimento a ser alcançado. O objetivo de um Sistema HACCP é evitar a ocorrência de patógenos, em níveis acima dos aceitáveis, no produto final. Os objetivos devem ser apresentados para os perigos identificados em cada etapa do processo ou matéria-prima. Então níveis de *Bacillus* spp., *E.coli* e *S. aureus* devem ser definidos para o produto final, e apresentados, mesmo que não seja necessária a análise frequente destes no produto final. No programa de análise de produto acabado na empresa são analisados os

seguintes microrganismos: *Salmonella* spp., *E.coli*, Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C, Fungos Filamentosos e leveduras.

Para *Staphylococcus* Coagulase Positiva a Resolução RDC nº12 apresenta o limite de  $5 \times 10^2$  UFC/g para produtos semi-elaborados da categoria 10 (Farinhas, Massas Alimentícias, Produtos Para e de Panificação, (Industrializados e Embalados e Similares) e  $5 \times 10^3$  UFC/g para massas. Esta pode ser uma primeira referência de nível seguro para ser utilizado como objetivo. Porém, pelas características do processo, este limite pode ser a ausência, assim como para *E.coli*.

Além de presença em matérias-primas, vários estudos demonstraram a presença de *Bacillus* em pão, causando *rope* e também DTA. Níveis de *Bacillus* spp. devem ser menores do que  $10^3$  UFC/g para se garantir a segurança, pois foram registrados casos de intoxicação com presença de *Bacillus* spp. nesta quantidade (EFSA, 2005).

#### 4.5 CONSIDERAÇÕES

Na revisão da análise de perigos o principal ponto levantado foi avaliação de perigo de *Bacillus* spp., que na empresa apenas *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. Licheniformis* foram apontados como tendo probabilidade maior de ocorrer em níveis maiores que os aceitados em produtos finais, e a severidade desses perigos é semelhante à de *B. cereus*, devido a características da DTA. A princípio, as medidas de controle aplicadas na empresa são adequadas para estes perigos que não haviam sido identificados, no entanto é necessário validar as medidas de controle.

Também foi demonstrada a importância da medida de controle de conservador propionato de cálcio em um nível acima de 0,4% base farinha. Esta medida previne a germinação e crescimento de *Bacillus* spp., que pode ocorrer mesmo com contagens no produto próximas a 10 UFC/g no dia da fabricação, e em 3 dias ultrapassar  $10^5$  UFC/g, que já é uma contagem que

afeta a segurança do alimento. No Manual HACCP da empresa não há referência a quais perigos o conservador controla.

Outro tema que não é abordado nos documentos do Sistema HACCP da empresa é a ocorrência de fungos filamentosos e leveduras no produto acabado. Embora não sejam perigos, seu controle na produção de produtos de panificação é essencial, e tão complexo quanto o controle de qualquer outro microrganismo que é perigo biológico. Portanto, é de interesse da empresa e do consumidor, que as ferramentas do Sistema HACCP sejam utilizadas para tratar da contaminação dos produtos por bolores e leveduras.

Segundo Batista (2003) perigos com combinações baixa-alta, média-média, média-alta ou alta-alta, devem ser levados para o plano HACCP, nenhuma dessas combinações foi encontrada no processo.

O fato de não haver histórico de ocorrência nos resultados das análises microbiológicas realizadas de produto foi considerado resultado da eficácia das medidas de controle relacionadas às boas práticas de fabricação no controle destes perigos

Considerou-se que todos os perigos biológicos significativos, relacionados à contaminação por microrganismos patogênicos, são eliminados ou têm sua possível ocorrência reduzida a níveis aceitáveis com as medidas de controle apresentadas no processo e não há uma necessidade de se incluir novos controles ou alterar o processo.

Todas as medidas de controle discutidas são parte de programa de pré-requisitos ou são pré-requisitos operacionais; não foi evidenciada a necessidade de tratar nenhuma destas como ponto crítico de controle.

Para o controle de *Bacillus* spp., ao longo do processo, devem ser controlado: a contagem inicial nas matérias-primas e massa, a concentração de conservador, o tratamento térmico, com controle de tempo e temperatura para reduzir a sobrevivência de esporos, e os parâmetros físico-químicos do produto acabado. O crescimento de *Bacillus* não é inibido somente pelo pH e aw do pão quando armazenado entre 25 e 30°C. É importante ressaltar que nenhuma das medidas de controle atuando sozinha é capaz de controlar o perigo. Além disso, as medidas de controle relacionadas ao programa de Sanidade e programa de Boas Práticas de Fabricação devem estar implementadas, para evitar contaminações no ambiente fabril (BAILEY; VON HOLY, 1993)

Para *Salmonella* spp. é importante que a matéria-prima venha dentro dos requisitos microbiológicos; a ocorrência de presença de *Salmonella* spp. em farinha apresentada nos artigos é muito baixa . Para *S. aureus* e *E. coli* o laudo de análise de matéria-prima também é um importante controle. Para esses perigos o tratamento térmico é suficiente para o controle eficaz. A contaminação por manipuladores é controlada pelo pré-requisito de higiene e saúde de manipuladores, e para equipamentos e superfícies, o programa de sanidade é a base para se garantir critérios satisfatórios para o processamento de alimentos.

Três estratégias básicas podem ser utilizadas para prevenir a contaminação por fungos filamentosos e leveduras, e estender a validade comercial do produto: prevenção de contaminação após o forneamento, destruição de contaminantes na superfície do produto após a embalagem e controle do crescimento de contaminantes no produto embalado

Embora tenham ocorrido avanços para prevenir contaminação com esporos de bolores após o forneamento, resultados têm sido alcançados com sucesso limitado. Então, as atenções têm se voltado para métodos, de modo a controlar e destruir qualquer contaminação com esporos de bolor após o processamento. Alguns exemplos de métodos são luz ultravioleta, radiação infravermelha, aquecimento por microondas, irradiação, pulso de luz e alta pressão. A maioria destas técnicas não é empregada para produtos de panificação devido ao custo, e a algumas alterações sensoriais e das propriedades das embalagens (SMITH, 2004).

O controle de crescimento de contaminantes pós-forneamento é a estratégia mais prática e econômica utilizada pela indústria de panificação. Pode ser realizado pela redução da atividade de água do produto, pelo uso de conservadores químicos incorporados diretamente no produto ou aplicados na superfície em forma de *spray*, ou pela utilização de atmosfera modificada, utilizando embalagem com gás ou *sache* interativo (SMITH, 2004).

A reformulação de produto para reduzir pH e *aw* pode ser utilizada para aumentar a validade comercial. A redução de pH pode ser atingida através do uso de acidulantes, como ácidos orgânicos ou culturas de bactérias lácticas. Redução de atividade de água pode ser alcançada através da adição de solutos, como açúcar, sais, poliólcoois, ou produtos de leite fracionado.



Entretanto, a limitação desta abordagem, particularmente para controle de deterioração por fungos filamentosos, é que o nível do efeito inibitório dos solutos requerido para a inibição pode resultar em efeitos adversos nas propriedades sensoriais e de textura do produto. Embora o uso de umectantes possa superar este problema, é uma abordagem com maior custo.

Para garantir a eficácia das medidas de controle, e suas combinações, é necessária a validação, que é apresentada no próximo item.

## **5 VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE**

### **5.1 INTRODUÇÃO**

A validação é definida pelo *Codex Alimentarius* (2008) como sendo a obtenção de evidências que uma medida de controle, ou uma combinação de medidas de controle, se implementadas propriamente, são capazes de controlar o perigo para um resultado especificado.

Leaper and Richardson (1999) consideram a verificação como chave na garantia de alimentos seguros, para confirmar que o sistema HACCP está funcionando efetivamente. Atividades de validação devem ser utilizadas para apoiar o princípio de verificação. Técnicas de validação envolvem a quantificação de dados, sua análise e seu uso para garantir a segurança dos produtos.

Além de definir o que é validação, é necessário entender o momento em que deve ser realizada. Segundo Leaper and Richardson (1999), validação pode ocorrer durante o desenvolvimento do plano HACCP, durante a implementação do sistema e durante a subsequente manutenção do sistema.

Nas diretrizes do *Codex Alimentarius*, para validação a sugestão é que deve ser realizada no momento em que uma medida de controle ou um sistema de controle de segurança alimentar é projetado, ou quando mudanças indicam necessidade de revalidação. A validação de uma medida de controle é sempre que possível realizada antes da implementação. O estabelecimento coleta os dados necessários, testando repetidamente a adequação das etapas do processo para estabelecer que atendam aos parâmetros projetados e atinjam o resultado pretendido. Estes dados se tornam parte da documentação de apoio da validação. (CAC, 2008; FSIS 1996).

Na empresa, a validação não foi realizada antes da implementação. Normas internas da empresa foram utilizadas para definir medidas de controle, mas a eficácia destas medidas não foi verificada.

Exemplo de alguns controles que necessitam ser validados são pontos críticos de controle, programas de pré-requisito, prevenindo que um perigo seja provável de ocorrer, especificações adquiridas, formulação de produtos, onde a formulação contribui para a segurança do produto, e instruções de cocção (FSIS, 1996).

## **5.2 DIRETRIZES PARA A VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE DO SISTEMA HACCP**

### **5.2.1 Etapas preliminares à validação**

Antes de realizar a validação, algumas tarefas devem ser executadas:

a) Identificar os perigos que se pretende controlar na *commodity* e/ou ambiente em questão, levando em consideração todas as informações relevantes, incluindo informação de uma avaliação de risco disponível (CAC, 2008).

Esta parte da validação foi cumprida na revisão da análise de perigos; a avaliação de risco utilizada foi da EFSA para *Bacillus* spp..

b) Identificar os resultados de segurança alimentar estabelecidos por autoridade competente, relevante para o uso pretendido do produto (CAC, 2008).

A RDC nº 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 2001), que define padrões microbiológicos sanitários para alimentos, torna obrigatória para pães apenas a análise de *Salmonella* sp., sendo a tolerância máxima para amostra indicativa definida com ausência em 25g, e análise de Coliformes a 45 °C, com tolerância máxima 10<sup>2</sup> UFC/g; não inclui a análise de *B. cereus*, ou

outros microrganismos discutidos na análise de perigos biológicos do presente trabalho

Na ausência de resultados ou metas de segurança alimentar estabelecidos, metas devem ser identificadas pela indústria. Metas definidas pela indústria devem ser mais estritas que aquelas definidas pela autoridade competente.

c) Identificar as medidas que serão validadas, levando em conta:

A importância da medida de controle para alcançar o controle do perigo para um resultado específico.

Identificar se a medida de controle foi validada previamente de modo que é aplicável e apropriada para a empresa do setor alimentar, ou se o desempenho é tão bem estabelecido para a aplicação em consideração que uma validação adicional não é necessária (CAC, 2008).

Mesmo que as medidas de controle para pão sejam bem estabelecidas, é ressaltado pela CAC (2008) que o operador deve garantir que as condições de operações não difiram das condições em que as medidas de controle foram validadas. Para muitos cenários de produção de alimentos, existe um extenso histórico de medidas de controle específicas eficazes. Entretanto, é importante evitar presumir que um sistema de produção é seguro baseado somente no histórico.

Embora a legislação estabeleça um padrão microbiológico para farinhas, massas secas e frescas, e também para produtos semi elaborados de panificação, que torna obrigatória a análise de *B. cereus*, não o faz para pães e outros produtos que passam pelo processo de forneamento, indicando que os produtos que passam por esta etapa apresentam risco reduzido de contaminação por *B. cereus*. Porém, outras espécies de *Bacillus* spp. podem sobreviver. Além da legislação, outros trabalhos discutidos na análise de perigos apontam a etapa como redutora da contagem de *Bacillus* spp. no produto acabado. Porém, os dados apresentados nos artigos não apresentam dados de temperatura do produto, durante o tempo de tratamento térmico, não podendo ser aceitos como validação do forneamento. Portanto, não é possível garantir que para qualquer processamento térmico o produto final será seguro.

Se avaliarmos as outras etapas do processo que irão influenciar a contagem de *Bacillus* spp. no produto, esta incerteza sobre a segurança do produto se torna ainda maior. Para garantir a segurança do produto é necessário validar a etapa de fornecimento, em conjunto com as outras etapas que controlam o perigo, que é *Bacillus* spp..

### **5.2.2 Processo de Validação**

Para se realizar a validação é necessário que sejam cumpridas duas etapas, segundo as diretrizes do *Food Safety and Inspection Service* (FSIS, 1996). O *Codex Alimentarius* apresenta o processo com cinco diferentes abordagens que podem ser utilizadas individualmente ou combinadas (CAC, 2008) e este trabalho seguirá as duas etapas do FSIS apresentando as diferentes abordagens do *Codex Alimentarius*.

#### **5.2.2.1 Parte científica ou apoio técnico para o sistema HACCP**

A FSIS define esta parte como a busca de evidências que podem ser: princípios teóricos, conselho de especialista e de autoridade, dados científicos, artigos de revistas científicas revisadas, requisitos regulamentares, diretrizes publicadas, programas de modelagem de patógenos, dados recolhidos na planta, ou outras informações que demonstram que medidas de controle particulares podem tratar adequadamente perigos específicos. Uma prova ou estudo com inoculado que é projetado para determinar a letalidade ou estabilização de um processo, também é um exemplo de documentação científica de apoio.

Esta etapa da validação é cumprida por este trabalho nos capítulos de revisão e análise de perigos, e neste capítulo com a validação das medidas de

controle de inativação microbiana, conservadores, e a combinação das medidas de controle.

Uma ferramenta destacada pela CAC (2008) é a modelagem matemática, como modelos de crescimento de patógenos para avaliar o impacto de mudanças no pH e atividade de água no controle de crescimento de patógenos ou uso de modelos do valor z para determinar condições de processamento térmico alternativas. Validação baseada somente no uso de modelo matemático deve levar em consideração os limites de incerteza/variabilidade dos modelos preditivos.

Grandes corporações com múltiplos estabelecimentos muitas vezes realizam estudos em um estabelecimento para obter informações científicas para validar uma intervenção e então estender o uso da intervenção para outros estabelecimentos dentro da corporação. Para o estabelecimento em que os dados foram recolhidos, a FSIS consideraria os dados como dados recolhidos na planta e, portanto atenderia ambas as partes da validação. No entanto, para estabelecimentos para os quais o uso da intervenção foi estendido, os dados atendem apenas a primeira parte da validação. Os estabelecimentos ainda teriam que demonstrar que as intervenções irão funcionar como pretendido em cada um desses estabelecimentos. Este é o caso da empresa, parâmetros da temperatura interna do produto no forneamento utilizados em outras plantas, servem como referência, mas têm que ser levados a segunda parte da validação. Também é necessário documentar a primeira parte corretamente.

#### 5.2.2.2 Demonstração prática na planta provando que o sistema HACCP pode ser executado como esperado

Esta etapa trata de observações na planta, medições, resultados de testes microbiológicos, ou outras informações demonstrando que as medidas de controle podem ser implementadas em um estabelecimento em particular para atingir resultado pretendido do processo (FSIS, 1996).

Este trabalho tem como objetivo além de oferecer o suporte técnico para a validação do sistema aplicado a planta, também elaborar o programa de análises necessárias para cumprir o segundo passo e validar as medidas de controle.

Para validar uma intervenção, deve-se primeiramente identificar os parâmetros operacionais críticos que podem ser monitorados no processo. Estes parâmetros são identificados em documentos reunidos como parte do passo um da validação. Parâmetros críticos são os elementos de uma intervenção que devem ser cumpridos para a intervenção poder operar eficazmente e devem ser incorporados no sistema HACCP.

O *Codex Alimentarius* (CAC, 2008) define o controle de tempo e temperatura no processo como um importante controle. Aponta como uma das causas mais comuns de ocorrência de doenças transmitidas por alimentos ou de deterioração dos mesmos o controle inadequado da temperatura. Exemplifica as etapas que devem incluir controles de tempo e temperatura: cocção, resfriamento, processamento e armazenamento. Indica também que deve-se implantar sistemas que garantam um controle eficaz da temperatura, quando a mesma for essencial para a segurança e a adequação dos alimentos. Além disso, reforça que os sistemas de controle de temperatura devem considerar: a natureza do alimento (atividade de água, pH e prováveis tipos e carga inicial de microrganismos), a vida útil pretendida do produto, o método de embalagem e processamento e a forma de uso do produto. Segundo o *Codex Alimentarius*, tais sistemas devem especificar também os limites toleráveis para as variações de tempo e temperatura. Os dispositivos de registro de temperatura devem ser verificados a intervalos regulares e avaliados quanto a sua exatidão.

É preciso demonstrar que a intervenção implementada dentro do ambiente específico do estabelecimento realmente atinge os efeitos documentados na documentação científica de apoio. Deve-se reunir os dados de cada intervenção e os dados das análises microbiológicas de vários pontos para garantir que o projeto de múltiplos obstáculos irá resultar na produção de produtos seguros e não adulterados. Uma maneira de fazer isso é reunir dados microbiológicos testando matérias-primas e produtos acabados, incluindo a

enumeração de indicadores e testando presença/ausência para os perigos para segurança alimentar identificados (FSIS, 1996).

Todas as análises microbiológicas realizadas no programa de análises de produtos acabados da empresa em 2011 registraram a ausência de patógenos e adequação dos indicadores à legislação vigente. Este é um forte indício que o processo é seguro, a dúvida é qual a etapa ou combinação delas que está sendo efetiva no controle do perigo. Este conhecimento é essencial para prevenir futuras mudanças que possam afetar a segurança do processo. O ajuste na curva de forneamento para melhorar a qualidade do produto é um exemplo de mudança que pode impactar na segurança do produto.

### **5.3 VALIDAÇÃO DAS MEDIDAS DE CONTROLE**

A parte científica da validação da inativação de microrganismos no forneamento, e do controle de crescimento, por meio de conservador, ao longo da vida-de-prateleira é apresentada, assim como a combinação de medidas de controle.

#### **5.3.1 Inativação de Microrganismos-Tratamento Térmico**

Alimentos possuem propriedades reológicas e físicas que são dependentes do tempo e processo e que apresentam variação natural. Portanto, é difícil especificar as características físicas de tal forma que permite uma predição precisa do processo. A indústria de alimentos precisa assegurar que todas as partes do produto tenham sido processadas o suficiente, sem perda inaceitável de qualidade. Convencionalmente, alimentos são super-processados para garantir a segurança. Algumas margens de segurança são



adicionadas para garantir que todas as partes do material são seguras (FRYER; ROBBINS, 2005).

Muitos processos têm uma etapa de tratamento térmico para reduzir o número de microrganismos no produto. Que algumas bactérias podem sobreviver ao forneamento de pães é evidente, pelo bem conhecido defeito *rope*, que é causado pelo desenvolvimento de esporos normalmente presentes em matérias-primas (FARMILOE et al, 1954).

A combinação requerida de temperatura e tempo de um tratamento térmico é determinada, usualmente baseada em *challenge tests*, legislação e experiência. Para avaliar a adequação de uma etapa de tratamento térmico, pode-se estimar a redução logarítmica de bactérias baseado no conceito de valor  $D_T$  e  $z$ . Inativação térmica de patógenos tem sido estudada extensivamente, o que resultou em uma grande variedade de valores  $D_T$  e  $z$ . Estimar a taxa de inativação para uma condição específica baseada nestes valores é difícil, já que deve ser selecionada para representar as condições e os dados obtidos nas condições exatas nem sempre estão disponíveis (VAN ASSELT; ZWIETERING, 2006).

O método geral é o método mais versátil de cálculo de processo porque é aplicável a qualquer tipo de processamento térmico. Faz o uso direto do histórico de temperatura no centro do produto para avaliar a letalidade (TEIXEIRA, 2006).

O valor de esterilização tradicional valor  $F$  é definido como o tempo de um tratamento térmico na temperatura de referência, geralmente com temperatura de referência a 121°C. O valor  $F$  alvo que depende do nível requerido de segurança e da resistência térmica da espécie alvo é:

$$F = nD^*$$

Aonde  $n$  é a relação de redução decimal e  $D^*$  o tempo de redução decimal na temperatura de referência (MAFART et al., 2002).

$$L(T) = 10^{\frac{T-T^*}{z}}$$

$L$  é a taxa letal.

Como o valor F é aditivo, no caso de temperatura variável do processamento térmico pode ser escrito:

$$F = \int_0^t L(T)dt$$

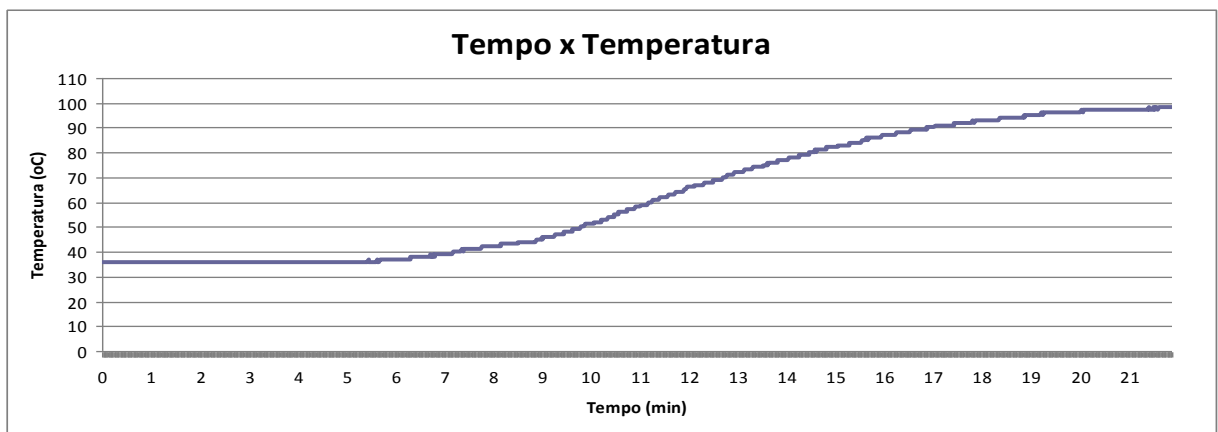
A solução numérica apresentada por Bigelow é:

$$F = \sum L(T_i)\Delta t_i$$

### 5.3.1.1 Perfil de temperatura

A curva de temperatura do forneamento do produto, medida no centro geométrico do produto, considerada para a validação de todos os microrganismos é apresentada na Figura 6.

**FIGURA 6:** Curva de forneamento no centro do produto.



**FONTE:** Próprio Autor (2012)

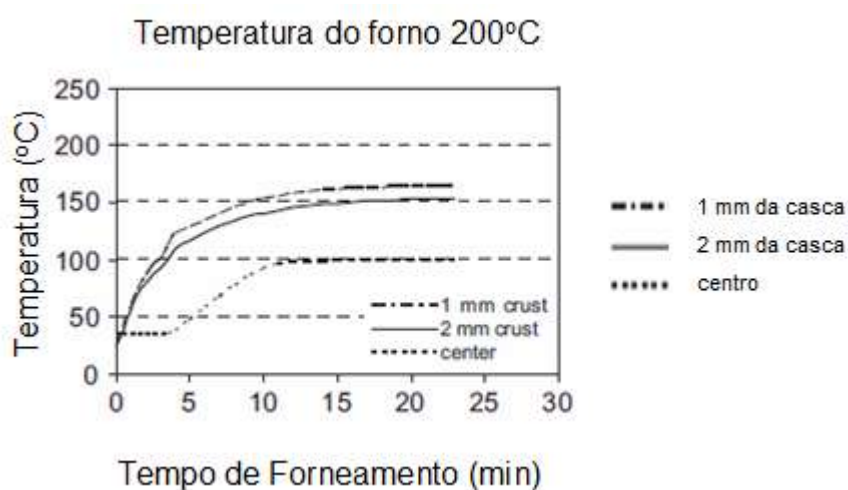
Este perfil de temperatura do processo de forneamento da Empresa A foi obtido através da utilização de termopares tipo K, inseridos na massa do produto, posicionados no centro, e o aparelho SuperM.O.L.E ® Gold para registro de perfis de temperatura. Os registros de temperatura com intervalos

de 1 segundo foram utilizados para a aplicação dos modelos em planilha do Microsoft® Office EXCEL 2003. O forno utilizado no processo é um forno a gás de combustão indireta com 4 zonas de temperatura.

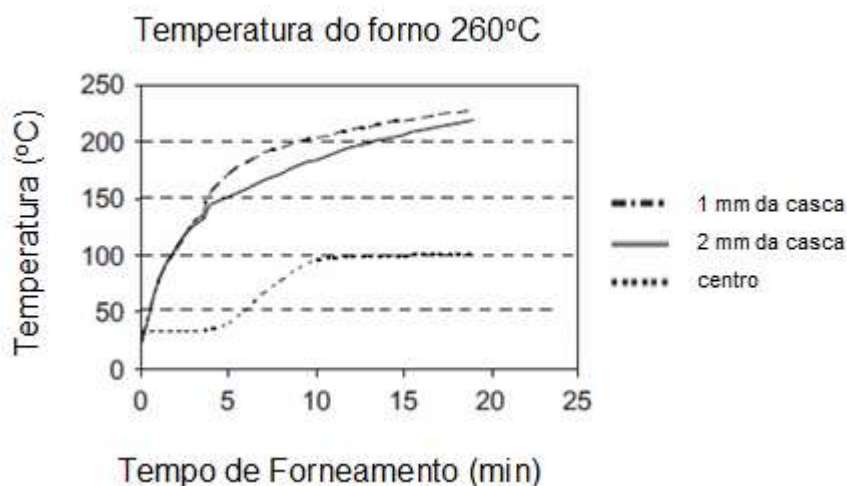
A seguir, são apresentados perfis de temperatura de forneamento de pães encontrados em artigos científicos, e comparados ao registrado no forneamento na empresa.

As figuras 7 e 8 apresentam o perfil de temperatura no miolo e casca (1 e 2 mm) durante o forneamento de pão branco de 200 g, a 200 e 260°C

**FIGURA 7:** Perfil de temperatura durante forneamento a 200°C



**FIGURA 8:** Perfil de temperatura durante forneamento a 260°C

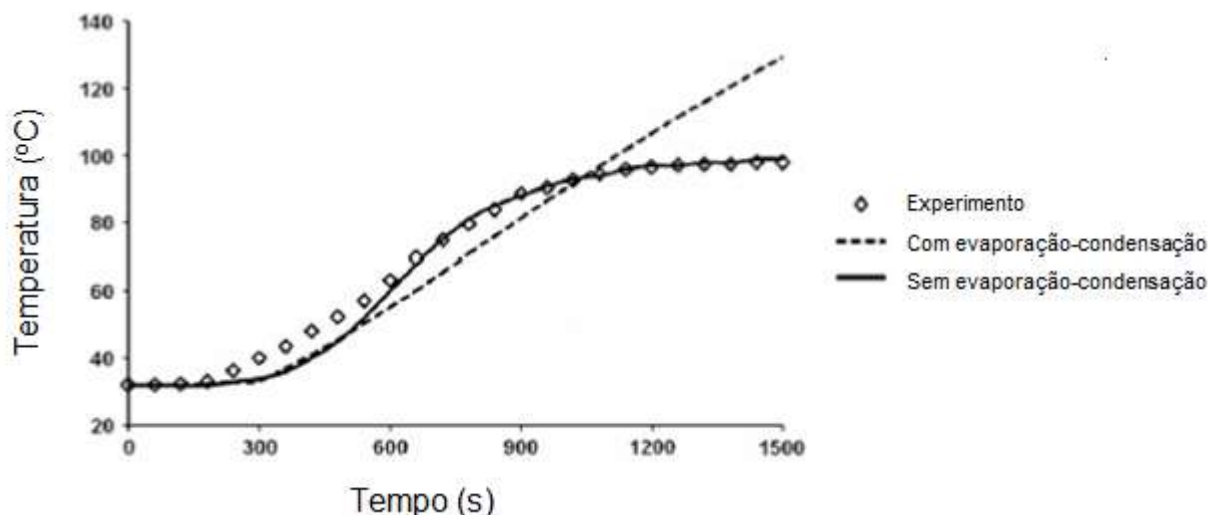


A temperatura no centro do produto está próxima a 100°C em menos de 15 minutos, em comparação com o perfil da empresa esta curva está

adiantada. Com a continuidade do forneamento, até 20 minutos a temperatura se mantém a 100°C.

Chhanwal et al. (2011), realizaram um estudo de modelagem e simulação do forneamento de pão branco. O forneamento do pão levou 25 minutos. Com 19 minutos, a gelatinização foi considerada completa. Este tempo de 19 minutos é recomendado para forneamento de pão branco, para evitar perda de água em excesso. O pão tinha as dimensões de 20 x 10 x 8,5 cm. A Figura 9 apresenta o perfil de temperatura obtida neste estudo no centro do produto.

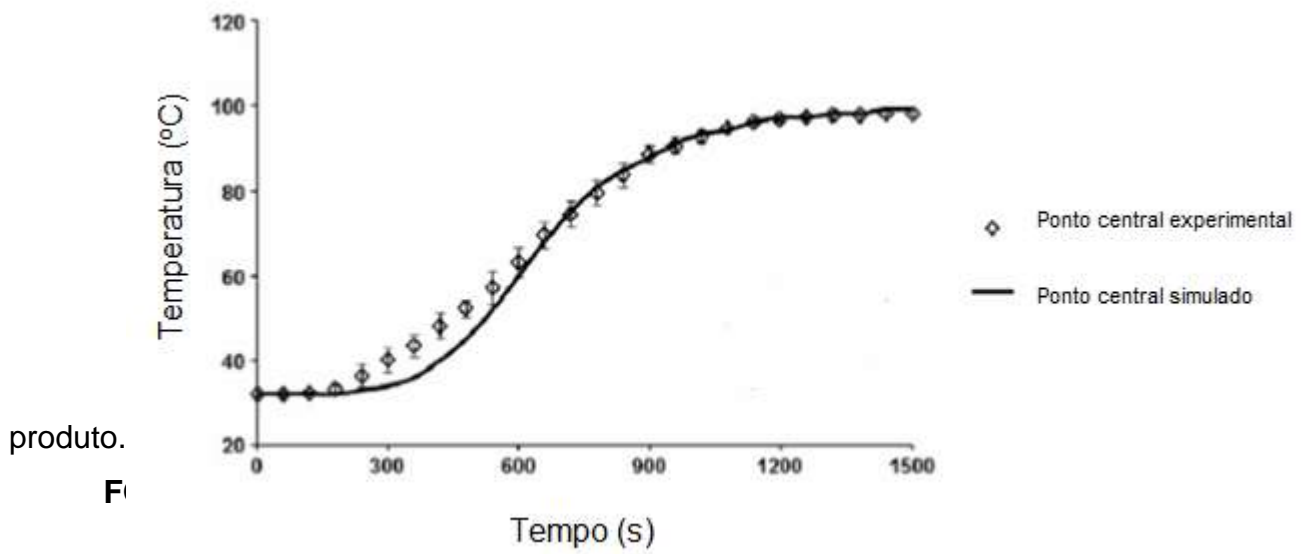
**FIGURA 9:** Perfil de temperatura experimental e simulado, no centro do produto, com e sem mecanismo de evaporação e condensação durante o processo de forneamento.



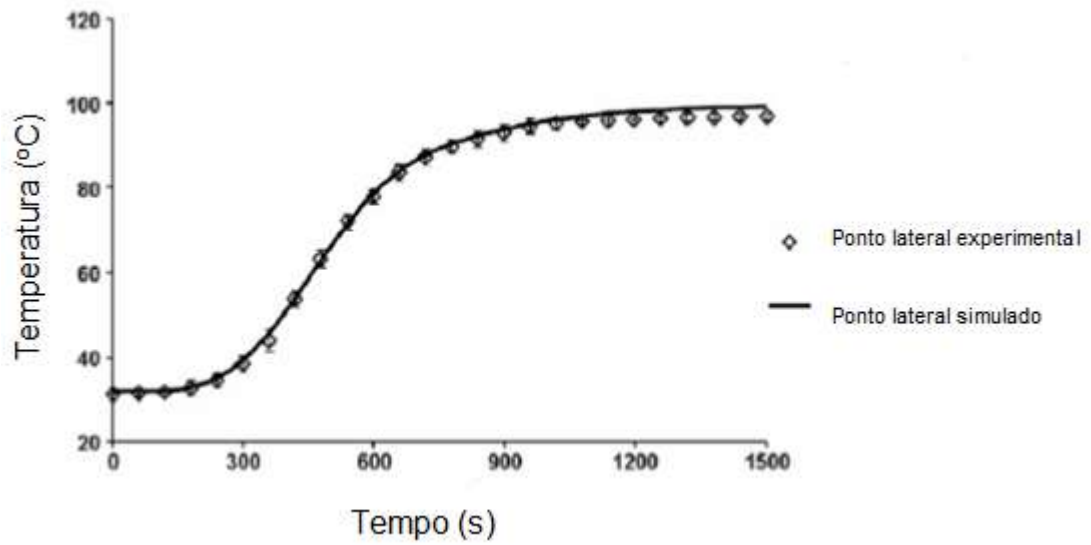
Perfil de temperatura experimental semelhante ao perfil do processo da empresa. Temperaturas próximas a 100 °C atingidas aos 20 minutos de forneamento.

As curvas de validação da simulação CFD com resultados experimentais ,de perfis de temperatura durante o forneamento em várias posições são apresentadas nas Figuras 10 (centro), 11 (lateral, 6,5cm do centro) e 12 (topo ,4cm do centro).

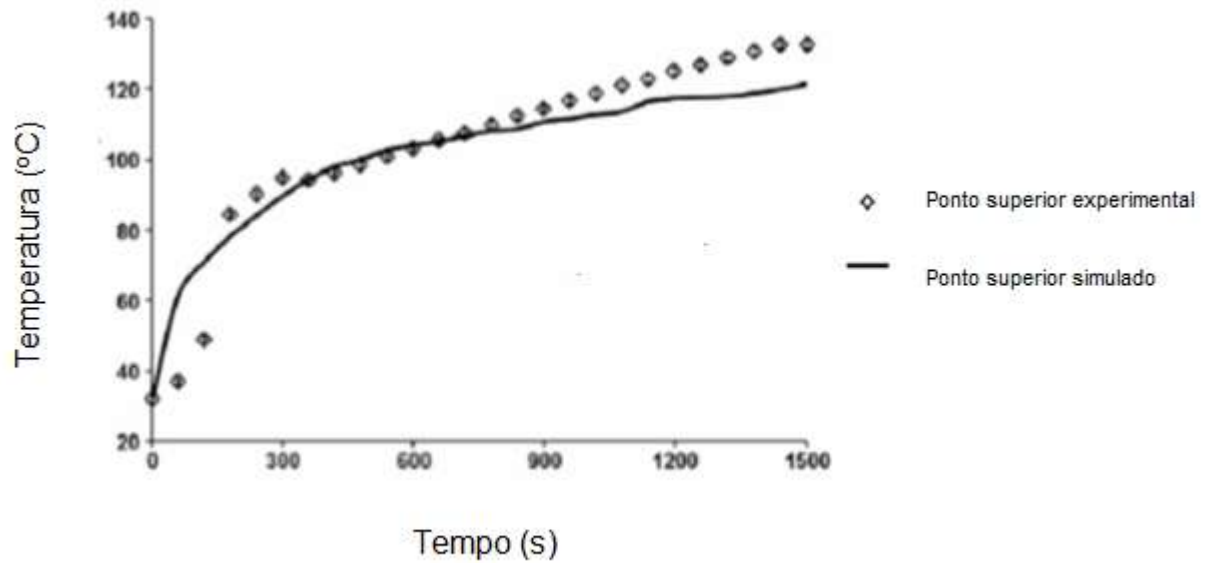
**FIGURA 10:** Perfil de temperatura simulado e experimental no centro do



**FIGURA 11:** Perfil de temperatura simulado e experimental na lateral do produto.



**FIGURA 12:** Perfil de temperatura simulado e experimental no topo do



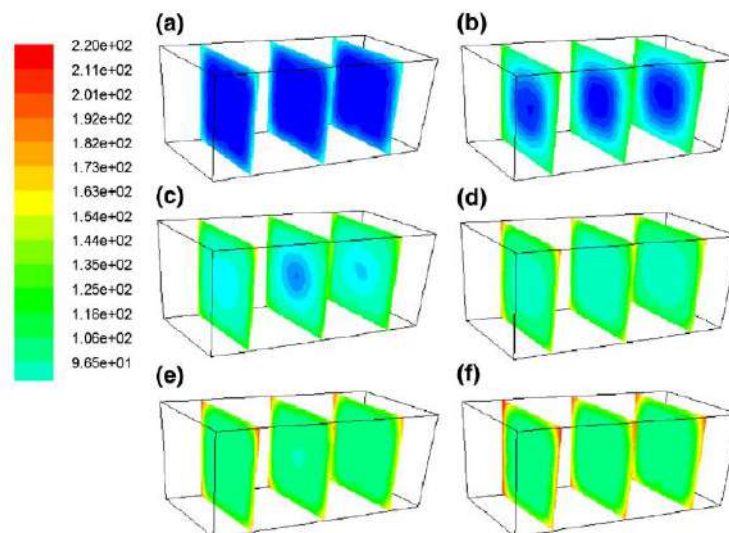
produto.

F

A

forneamento nos instantes (a) 60 s, (b) 300s, (c) 600s, (d) 900s, (e) 1200s e (f) 1500s, a 7,5cm de distância do centro, a esquerda e a direita, na direção radial (Chhanwal et al., 2011).

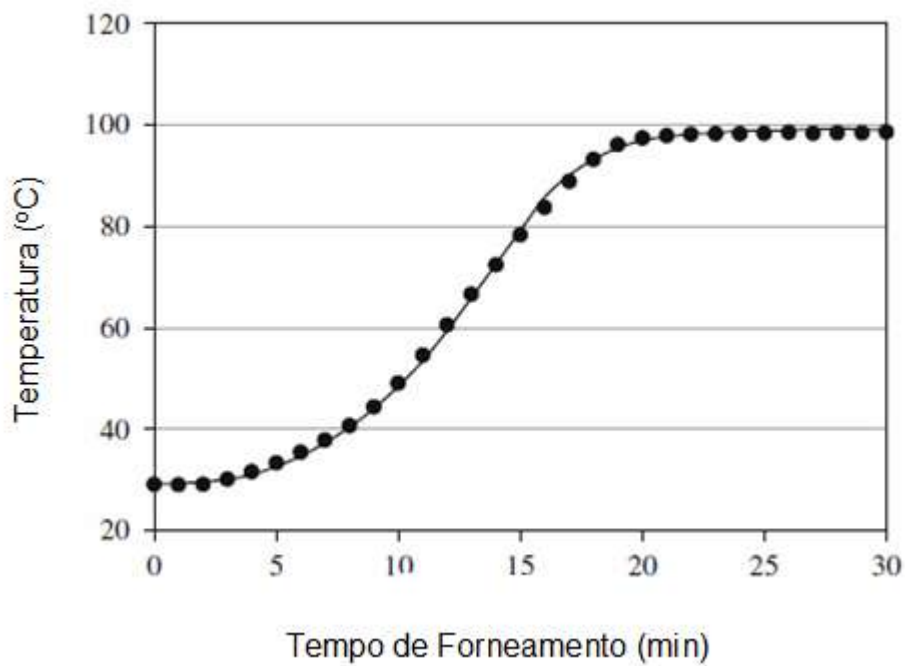
**FIGURA 13:** Perfil de temperatura do miolo durante o forneamento.



Nesses perfis de temperatura pode se observar que o centro do produto se mantém a menos de 96 °C até os 20 minutos de forneamento.

As figuras 14 e 15 apresentam perfis de temperatura durante o forneamento de pães baguete, com superfície completamente exposta (PURLIS E SALVADORI, 2009).

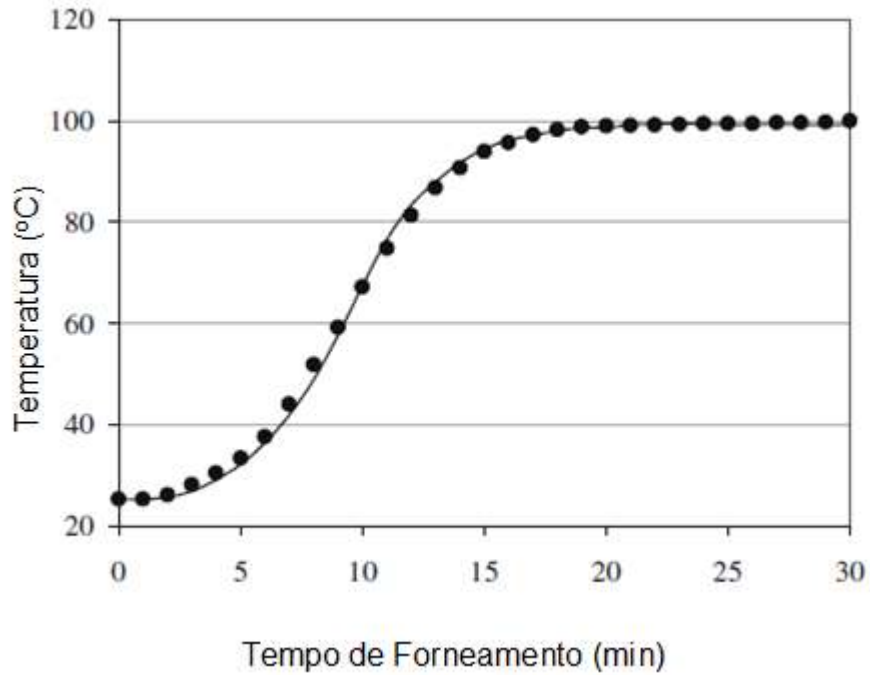
**FIGURA 14:** Perfil de temperatura de forneamento a 220°C sob convecção natural.



Simulado (linha) experimental (círculos)

**FONTE:** PURLIS E SALVADORI, 2009 - Modificado

**FIGURA 15:** Perfil de temperatura de forneamento a 220°C sob convecção forçada.



Simulado (linha) experimental (círculos)

**FONTE:** PURLIS E SALVADORI, 2009-Modificado.

Esses dois perfis também são semelhantes ao do processo estudado, mesmo com o tipo de produto e forma de forneamento diferentes.

Nos perfis apresentados, a temperatura final do centro produto não excede 100°C, como era esperado. As principais diferenças dos perfis são as taxas de aquecimento após os 5 minutos de forneamento, que determinam em quanto tempo o centro do produto irá atingir 100°C. O forneamento deve ser dimensionado para que o centro atinja temperaturas próximas a 100°C após 15 minutos e não deve durar mais que 20 minutos no total, para se obter um produto macio.

### 5.3.1.2 Inativação de *Bacillus* spp.



Embora diversas espécies, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. coagulans* e *B. pumilus* entre outras, tenham sido isoladas de pão branco e matérias-primas (EREM, 2009), apenas *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis* serão consideradas, devido à frequência de isolamento para as duas últimas espécies, e o registro de DTA relacionadas a essas 3 espécies.

#### 5.3.1.2.1 *Bacillus cereus*

A carga de esporos presentes após o forneamento é um dos fatores que claramente determinam o risco de exposição a *B. cereus*. Conseqüentemente o tratamento térmico deve ser dimensionado corretamente, utilizando dados precisos para a linhagem mais resistente envolvida na contaminação dos alimentos (FERNÁNDEZ et al., 1999).

Duas cepas de *Bacillus cereus*, INRA AV Z421 e AV TZ415, foram estudadas. A Cepa INRA AV Z421 é altamente termorresistente e a cepa INRA AV TZ415 é psicrotrófica. Ambas foram isoladas de alimentos cozidos e resfriados contendo vegetais e eram produtores de toxinas (FERNÁNDEZ et al., 2001). Os parâmetros cinéticos para as duas linhagens enterotoxigênicas de *B. cereus* são apresentados na Tabela 5.

**TABELA 5:** Parâmetros cinéticos para as linhagens de *B. cereus* INRA AVZ421 e INRA AVTZ415

Temperatura (°C)	Valor D <sub>T</sub> (min)	
	AV TZ415	AV Z421
85	16,00	–
90	3,93	46,00
95	0,96	11,20
100	0,236	2,76
105	-	0,68
z (°C)	8,19	8,20

**FONTE:** FERNÁNDEZ et al., 2001.- Modificado

O meio utilizado foi água destilada, a ativação dos esporos foi realizada a 80°C por 10 minutos e 85°C por 15 minutos, para as linhagens AV TZ415 e AV 421 respectivamente (FERNÁNDEZ et al., 2001).

Fernández et al. (2001) demonstrou que a variação da taxa de aquecimento da inativação não alterou o valor de  $D_T$  e  $z$ , da linhagem AV TZ415 e o que mais influencia é na fase de ativação. Ativação não isotérmica confere maior resistência aos esporos. De acordo com os resultados, a ativação não isotérmica deve ser selecionada antes de conduzir o experimento de inativação por calor. A maioria dos processos de esterilização de alimentos foi estabelecida usando dados de inativação térmica obtidos sob inativação isotérmica e conseqüentemente tratamento de inativação isotérmico. Porém, esta não é a situação em um processo de esterilização ou cocção.

Para a linhagem AV TZ415, utilizando a temperatura de referência  $95^\circ\text{C}$  e  $z$   $8,19^\circ\text{C}$  foi obtido um  $F$  de processo, para o forneamento na empresa, de 6,11 minutos, utilizando o modelo apresentado por Mafart et al. (2002). Como o  $D_T$  de referência é de 0,96 min a redução estimada da contagem inicial é de 6,36 ciclos logarítmicos. Considerando a contagem inicial de  $3 \times 10^3$  UFC/g na massa, a mesma da legislação para farinha, a final será  $1,30 \times 10^{-3}$  UFC/g. Para a redução da contagem no centro do produto, que é o ponto com menor redução, por apresentar as menores taxas de aquecimento, é um resultado satisfatório. A redução total, considerando todos os pontos do produto, deverá ser maior, pois a curva considerada é do centro do produto, a região que apresenta menores temperaturas ao longo do processo. Este é um resultado esperado por ser uma linhagem não termorresistente.

Para a linhagem AV Z421, com temperatura de referência  $95^\circ\text{C}$  e  $z$   $8,20^\circ\text{C}$ , o  $F$  de processo também é 6,11 min. Com um  $D_T$  de referência de 11,2 minutos, a redução estimada no processo é de apenas 0,55 ciclos logarítmicos. Considerando a contagem inicial  $3 \times 10^3$  UFC/g, a final será  $8,5 \times 10^2$  UFC/g. Esta é uma contagem alta, mesmo para o ponto com menor redução. Mesmo que a redução total do produto seja maior que esta, este número é suficiente para ocorrer crescimento ao longo da vida de prateleira do produto, alcançando rapidamente níveis inaceitáveis para a segurança. Este é um resultado indicativo, pois os dados utilizados no estudo diferem das condições do produto. Um fator que influencia fortemente a resistência da bactéria é o pH, outros fatores também serão discutidos a seguir, e a inativação calculada para outras linhagens de *B. cereus*.

A utilização de calor e pHs ácidos foi um dos primeiros processos combinado utilizados, com objetivo de reduzir a intensidade do tratamento térmico de vegetais enlatados. A resistência ao calor é reduzida com a acidificação. A magnitude deste efeito e a faixa de pH onde é mais amplificado o efeito parece variar não somente entre espécies, mas entre linhagens da mesma espécie (PALOP et al., 1996).

Diversas condições ambientais influenciam a resistência ao calor de bactérias. A temperatura de aquecimento, pH e atividade de água, do meio de aquecimento e recuperação, afetam a resistência aparente ao calor da bactéria. Diversos modelos baseados no modelo de Bigelow foram desenvolvidos. Estes modelos podem ser associados em um modelo multifatorial para descrever a influência das condições do meio de aquecimento e recuperação no valor  $D_T$ . LEGUERINEL et al, (2005) avaliaram o parâmetro do modelo para a linhagem ADQP 407 de *B. cereus*.

$$\log D = \log D^* - \left( \frac{T - T^*}{z_T} \right) - \left| \frac{pH - pH^*}{z_{pH}} \right| - \left( \frac{a_w - 1}{z_{a_w}} \right) - \left( \frac{pH' - pH'_{opt}}{z'_{pH}} \right)^2 - \left( \frac{a_w - a'_{wopt}}{z'_{a_w}} \right)^2$$

Onde  $T^*$  é a temperatura de referência (geralmente,  $T^*=121.1$  °C) e  $pH^*$  o pH de referência, 7,  $D^*$  é o valor D na temperatura  $T^*$ ,  $pH^*$  e  $a_w=1$ ,  $z_T$  é o valor z tradicional,  $z_{pH}$  é a diferença de pH do  $pH^*$ , que leva à redução do valor D em 10 vezes,  $z_{a_w}$  é a diferença de  $a_w$  a  $a_w^*=1$  que leva a uma redução de D de 10 vezes. O  $pH'$  e  $a_w'$  são do meio de recuperação.  $D'$  é o tempo de redução aparente no  $pH'$  ou  $a_w'$ ,  $pH'_{opt}$  e  $a_w'_{opt}$  correspondem ao máximo  $D'$ , e  $z_{pH'}$  e  $z_{a_w'}$  são as distância do  $pH'_{opt}$  ou  $a_w'_{opt}$ , que levam a uma redução de 10 vezes no tempo aparente de redução  $D'$  (LEGUERINEL et al, 2005).

Quando as condições de recuperação diferem das condições ótimas, há uma redução no número de células afetadas pelo calor que podem produzir colônias e também no tempo de redução decimal. Uma redução no pH do meio de aquecimento e recuperação reduz a resistência aparente da bactéria. A redução no pH do meio de recuperação,  $z_{pH'}$  2,18, tem mais influência na resistência aparente ao calor que uma redução do pH do meio de aquecimento,  $z_{pH}$  3,45. Uma redução na atividade de água leva a um efeito de proteção térmica. Uma redução de atividade de água no meio de recuperação,  $z_{a_w'}$

0,092, apresenta um efeito mais pronunciado que o efeito no meio de aquecimento,  $Z_{aw}$  0,156 (LEGUERINEL et al, 2005).

**TABELA 6:** Parâmetros do modelo para a linhagem de *B. cereus* ADQP 407

Parâmetros	
D	0,009
logD	-2,02
$z_T$ °C	7,32
$Z_{pH}$	3,48
$Z'_{pH}$	1,55
$Z_{aw}$	0,153
$Z'_{aw}$	0,088
$pH'_{opt}$	6,78
$aw'_{opt}$	0,983

**FONTE:** LEGUERINEL et al, 2005. - Modificado

Para a linhagem ADQP 407 foi calculada a inativação considerando 3 condições diferentes, uma considerando as condições ideais para o microrganismos, uma utilizando as condições encontradas nos pães no meio de aquecimento e outra considerando as condições do produto no meio de aquecimento e de recuperação.

Nas condições ideais, segundo o modelo, com um F de  $1,71 \times 10^{-3}$  minutos a  $121,1$  °C, D  $9 \times 10^{-3}$  minutos, a contagem inicial de  $3 \times 10^3$  UFC/g é reduzida a  $1,9 \times 10^3$  UFC/g. Como demonstrado anteriormente, o tratamento térmico nestas condições não é eficaz para linhagens termorresistentes, em condições ideais para o microrganismos.

Aplicando o modelo para um meio de aquecimento com pH 5,3, que é o limite superior da especificação do produto, e atividade de água 0,980, o F do processo foi  $1,71 \times 10^{-3}$  minutos, com D de  $3,95 \times 10^{-3}$  minutos. Para a contagem inicial de  $3 \times 10^3$  UFC/g, a final será  $1,1 \times 10^3$  UFC/g. A redução do número de sobreviventes, se comparada ao caso anterior, é devido ao efeito do pH, atenuado pelo efeito da atividade de água. Mesmo assim, continua não sendo um tratamento satisfatório.

Considerando além das alterações no meio de aquecimento, alterações no meio de recuperação, para pH 5,3 e atividade de água 0,960, que foi o limite máximo encontrado nas análises físico-químicas mensais de 2011, o D passa a

ser de  $4,13 \times 10^{-4}$  minutos, e a contagem final  $2,2 \times 10^{-1}$  UFC/g. O tratamento térmico é considerado 4,14 D, que pode ser considerado um tratamento satisfatório. Este resultado demonstra a importância de se manter um pH do produto final próximo a 5, este é o parâmetro do modelo que tem maior efeito de inativação térmica no microrganismo.

#### 5.3.1.2.2 *Bacillus subtilis*

FARMILOE et al. (1954) realizaram testes em que a massa de pão foi assada por 30 min. A temperatura do forno em cada um dos três testes foi de 215°C, 240°C e 235°C. O primeiro realizado em forno elétrico industrial e os outros dois em forno doméstico. Embora a 90°C a inativação dos esporos tenha se dado aproximadamente exponencialmente com o tempo, a 100°C houve uma mortalidade enorme nos primeiros minutos, após a qual os esporos permaneceram viáveis, mudando pouco por um período de 60 minutos. Os resultados sugerem que o forneamento reduz a sobrevivência de esporos de *Bacillus subtilis* por um fator de  $10^4$ . As observações sugerem que apesar da temperatura alta do forno durante o forneamento, a temperatura no miolo úmido do pão não se eleva acima de 101°C e a temperatura no miolo úmido é aparentemente limitada devido ao resfriamento devido a vaporização que é suficiente para manter o ritmo com a transferência de calor lenta para o interior. Sem dúvida, existem partes com temperatura significativamente maiores, de 125 a 140°C, que ficam secas durante o forneamento.

Em soluções tampão células vegetativas foram inativadas por volta de 2 minutos a 75 °C. A sobrevivência dos esporos no pão com aquelas esperadas do tratamento térmico em comparação com os experimentos em solução tampão sugere que a resistência no pão é mais ou menos a mesma, mas certamente não é menor que na solução tampão 6,5 pH (FARMILOE et al, 1954)

Embora *Bacillus subtilis* geralmente não cresça em pHs menores que 5, vários incidentes de deterioração em alimentos ácidos têm sido associados à

linhagem AdHC1. Parâmetro cinético de aquecimento isotérmico,  $D_{100^{\circ}\text{C}}$  6,5min, foi obtido em água destilada. Os valores  $z$  obtidos de aquecimento não isotérmico foram maiores que aqueles obtidos em condições isotérmicas,  $z$  9,3  $^{\circ}\text{C}$  para aquecimento não isotérmico a  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , e  $z$  7,7  $^{\circ}\text{C}$  para aquecimento isotérmico (CONESA et al., 2003).

A melhor maneira de calcular o número de sobreviventes após um tratamento térmico deve ser combinar métodos isotérmicos e não isotérmicos, para utilizá-los nas fases isotérmicas e não isotérmicas do tratamento (CONESA et al., 2003). Como o processo ocorre com uma parte isotérmica muito curta, serão utilizados apenas dados de tratamento não isotérmico.

**TABELA 7:** Parâmetros cinéticos para tratamento não-isotérmico

Método	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	$D_T$ min	$z$ $^{\circ}\text{C}$
Não-isotérmico 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$	100	10,7	9,1
	105	3	
	110	0,85	
	115	0,24	

**FONTE:** CONESA et al., 2003 - Modificado

O  $F$  do processo é de 1,69 minutos na temperatura de referência  $100^{\circ}\text{C}$ ,  $z$  9,1  $^{\circ}\text{C}$  e  $D_{100^{\circ}\text{C}}$  10,7 minutos. A contagem inicial é reduzida de  $3 \times 10^3$  UFC/g para  $2,08 \times 10^3$  UFC/g. Este é um tratamento térmico 0,16D, que pode ser considerado nulo. É necessário avaliar o efeito do pH na inativação do microrganismo, pois *B. subtilis* é considerada a espécie com maior termorresistência. O ensaio foi realizado em água duplamente destilada, e o pH não foi medido. Portanto é necessário avaliar a influência do pH na termorresistência de *B. subtilis*.

Conesa et al. (2003) encontraram durante a fase de resfriamento, um número real de sobreviventes significativamente menor que o número previsto. Isto significa que o resfriamento causou mais inativação que o esperado, mesmo em temperaturas que pareciam não letais.

Jagannath, Tsuchido e Membré (2005), estudaram o efeito do pH do meio de aquecimento e atividade de água na termorresistência de *B. subtilis*.

Constataram que o pH ácido aumentou a eficiência do tratamento térmico, e a menor atividade de água reduziu a eficiência.

O modelo utilizado para avaliar a inativação foi o baseado na distribuição de freqüência de Weibull.

$$\log N = \log N_0 - \left(\frac{t}{\delta}\right)^p$$

O log N é o logaritmo dos esporos sobreviventes após o tratamento térmico, t o tempo em minutos, e log N<sub>0</sub> é o logaritmo do número de esporos no tempo 0. O parâmetro p é o parâmetro de formato da curva.

No lugar do valor D<sub>T</sub> tradicional, δ foi usado para definir o tempo de redução. A T\* é temperatura de referência a 121,1 °C, T é a temperatura no tratamento térmico, z<sub>T</sub> é o valor z tradicional, z<sub>aw</sub> é a distância da atividade de água a 1 que resulta em uma redução de 10 vezes na redução decimal. O pH de referência é 7, pH o pH do meio de aquecimento e z<sub>pH</sub> a distância do pH 7 que leva a uma redução de 10 vezes na raiz quadrada da do tempo de redução decimal. Estes parâmetros não foram considerados dependentes da matriz alimentícia, somente da espécie de bactéria. O parâmetro dependente da matriz do alimento utilizado é o δ\*. Nos cálculos será considerado o dado de matriz do tampão.

$$\begin{cases} \log \delta = \log \delta_{\text{matrix}}^* - \frac{T - T^*}{z_T} - \left(\frac{\text{pH} - \text{pH}^*}{z_{\text{pH}}}\right)^2 \frac{a_w - 1}{z_{a_w}}, \\ T^* = 121,1^\circ\text{C}, \text{pH}^* = 7, \end{cases}$$

A Tabela 8 e 9 apresentam os parâmetros utilizados do modelo.

**TABELA 8:** Parâmetros do modelo independentes da matriz alimentícia

Parâmetros do Modelo	
$\rho$	1,325
$T^*$	121,1 °C
pH *	7
$z_T$	7,8 °C
$z_{pH}$	1,38
$z_{aw}$	0,085

**FONTE:** TSUCHIDO E MEMBRÉ, 2005 - Modificado

**TABELA 9:** Parâmetros do modelo dependentes da matriz alimentícia

Parâmetros dependentes da matriz alimentícia	
$\delta_{\text{tampão}}$	0,0056 min
$\delta_{\text{láticos}}$	0,0054 min
$\delta_{\text{molho de soja}}$	0,0311 min
$\delta_{\text{kayu}}$	0,0029 min

**FONTE:** TSUCHIDO E MEMBRÉ, 2005 Modificado

Para o cálculo no tratamento térmico com variação de temperatura, o modelo baseado na distribuição de Weibull foi aplicado como demonstrado por Mafart et al. (2002). A solução numérica para a obtenção do número de sobreviventes é apresentada:

$$n = p \sum_1^m \left[ \frac{L(T_i)}{\delta^*} \right]^p t_i^{p-1} \Delta t_i$$

Com n igual a  $\log N_0/N$ .

Para pH 7 e  $a_w$  1, o tratamento térmico foi 0,86 D, reduzindo a contagem inicial de  $3 \times 10^3$  UFC/g para 413 UFC/g. Este resultado é insatisfatório do ponto de vista da segurança de alimentos. Para pH 5,3 e  $a_w$  0,98, o tratamento resultante é 43 D, ou seja, não há sobreviventes. A aplicação deste modelo encontrou resultados de redução maior que a apresentada em outros artigos que realizaram testes de forneamento em pães. Os parâmetros do modelo foram estimados com soluções tampão pH 7, 6,5 e 6,0 e esta pode ser uma explicação para a diferença encontrada.



### 5.3.1.2.3 *Bacillus licheniformis*

Palop et al. (1996) investigaram uma cultura de *B. licheniformis*, tipo Hispânica número 4523, em tampão McIlvaine, pH 4, 5 e 6, com concentração de  $10^7$ - $10^8$  esporos/ml.

A Tabela 10 apresenta os parâmetros em função do pH do meio.

**TABELA 10:** Parâmetros do modelo para os pHs 4, 5, 6 e 7

pH	T (°C)	D <sub>t</sub> (min)	z (°C)
4	92,9	0,48	10,75
	96,0	0,26	
	99,0	0,23	
	102,0	0,081	
	108,0	0,031	
	113,9	0,0048	
5	93,0	2,3	8,54
	99,0	0,52	
	104,9	0,093	
	111,0	0,019	
6	99,0	1,5	7,46
	105,0	0,17	
	110,8	0,038	
	116,9	0,0055	
7	99,0	4,2	6,85
	102,0	2,2	
	111,0	0,11	
	113,9	0,033	
	119,9	0,0042	

**FONTE:** PALOP et al., 1996 Modificado

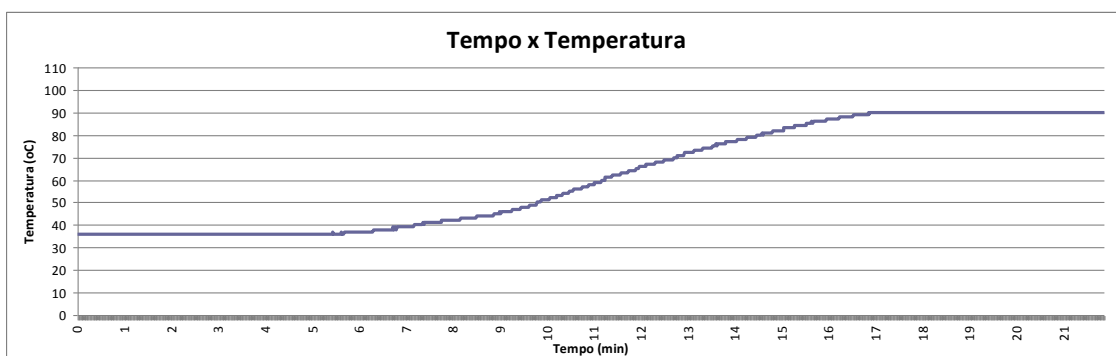
O cálculo de inativação foi realizado para os pH de 7 e 5. Para pH 7, o z de 6,85°C, com referência em 99°C, resultou em F de 1,68 minutos, com o D<sub>t</sub> de 4,2 minutos, a redução de  $3 \times 10^3$  UFC/g para  $1,2 \times 10^3$  UFC/g, é esperada. Em pH 5, z de 8,54 °C, na temperatura de referência resultou em um F de 1,68

minutos, com o  $D_t$  0,52 minutos, a contagem final é estimada em  $3,2 \times 10^{-1}$  UFC/g, ou seja, um tratamento 3,97 D, que pode ser considerado satisfatório.

Além da influência do pH, também deve-se levar em conta a temperatura em que ocorre esporulação. Microrganismos esporulados a  $52^\circ\text{C}$  foram 10 vezes mais termorresistentes que aqueles esporulados a  $30^\circ\text{C}$ . O valor Z não foi alterado com a temperatura de esporulação. A Linhagem utilizada também foi a 4523 (RASO, 1995).

Para avaliar o parâmetro temperatura interna de  $90^\circ\text{C}$  estabelecida na saída do forno, a curva de forno foi alterada, e a partir do momento em que atinge  $90^\circ\text{C}$  foi considerada constante até o final de processo. O tempo de forneamento não foi alterado.

**FIGURA 16:** Curva de forneamento no centro do produto, com final a  $90^\circ\text{C}$ .



**FONTE:** Próprio Autor (2012)

Os cenários de inativação, com ajuste de pH e outros parâmetros, que apresentavam uma redução satisfatória, foram reavaliados. Nestas condições a inativação de esporos termoresistentes foi reduzida a níveis não satisfatórios para todas as espécies de *Bacillus* spp. avaliadas. O tratamento de *B. cereus*, linhagem ADPQ 407, foi correspondente a um tratamento 0,78D, nas condições da massa e produto acabado, permitindo a sobrevivência de  $4,94 \times 10^2$  UFC/g, considerando contagem inicial de  $3 \times 10^3$ . Para *B. licheniformis* o tratamento com pH 5 ficou em 1D, com contagem final de  $3 \times 10^2$  UFC/g. Já a redução de *B. subtilis* considerando o modelo de Weibull, pH 5,3 e  $a_w$  0,98, a redução foi de um fator  $10^{4,9}$ , ou seja, um tratamento satisfatório.

### 5.3.1.3 Patógenos não formadores de esporos

Os microrganismos avaliados que não são termoresistentes, *Salmonella* spp., *E.coli* e *S. aureus*, apresentam uma resistência térmica muito baixa. Os valores usados são de  $D_t$  e  $z$  médios apresentados na literatura.

Para *Salmonella* spp. o  $D_t$  é de 2,25 minutos a 57°C, e o  $z$  é 4,5°C. Nestas condições o  $F$  do processo, na temperatura de 57°C é  $2,3 \times 10^9$  minutos, resultando em um tratamento  $10^9$  D (MACKEY et al., 2006).

Com os parâmetros  $D_t$  0,21 minuto, a 70°C, e  $z$  10,6 °C (VAN ASSELT; ZWIETERING, 2006), o tratamento para *E. coli* tem  $F$  de 1347 minutos, na temperatura de 70°C, resultando em um tratamento 6414 D.

Para calcular a inativação de *S. aureus* foi utilizado um  $D_t$  0,26 minutos, a 70°C, e  $z$  8,8 °C. (VAN ASSELT; ZWIETERING, 2006). O  $F$  do processo é 4182 minutos, e o tratamento é 16270 D.

Portanto, pode-se considerar a inativação de todas as células destes microrganismos durante o forneamento, mesmo considerando contagens iniciais maiores que  $10^8$  UFC/g. Simulando a curva de forneamento com temperatura final de 90°C houve uma redução no  $F$  para cada microrganismos, mas devido a ordem de grandeza desses valores, a destruição completa é esperada.

#### 5.3.1.4 Parâmetros Operacionais Críticos (FSIS) / Critérios de Processo e de Produto (ICMSF)

Além da questão discutida na análise de perigos, sobre o limite de 90°C não ser para o qual o forneamento foi dimensionado, os cálculos de redução de *Bacillus* spp. demonstraram que para um forneamento simulado, alcançando apenas 90°C, a inativação no centro do produto é de aproximadamente 1D. Se comparado com a curva real de forneamento que alcança 98°C e uma redução próxima a 4 D, considerando uma contagem inicial na massa do produto igual máximo aceito na legislação para farinha, esse é considerado um resultado insatisfatório. Portanto, um acompanhamento da curva de forno e de

temperatura de saída no centro do produto, são necessários para definir a variação no histórico de tempo e temperatura, e definir um limite de temperatura de saída do produto do forno mais próximo da temperatura real alcançada.

Com um maior número de dados de tempo e temperatura do produto no forneamento, dados das temperaturas do forno, em cada uma das 4 zonas, e a temperatura no forno medida com os termopares e o equipamento SuperM.O.L.E<sup>®</sup> Gold, é possível determinar a faixa de temperatura que irá resultar em um processamento térmico que alcance uma redução mínima da contagem de microrganismos. A referência deve ser um tratamento 4 D para *Bacillus* spp., que reduz a contagem inicial a níveis seguros, e não afeta a qualidade do produto. Para essa redução também é necessário definir o critério de pH da massa do produto durante o forneamento; para alcançar a redução próxima a 4D, o pH deve estar próximo de 5.

Após o acompanhamento do histórico de tempo e temperatura, e a definição dos limites, a verificação da curva deve ser realizada como suporte ao monitoramento da temperatura na saída do forno. A frequência deve ser estabelecida para poder captar variações que ocorrem no processo.

A última etapa da validação dessas medidas de controle deve ser realizada pela análise microbiológica da massa após a fermentação, e após o forneamento. É provável que os únicos microrganismos encontrados sejam *Bacillus* spp., mais especificamente *B. subtilis* e *B. licheniformis*. Como testes de inoculados não devem ser realizados na planta, para os demais microrganismos os dados apresentados na literatura, e a parte da validação teórica deste capítulo, são suficientes para validar a medidas de controle.

#### 5.3.1.5 Critério de Performance/Desempenho

Para a concentração inicial da massa no máximo da legislação para farinha,  $3 \times 10^3$  UFC/g, espera-se que uma redução 4 D de *Bacillus* spp. spp. seja suficiente para se alcançar níveis seguros, caso o controle da dosagem de

conservador e parâmetros físico-químicos do produto também sejam controlados

### 5.3.2 Conservadores

Conservadores químicos são comumente utilizados como uma barreira adicional para controlar deterioração por bolor e bactérias em produtos de panificação, já que as perdas econômicas causadas devido à deterioração por bactérias e bolores são substanciais. Deterioração por *rope* é causada principalmente por *B. subtilis* e *B. licheniformis* e os esporos que contaminam a matéria-prima podem sobreviver ao forneamento (ROSENKVIST; HANSEN, 1995).

Para os outros microrganismos identificados na análise de perigos os efeitos dos conservadores não são considerados, pois os programas de pré-requisitos controlam estes a níveis seguros antes do forneamento, os microrganismos não sobrevivem ao forneamento, e os programas de pré-requisitos são suficientes para controlar contaminação após o forneamento.

Os controles usuais de higienização, controle de temperatura durante forneamento e teste de matéria-prima (BAILEY; VON HOLY, 1993) podem reduzir a contagem inicial na massa, mas não previnem a germinação e crescimento de esporos de *Bacillus* spp. em pão sem conservador e não acidificados (ROSENKVIST; HANSEN, 1998).

Os conservadores mais comumente usados em pão para prevenir crescimento microbiológico são propionatos, que são ácido propiônico e seus sais. Ácidos orgânicos como o propionato agem alterando o pH de equilíbrio do microrganismo. A redução do pH celular interno por ionização de moléculas ácidas leva a eliminação de fontes de substrato da célula, causando a inibição do crescimento. A atividade anti-microbiana de propionatos é principalmente contra bolores e bactérias que causam *rope*. Por seu efeito em levedura ser mínimo, propionatos podem ser utilizados em pães sem alterar a atividade

fermentativa da massa (PATERAS, 2007). Na empresa o conservador utilizado é o propionato de cálcio.

Kaur (1986) demonstrou que a inclusão de 0,2% de propionato de cálcio, base farinha, retardou a germinação e subsequente multiplicação de esporos de *B. cereus* efetivamente. No estudo foram adicionados esporos na concentração de  $10^6$ /g na massa. Após forneamento de um pão de 400 g por 25 minutos a  $320^\circ\text{C}$ , a concentração de esporos era de  $10^3$ /g. Não ocorreu multiplicação no pão armazenado a  $27,5^\circ\text{C}$  por 72 h. O tratamento térmico é mais severo que o utilizado na empresa, e dados físico-químicos da massa e produto final não foram apresentados. A conclusão do estudo é que o risco de DTA causada pela presença de *B. cereus* em pão é mínima. Outros estudos demonstraram que a frequência em que o microrganismo é isolado de matéria-prima e equipamentos é baixa e que os esporos isolados não sobrevivem ao forneamento. Estes dados indicam que o processo da empresa é eficaz no controle de *B. cereus* (KAUR, 1986; BAILEY; VON HOLY, 1993; ROSENQUIST; HANSEN, 1995).

Uma pesquisa de pães produzidos sem conservadores ou acidificação revelou que contagem de *B. subtilis* e *B. licheniformis* estava consideravelmente alta, cerca de  $10^6$  UFC/g, após dois dias de estocagem em temperatura ambiente (ROSENKVIST; HANSEN, 1995). Isto causa preocupação, pois *B. subtilis* e *B. licheniformis* têm sido associados a uma amena DTA quando presentes nos níveis de  $10^5$ - $10^9$  UFC/g (KRAMER; GILBERT, 1989; ROSENQUIST; HANSEN, 1998).

A inoculação de *B. licheniformis* VTT E-97813,  $2,5 \times 10^2$  UFC/g, não causou sinais de *rope* visíveis em pães sem conservadores durante 7 dias de estocagem a  $30^\circ\text{C}$ . No entanto, o número de esporos era  $10^8$  UFC/g. Em pães sem conservadores e não inoculados a contagem era de  $10^5$  UFC/g após 7 dias. Os testes foram realizados com um forneamento de 25 minutos a  $225^\circ\text{C}$ . *B. subtilis* VTT E-96 699, inoculado em níveis de  $10^2$  UFC/g, causou deterioração de pão sem conservador em 3 dias e a contagem era maior que  $10^8$  UFC/g. (KATINA et al., 2002)

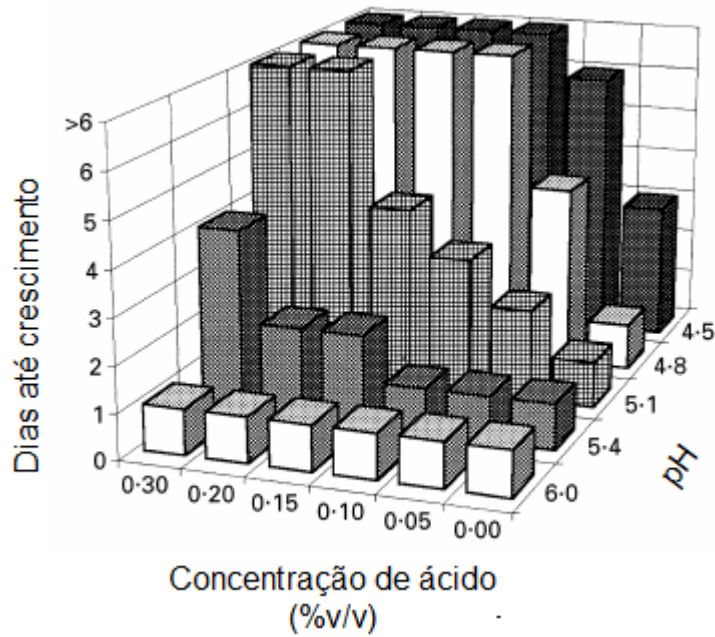
Em um estudo realizado por Valerio et al. (2008) para determinar o efeito de diversas substâncias para prevenir a deterioração por *B. subtilis* em produtos de panificação, foi avaliado o crescimento da linhagem ATCC 8473 de

esporos de *B. subtilis* inoculado na massa. A massa continha a concentração de  $10^3$  esporos/g, antes do forneamento, e pH 5,3. O forneamento levou 60 minutos, mas as temperaturas não foram apresentadas. Como a quantificação de *B. subtilis* foi feita apenas 3 e 7 dias após o preparo do produto, não é possível determinar se houve crescimento nos primeiros dias de vida-de-prateleira. A atividade de água do produto final era 0,956. Nas amostras de controle do produto, sem qualquer conservador, após 3 dias armazenado a 30°C o produto apresentava deterioração evidente, e a contagem de *B. subtilis* era de 8,8 log UFC/g. Após 7 dias era 9 log UFC/g. Nas amostras em que foi adicionado propionato de cálcio, na concentração de 0,3% base farinha, a contagem após 3 dias era 2,57 log UFC/g, e após 7 dias 2,96 log UFC/g. Portanto, a eficácia da adição de propionato de cálcio, na concentração de 0,3% base farinha, foi demonstrada para um produto com propriedades físico-químicas iguais aos do produto da empresa. Os dados de contagem de *B. subtilis* em produto acabado no dia do preparo são necessários para fazer uma comparação com o cenário da empresa, já que, embora a contagem de esporos na massa seja apresentada, não há dados do processamento térmico.

O crescimento de *B. subtilis* e *B. licheniformis* em caldo BHI (*Brains Heart Infusion*) reduz com o aumento da concentração dos ácidos orgânicos e a redução do pH. Ácido propiônico se mostrou o inibidor mais eficaz, em concentrações de 0,10% a 0,15% v/v, seguido pelo acético. O efeito de ácido láctico foi mínimo, mesmo em concentrações de 0,90 % v/v (ROSENQUIST; HANSEN, 1998).

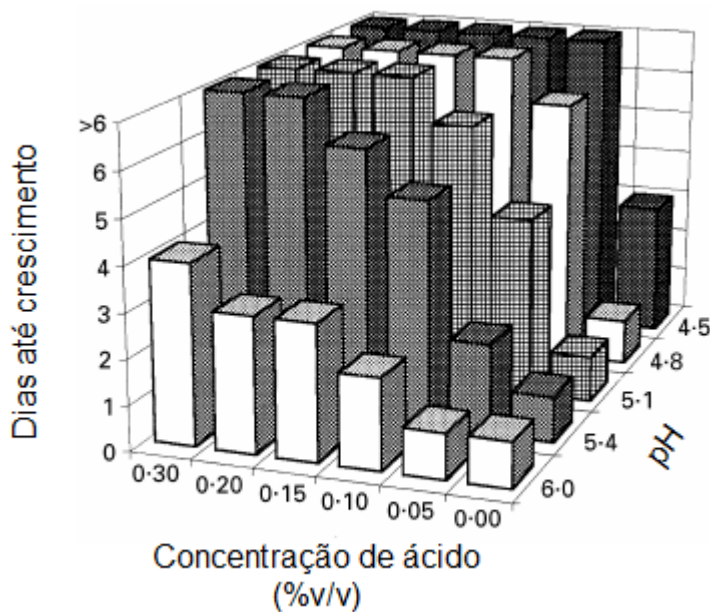
As Figuras 17, 18 e 19 apresentam o efeito da concentração de ácidos orgânicos no crescimento de *B. subtilis* e *B.licheniformis* em caldo BHI.

**FIGURA 17:** Efeito da concentração de ácido acético no crescimento de *B. subtilis* e *B.licheniformis*.



FONTE: ROSENQUIST; HANSEN,1998 - Modificado

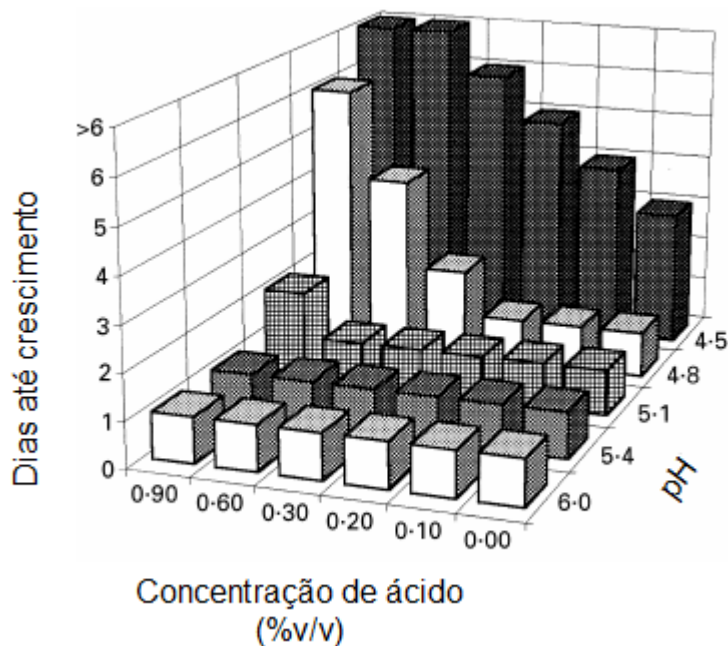
**FIGURA 18:** Efeito da concentração de ácido propiônico no crescimento de *B. subtilis* e *B.licheniformis*.



FONTE: ROSENQUIST; HANSEN,1998 Modificado

**FIGURA 19:** Efeito da concentração de ácido láctico no crescimento de *B. subtilis* e *B. licheniformis*.





**FONTE:** ROSENQUIST; HANSEN, 1998 Modificado

A adição de ácido acético e propiônico na concentração de 0,1 mL/g, base farinha, em massa de pão, resultou em pH 5.1 e 5.3, e inibiu *rope* em produto elaborado com massa, antes do forneamento, contendo  $10^6$  UFC/g de *B. subtilis* por até 6 dias. Para o ácido lático foi necessário adicionar 0,9 mL/g para ter o mesmo efeito, com pH 4,1 (ROSENQUIST; HANSEN, 1998).

Voysey e Hammond (1993, apud ROSENQUIST; HANSEN, 1998) recomendam a adição à massa do pão de 0,16% de ácido acético e 0,2% de ácido propiônico para evitar a deterioração por *Bacillus* spp.

A Tabela 11 apresenta os efeitos de inibição dos ácidos orgânicos no crescimento de *B. subtilis*, e o efeito sobre o pH do pão.

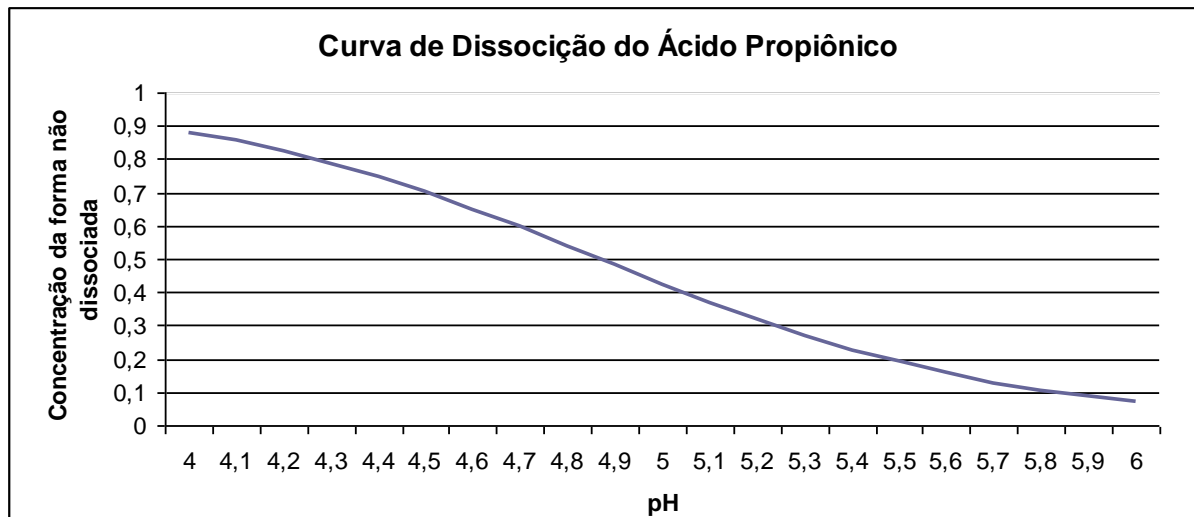
**TABELA 11:** Efeito dos ácidos lático, acético e propiônico no pH do pão, crescimento e deterioração *rope* por *B. subtilis*

Ácido	Concentração (%v/m)*	Tempo para UFC>10 <sup>8</sup> (d)	Tempo até sintomas de "rope" (d)	pH do pão
Ácido Acético	0,10	>6	>6	5,14
	0,15	>6	>6	4,92
	0,20	>6	>6	4,77
Ácido Lático	0,30	2	2	4,84
	0,60	2	1	4,67
	0,90	>6	>6	4,16
Ácido Propiônico	0,05	5	4	5,65
	0,10	>6	>6	5,30
	0,15	>6	>6	5,10
*Base farinha				

Esta ordem de eficácia é provavelmente devido à quantidade de ácido não dissociado presente. Em pH 5, por exemplo, as quantidades de ácido não dissociado são 43% para ácido propiônico, 36% para acético e 1% para lático. A porcentagem de ácido não dissociado é determinado pelo pKa dos ácidos, que são 4,87, 4,75 e 3,85 respectivamente. O pH mais baixo favorece a forma não dissociada que mostrou ser responsável pelo efeito antimicrobiano (ROSENQUIST; HANSEN, 1998; KATINA et al., 2002; GEREZ, 2009).

A curva de dissociação do ácido propiônico é apresentada na Figura 20.

**Figura 20:** Curva de dissociação do ácido propiônico



**FONTE:** Próprio autor (2012)

#### 5.3.2.1 Critério de Produto

Concentração mínima de 0,3% base farinha de propionato de cálcio, para o pH máximo de 5,3, e atividade de água menor que 0,960 do produto final. Na empresa a concentração varia de 0,4% a 1,0%.

Em pH 5,1 a concentração de ácido propiônico na forma não dissociada é 37%, enquanto em pH 5,3 é 27%. Portanto a concentração de ácido propiônico base farinha, ao se adicionar 0,3 % de propionato, é 0,11% e 0,08%, para o pH de 5,1 e 5,3 respectivamente. Portanto, o mínimo definido pela empresa é apontado como eficaz nos artigos pesquisados, e deve ser validado na prática por análises microbiológicas.

#### 5.3.2.2 Objetivo de segurança de alimento

Contagem de *Bacillus* spp. menor que  $3 \times 10^3$  UFC/g no produto final, durante 12 dias de vida útil do produto da empresa.

#### **5.3.3 Combinação das medidas de controle**

A origem de *Bacillus* spp. é relatada como sendo matéria-prima, tomando como referência a legislação de farinha para *B. cereus* e a concentração para *Bacillus* spp. não deve exceder  $3 \times 10^3$  UFC/g em matérias primas e na massa antes do forneamento.

Equipamentos de panificação podem ser fonte de *Bacillus* spp., porém não aumentam a concentração na massa significativamente e as medidas do programa de sanidade são suficiente para manter o perigo controlado.

Multiplicação não ocorre na massa antes de assar, embora alguns esporos germinem.

Os esporos de *Bacillus* spp. encontrados em farinha e outras matérias-primas são termoresistentes, e alguns podem sobreviver ao forneamento, onde a temperatura no miolo fica no máximo a  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  por poucos minutos. Falha em alcançar esta temperatura aumenta a proporção de esporos sobreviventes. Acidificação da massa do pão aumenta a inativação térmica dos esporos durante o forneamento. O tratamento térmico estimado pelo modelo geral para as espécies de *Bacillus* spp., com pH de massa próximo a 5 é de 4 reduções logarítmicas. Com esta redução a concentração de *Bacillus* spp. estimada após o forneamento é de menos de 1 UFC/g.

Crescimento de *Bacillus* spp. no miolo do pão é retardado com combinação de pH, 5,1 a 5,3, e concentração de conservador propionato de cálcio, 0,4 a 1,0 % base farinha. A atividade de água máxima do produto deve ser redefinida como 0,960, devido ao histórico de análises físico-químicas mensais realizadas no produtos em 2011. O crescimento para o processo analisado deve ser menor que  $10^2$  UFC/g ao longo da vida-de-prateleira, de 12 dias. A concentração acima de  $3 \times 10^3$  UFC/g é considerada acima dos níveis aceitáveis para a segurança do alimento.

Para *S. aureus*, *Salmonella* sp. e *E.coli*, os laudos de matéria-prima, programa de BPF e Sanidade são os principais responsáveis pelo controle de introdução de perigos no processo. O forneamento é a etapa que elimina estes perigos caso estejam presentes. E os programas de pré-requisitos evitam a contaminação pós forneamento. Os critérios de produtos, pH e aw garantem a estabilidade do produto ao longo da vida-de-prateleira.

#### 5.3.4 Programa de análises para validação

Para elaborar o programa de análises para validação e manutenção do sistema foram respondidas as seguintes perguntas elaboradas pelo FSIS.

1-Onde as amostras devem ser coletadas?

O mínimo recomendado é a coleta de amostras no ponto inicial do processo, para estabelecer a carga microbiana, e no final, no produto acabado. Para produtos processados amostras podem ser coletadas de produtos finais embalados do mesmo lote das matérias-primas utilizadas, para produzir uma situação de amostras pareadas. Estes dados podem ser utilizados em conjunto com os dados coletados medindo os parâmetros críticos de cada intervenção para determinar se o sistema HACCP está funcionando como pretendido.

Para se validar todo o processo, como todas as medidas de controle, amostras devem ser coletadas da massa do produto após o batimento, e no produto final após 12 dias. Amostra de farinha de trigo utilizada também deve ser analisada, para verificar a contagem de *Bacillus* spp., pois esta matéria-prima é a principal fonte do microrganismo. Para se validar a etapa de forneamento individualmente, as amostras devem ser coletadas da massa após a fermentação, e do produto resfriado. Para validar o efeito do conservador amostras do produto final devem ser analisadas no dia da fabricação, e após 12 dias da data de fabricação.

2-Que análises laboratoriais devem ser realizadas?

O FSIS não defende a introdução de patógenos no ambiente do estabelecimento resultando na adulteração intencional do produto. Neste tipo de análise, enumeração de organismos indicadores deve ser usada com adicional análise de detecção de patógenos para coletar dados sobre os organismos de interesse identificados na análise de perigos. Para validar o sistema é necessário realizar análise das espécies *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis*. Para os outros microrganismos o programa de análises microbiológicas implementado na empresa é suficiente para garantir que o

sistema HACCP é eficaz, pois são analisados mensalmente, coliformes 45°C, *E.coli*, *Salmonella sp.* e *S.aureus*. Se as espécies de *Bacillus spp.* não forem encontradas inicialmente na massa, ou farinha, não será possível proceder com a validação. É possível também que as contagens encontradas sejam abaixo de  $3 \times 10^3$  UFC/g, portanto o processo não será validado na prática para o limite máximo. Embora a validação teórica demonstre que os parâmetros de processo e produto sejam suficientes para produzir alimentos seguros, com uma contagem inicial de  $3 \times 10^3$  UFC/g, uma alternativa é reduzir a contagem inicial aceita para um nível abaixo de  $3 \times 10^3$  UFC/g, de acordo com os resultados das análises realizadas em massa, e farinha, estabelecendo assim um novo limite de contaminação inicial. Este limite então seria aplicado como medida de controle no recebimento, no laudo de análise da matéria-prima.

### 3-Quantas amostras devem ser coletadas?

Deve-se coletar um número estatisticamente representativo de amostras de acordo com o volume de produção. É importante distribuir a coleta de amostras durante o período de validação, porque estas análises são elaboradas para validar o sistema HACCP, não produtos individuais em um dia específico. A empresa deve continuar a amostragem em uma frequência alternativa além do período de validação, como parte da verificação contínua (FSIS, 1996).

Para *Bacillus spp.*, as espécies *B. subtilis*, *B. licheniformis* e *B. cereus* devem ser testadas. Seguindo a resolução RDC nº 12 de 2001, para *B. cereus* em farinha, 5 unidades devem ser colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. O número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de  $10^2$  e  $3 \times 10^3$  UFC/g, é 2. A concentração de  $10^2$  UFC/g é o limite que separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável. A contagem de  $3 \times 10^3$  UFC/g separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de  $3 \times 10^3$  UFC/g são inaceitáveis. Para o processo da empresa um lote é representado por uma batelada de massa. Como o processo de fabricação de pão reduz a contagem inicial, e previne o crescimento no produto final, então os mesmos parâmetros para *B. cereus* em farinha podem ser aplicados, assim como para as outras duas espécies.

### 4-Quanto tipos de produto devem ser amostrados?

Os produtos da linha de Pães Brancos apresentam grande similaridade no processo e nos perigos presentes. Portanto é recomendado à empresa coletar dados microbiológicos do produto com maior volume de produção, e que leva a maior variedade de matérias-primas.

### **5.3.5 Resultado da Validação**

Estes dados são úteis para definir limites para o grau de variação que o sistema terá que tratar, para determinar se o processo consegue reduzir o nível de patógenos associados à matéria-prima recebida no estabelecimento, na medida contemplada, e ainda para avaliar se as medidas de controle, quando realizadas em conjunto, juntamente com o manuseio do produto entre as etapas, produzem um produto seguro e não adulterado. Se o fizerem, o processo é validado com êxito. Se uma medida de controle ou combinação não é capaz de controlar o perigo para um resultado específico, não deve ser implementada. No caso da não aprovação, a formulação do produto, parâmetros do processo, ou outras ações devem ser reavaliadas.

Informações obtidas na validação podem ser úteis na elaboração de procedimentos de verificação e monitoração. Por exemplo, se uma medida de controle, ou combinação, produz uma redução de patógenos bem acima da redução necessária para controlar o perigo, pode ser possível reduzir a frequência de verificação ou frequência de análise microbiológica no produto acabado (CAC, 2008).

## **6 CONCLUSÃO**

DTA por consumo de pão com “rope” é considerada improvável devido à aparência do miolo, no entanto, altas contagens de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, sem sinais de “rope”, podem causar DTA. O risco de DTA devido à presença de *B. cereus* em pão é considerado baixo devido à baixa frequência em que foram isolados em produto acabado. No entanto, para garantir a segurança do produto, medidas de controle para *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis* são importantes, pois devem ser tomadas em combinação para se alcançar o objetivo desejado.

Na revisão da análise de perigos, o principal ponto levantado foi avaliação de perigo de *Bacillus spp.*, que na empresa é considerado apenas *B. cereus*, *B. subtilis* e *B. licheniformis* foram apontados como tendo probabilidade maior de ocorrer em níveis maiores que os aceitos em produtos finais, e a severidade desses perigos é semelhante à de *B. cereus*, devido a características da DTA.

Na etapa de forneamento a medida de controle de temperatura interna ao final do processo de 90°C é suficiente para a inativação de células vegetativas no produto. Porém, para *B. cereus* e *B. licheniformis* utilizando a hipótese de temperatura constante a partir do momento que o centro atinge 90°C, o modelo aplicado estima uma redução insatisfatória. As temperaturas atingidas no produto efetivamente estão entre 95 e 98°C, portanto, a medida de controle deve ser revista. Além disso, a umidade e atividade de água provavelmente não atingiriam a especificação, pois a absorção na massa não é dimensionada para um forneamento que alcance apenas 90°C. Portanto a conclusão é que este parâmetro, que tem como objetivo garantir a segurança do alimento, pode falhar ao aprovar produtos que sofreram um desvio no processo. A adequação da medida de controle e a estruturação de um PPR operacional é a sugestão apresentada por este trabalho.

Também foi demonstrada a importância da medida de controle de conservador propionato de cálcio em um nível acima de 0,4% base farinha. Esta medida previne a germinação e crescimento de *Bacillus spp.*, que pode ocorrer mesmo com contagens no produto próximas a 10 UFC/g no dia da



fabricação, e em 3 dias ultrapassar  $10^5$  UFC/g, que já é uma contagem que afeta a segurança do alimento.

O desenvolvimento de “rope” ficou raro em muitos países porque a adição de propionato de cálcio, boa higiene e boas práticas de fabricação o mantêm sob controle. No entanto em países do mundo em que níveis de sal estão sendo reduzidos há um aumento do risco de crescimento de “rope”, especialmente se inibidores não forem utilizados na massa. Outro tema que não é abordado nos documentos do Sistema HACCP da empresa é a ocorrência de bolores e leveduras no produto acabado. Embora não sejam perigos, seu controle na produção de produtos de panificação é essencial, e tão complexo quanto o controle de qualquer perigo biológico. Portanto, é de interesse da empresa e do consumidor que as ferramentas do Sistema HACCP sejam utilizadas para tratar da contaminação dos produtos por bolores e leveduras.

Para o controle de *Bacillus spp.* ao longo do processo, devem ser controlados: a contagem inicial nas matérias-primas e massa, a concentração de conservador, o tratamento térmico, com controle de tempo e temperatura para reduzir a sobrevivência de esporos, e os parâmetros físico-químicos do produto acabado. O crescimento de *Bacillus spp.* não é inibido somente pelo pH e  $a_w$  do pão quando armazenado entre 25 e 30° C. É importante ressaltar que nenhuma das medidas de controle atuando sozinha é capaz de controlar o perigo. Além disso, as medidas de controle relacionadas ao programa de Sanidade e programa de Boas Práticas de Fabricação devem estar implementadas, para evitar contaminações no ambiente fabril.

Considerou-se que todos os perigos biológicos significativos, relacionados à contaminação por microrganismos patogênicos, são eliminados ou têm sua possível ocorrência reduzida a níveis aceitáveis com as medidas de controle apresentadas no processo, não há uma necessidade de se incluir novos controles ou alterar o processo, apenas a adequação de algumas medidas de controle existentes é necessária.

A parte teórica da validação e a revisão da análise de perigos do Sistema HACCP da empresa apresentadas podem ser utilizadas para atualizar

a documentação e as medidas de controle do processo. Para concluir a validação do Sistema HACCP é necessário realizar as análises microbiológicas, ao longo do processo, conforme o programa de análises para validação. O resultado prático da validação irá determinar se as medidas de controle, e a combinação das medidas de controle, controlam os perigos identificados ao nível seguro especificado.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 22000:2006**: Sistema de Gestão da Segurança de Alimentos – Requisitos para qualquer organização da cadeia produtiva de alimentos. Rio de Janeiro, 2006, 35p.

AHRNÉ, L. et al. Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, n. 10, p. 1708-1715, 2007.

AKBARI, H. et al. Optimization of baker's yeast drying in industrial continuous fluidized bed dryer. **Food and Bioproducts Processing**. V. 90, n.1 , p. 52-57, 2012

ALMEIDA, O. P. **Tecnologia de Panificação: Uma Breve Visão**. AB Brasil Indústria e Comércio de Alimentos LTDA, 2006.

ARROYO, M.; ALDRED, D.; MAGAN, N. Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effects on control of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread, **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, n.3, p.223-231, 2005

BAILEY, C.P.; VON HOLY, A. *Bacillus* spore contamination associated with commercial bread manufacture. **Food Microbiology**, v.10, p. 287-294, 1993.

BAILEY, C.P.; VON HOLY, A. *Bacillus* spore contamination associated with commercial bread manufacture. **Food Microbiology**, v.10, p. 287-294, 1993.

BAPTISTA, P. *et. al.* **Sistemas de gestão de segurança alimentar**. Guimarães, Portugal: Forvisão, 2003.

BATISTA, P.; VENÂNCIO, A. Os **perigos a Segurança Alimentar no Processamento de Alimentos**. Guimarães, Portugal: Forvisão 2003

BERGHOFER, L. K.; HOCKING, A. D.; MISKELLY, D.; JANSSON, E. Microbiology of wheat and flour milling in Austrália. **International Journal of Food Microbiology**. v. 85, n. 1-2, p. 137-149, 2003.

BLOKSMA, A. H. Rheology of the breadmaking process. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 2, p. 228–236 e p. 959–960. 1990.

BRABES, K.C. **Identificação e Capacidade de adesão de Staphylococcus spp. Isolados de Manipuladores, Superfícies e ar de Ambientes de uma Indústria de Laticínios**. 2005.83 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2005

BRASIL. Portaria Nº 368, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União** Brasília, 08 set. de 1997, Seção 1, Página 19697.

BRASIL. Resolução CNNPA nº 38, de 12 de Outubro de 1977. Aprova como coadjuvantes da tecnologia de fabricação as substâncias constantes dos anexos I, II, III e IV, destinadas ao fabrico de produtos forneados, tais como: pão, broa, biscoito, bolacha, bolo, torta e demais produtos afins de confeitaria. **Diário Oficial da União** Brasília, 27 dez. de 1977.

BRASIL. Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 de ago. de 1997.

BRASIL. Portaria Nº 46, de 10 de Fevereiro de 1998. Instituir o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal - SIF, de acordo com o MANUAL GENÉRICO DE PROCEDIMENTOS, anexo à presente Portaria. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de mar. 1998, Seção 1, Página 24.

BRASIL. Portaria nº. 132, de 19 de fevereiro de 1999. Aprova o Regulamento Técnico referente a SÊMOLA OU SEMOLINA DE TRIGO DURUM, FARINHA DE TRIGO DURUM E FARINHA INTEGRAL DE TRIGO DURUM. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 de fev. de 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº. 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de set. de 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 out. 2003.

BRASIL, Resolução CNNPA nº. 34 de 1976 . Fixa para os alimentos, tolerâncias de 30ppb (trinta partes por bilhão) para as Aflatoxinas, calculada pela soma dos conteúdos das aflatoxinas B1 e G1, determinadas segundo as técnicas que vierem a ser recomendadas pelo LCCDMA. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 de jan. de 1977.

BRASIL, Resolução RDC nº 7, de 18 de Fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Oficial da União**, Brasília, 9 de mar. de 2011

BRASIL. Portaria nº. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da

qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de mar. de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 jan. 2001.

BRASIL. Portaria nº. 326, de 30 de Julho de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênicos-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 ago. 1997.

BRASIL. Portaria nº. 368, de 04 de Setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 set. 1997.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **PAS 220: 2008**: Prerequisite programmes on food safety for food manufacturing. London, 2008.

CASTRO, M. F. **Panificação, BUNGE do campo à sua mesa**. Disponível em: <http://www.ea.unibh.br/pan.pdf> Acesso em maio 2006 apud MATUDA, T.G. **Estudo do congelamento da massa de pão: determinação experimental das propriedades termofísicas e desempenho de panificação**. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

CAUVAIN, S.P.; YOUNG, L.S **Technology of Breadmaking**. 2ed. US:Springer US, 2007. 398p

CHHANWAL, N., et al. Computational fluid dynamics modeling of bread baking process. **Food Research International**, v. 44, n.4, p. 978-983, 2011.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **CAC/RCP 1-1969**: Recommended international code of practice-general principles of food hygiene. Rev. 4, 2003, 31 p.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **CODEX GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES**. 1995. Disponível em: [http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS\\_192e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS_192e.pdf) Acesso em: 20/04/12

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **CAC/GL 69-2008**: Guidelines for the Validation of Food Safety Control Measures. 2008.

CONESA, R. et al. Prediction of *Bacillus* spp. subtilis spore survival after a combined non-isothermal-isothermal heat treatment. **EUROPEAN FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY**, v. 217, n. 4, p. 319-324, 2003

COULTATE, T. P.; **Alimentos: A Química de Seus Componentes**, Artmed, p. 134-135, 2004.

DECOCK, P., CAPPELLE, S. Bread technology and sourdough technology. **Trends in Food Science and Technology**, v.16, n. 1–3, p.113–120, 2005.

DOBRSZCZYK, B.J., Morgenstern, M.P.. Rheology and the bread making process. **Journal of Cereal Science**, v. 38, n. 3,p. 229–245, 2003

EREM, F.; CERTEL, M.; KARAKAŞ. B. Identification of *Bacillus* Species Isolated from Ropy Breads both with Classical Methods and API Identification Kits. **AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ DERGİSİ**, 2009.

EFSA. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs. **The EFSA Journal**, v.175, p. 1-48, 2005.

FARMILOE *et al.* **SURVIVAL OF SPORES IN BAKING BREAD** *J. Sci. Food Agric.*, 1954

FERNÁNDEZ , A. et al. Application of nonlinear regression analysis to the estimation of kinetic parameters for two enterotoxigenic strains of *Bacillus* spp. *cereus* spores. **Food Microbiology**, v.16, n. 6, p.607-613, 1999.

FERNÁNDEZ, A. et al. Effect of heat activation and inactivation conditions on germination and thermal resistance parameters of *Bacillus* spp. *cereus* spores. **International Journal of Food Microbiology**, v. 63, n.3 , p. 257-264, 2001

FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. **Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems**. 1996. Disponível em: < <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/93-016F.pdf> > Acesso em: 20/05/11

FRANCO, M. J. M. **Aplicação da Metodologia de APPCC – Análise de Perigo de Pontos Críticos de Controle – Como Ferramenta para Reuso de água na Indústria**: Modelo para Indústria de Aromas e Essências. Dissertação (Mestrado em Engenharia) USP, São Paulo 2007.

FRYER, P.J; ROBBINS, P.T.Heat transfer in food processing: ensuring product quality and safety. **Applied Thermal Engineering**, v. 25, n. 16, p.2499-2510, 2005

GAILLARD, S.; LEGUERINEL,I.; MAFART,P. Modelling combined effects of temperature and pH on the heat resistance of spores of *Bacillus* spp. *cereus*. **Food Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 625-630, 1998.

GEREZ, C.L et al. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. **Food Control**, v.20, n. 2, 2009

GIANNOU, V.; KESSOGLOU, V.; TZIA, C. Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 99–108, 2003.

GRAVES, R.R. et al.,W. Bacterial and actinomycete flora of Kansas-Nebraska and Pacific Northwest wheat and wheat flour. **Cereal Chem.**, v.44, n.3, p.228, 1967.

HITM. **FOOD PATHOGEN CONTROL DATA SUMMARY**. 2011. Disponível em: < <http://www.hi-tm.com/RFA/food-path-summ.pdf>> Acesso em: 20/04/11

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Meeting the FSO Through control Measures. **Micro-organisms in Foods**. 7. Microbiological Testing in Food Safety Management. New York, NY., USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. p. 45-70

JÄÄSKELÄINEN, E. **Assessment and control of *Bacillus cereus* emetic toxin in food**.Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, Helsinki. 2008.

JAGANNATH, A.; TSUCHIDO, T.; MEMBRÉ, J.-M. Comparison of the thermal inactivation of *Bacillus* spp. *subtilis* spores in foods using the modified Weibull and Bigelow equations. **Food Microbiology**, v. 22, n. 2-3, p. 233-239, 2005.

KATINA, K. Potential of Lactic Acid Bacteria to Inhibit Rope Spoilage in Wheat Sourdough Bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, n.1, p-38-45, 2002.

KAUR, P. Survival and growth of *Bacillus cereus* in bread. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 60, n. 6, p. 513-516, 1986.

KING, B.D. Microbial Inhibition in Bakery Products- A Review. **Baker's Digest**, 1981., apud SMITH , J,P , et al. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products-A Review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.1, 2004.

KRAMER, J.M.; GILBERT, R.J.. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. **Foodborne Bacterial Pathogens**, p.22., New York ,1989.

LAAKSONEN, T.J.; ROSS, Y.H. Thermal, dynamic-mechanical and dielectric analysis of phase and state transitions of frozen wheat doughs. **Journal of Cereal Science**, v. 32, n. 3 ,p. 281-292, 2000.

LEGAN, J.D. (1993) Mould spoilage of bread: The problem and some solutions. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 32, p.33–5

LEGUERINEL, I. et al. Validation of an overall model describing the effect of three environmental factors on the apparent D-value of *Bacillus spp. cereus* spores. **International Journal of Food Microbiology**, v. 100, n. 1-3, p. 223-229, 2005.

LENNOX, J.E. E MCELROY, L.J. Inhibition of Growth and Patulin Synthesis in *Penicillium expansum* by Potassium Sorbate and Sodium Propionate in Culture. **APPL. Environ. Microbiol.** v.48, 1984.

LEAPER, S. E RICHARDSON, P. Validation of thermal process control for the assurance of food safety. **Food Control**, v.10, n. 4, p. 281-283, 1999.

LOSTIE, M., PECZALSKI, R., ANDRIEU, J., & LAURENT, M. Study of sponge cake batter baking process. I: experimental data. **Journal of Food Engineering**, v.51, n. 2,p. 131–137, 2002.

MAFART, P. et al. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. **International Journal of Food Microbiology**, v.72, n.1-2, p. 107-113, 2002

MACKEY, B.M. et al.. Predicting the thermal inactivation of bacteria in a solid matrix: Simulation studies on the relative effects of microbial thermal resistance parameters and process conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, n. 3, p. 295-303, 2006.

MALAVAZI, B.C. **Enterococos em amostras de alimentos e águas: avaliação da virulência e do desempenho como indicadores de higiene.** 2007. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-10102007-105510/>>. Acesso em: 2011-12-11

MATUDA, T.G. **Estudo do congelamento da massa de pão: determinação experimental das propriedades termofísicas e desempenho de panificação.** Tese (Doutorado em Engenharia ) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

MONDAL, ARPITA; DATTA, A.K. Bread baking – A review .**Journal of Food Engineering**, v.86, n. 4., p.465-474, 2008.

NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. **Hazard Analysis and Critical Control Point Principles and Application Guidelines.**1997. Disponível em:



<<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/HazardAnalysisCriticalControlPointsHACCP/HACCPPrinciplesApplicationGuidelines/default.htm>> Acesso em: 12/04/11

OLSEN, C.M. Microwaves inhibit bread mold. **Food Engineering** v.37, n.7, p.51–53, 1965

O'BRIEN, S.S. **BACTERIAL CONTAMINATION OF COMMERCIAL YEAST**  
Dissertação-Faculty of Science, University of the Witwatersrand, Gauteng, 2004

PALOP, A. et al. Influence of pH on heat resistance of *Bacillus* spp. *licheniformis* in buffer and homogenised foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 29, n.1, p. 1-10, 1996.

PATERAS, IRENE M. C. **Bread Spoilage and Staling**. In: CAUVAIN, STANLEY P.; YOUNG, LINDA S.; PATERAS, IRENE M. C. Technology of breadmaking. Springer US, 2007. p. 240-261

PEPE, O. et al. Rope-Producing Strains of *Bacillus* spp. from Wheat Bread and strategy for Their Control by Lactic Acid Bacteria. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, p. 2321–2329, 2003.

PITT, JOHN I.; HOCKING, AILSA D. **Fungi and food spoilage**. 3 ed. New York, 1997.

PURLIS, E.; SALVADORI, V.O. Bread baking as a moving boundary problem. Part 2: Model validation and numerical simulation. **Journal of Food Engineering**, v.91, n.3, p. 434-442, 2009.

RASO, J. et al. Influence of sporulation temperature on the heat resistance of a strain of *Bacillus* spp. *licheniformis* (Spanish Type Culture Collection 4523). **Food Microbiology**, v. 12, p.357-361, 1995.

RICHTER, K.S., DORNEANU, E., ESKRIDGE, K.M. AND RAO, C.S. Microbiological quality of flours. **Cereal Foods World**, v.38, n.5, p.367, 1993.

RYAN, L.A.M.; DAL BELLO, F.; ARENDT, E.K. The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread, **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, n. 3, p. 274-278, 2008.

ROSENKVIST, H.; HANSEN, A. Contamination profiles and characterisation of *Bacillus* species in wheat bread and raw materials for bread production. **International Journal of Food Microbiology**, v.26, n.3, p.353-363, 1995.

ROSENQUIST, H.; HANSEN, Å. The antimicrobial effect of organic acids, sour dough and nisin against *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* isolated from wheat bread. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, p. 621–631, 1998.

SALKINOJA-SALONEN, M. S., VUORIO, R., ANDERSSON, M. A., KAMPFER, P., ANDERSSON, M. C., HONKANEN-BUZALSKI, T. AND SCOGING, A. C. (1999). Toxigenic Strains of *Bacillus licheniformis* Related to Food Poisoning. **Appl. Environ. Microbiol.**v. 65, p.4637-4645.

SEILER, D.A.L..**Intermediate Moisture Foods**. Applied Science, 1968. p.166., apud SMITH , J,P , et al. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products-A Review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.1, 2004.

SHAPTON, D.A; SHAPTON, N.F. **Principles and practices for the safe processing of foods**:, Oxford, 1991, 457 p., Food Control, V. 4, n.4, 1993.

SMITH , J,P , et al. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products-A Review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.1, 2004.

STAUFFER, C.E. Principles of Dough formation In CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L.S. **Technology of Breadmaking**, London: Blackie Academic & Professional, 1998. p. 262-295

TABIBI, M. E SALEHIAN, A.A. Food Poisoning in Bread Caused by *Aspergillus flavatoxin*. **Acta Méd. Iran**. 1974, apud SMITH , J,P , et al. Shelf Life and Safety.Concerns of Bakery Products-A Review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.1, 2004.

THERDTHAI, N., ZHOU, W., ADAMCZAK, T. Optimisation of the temperature profile in bread baking. **Journal of Food Engineering**, v. 55 n. 1,p. 41–48, 2002.

TEIXEIRA, A.A .**Thermal Food Processing.New Technologies and Quality Issues**Edited by Da-Wen Sun.CRC Press, p.73–106, 2006.

THORVALDSSON, K.; SKJOLDEBRND, C. Water diffusion in bread during baking. **LWT**, v. 31 ,n. 7-8 p. 658–663, 1998.

UNIÃO EUROPEIA. DIRECTIVA/95/2/CE, de 20 de Fevereiro de 1995. **Jornal Oficial das Comunidades Européias**, 18 de mar. de 1995.

UNIÃO EUROPEIA. REGULAMENTO (CE) N. °1881/2006 , de 19 de Dezembro de 2006. **Jornal Oficial das Comunidades Européias**, 20 de Dez. de 2006.

VALERIO, F. et al. Use of LactoBacillus spp. plantarum fermentation products in bread-making to prevent Bacillus spp. subtilis ropy spoilage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, n.3, p.328-332, 2008.

VAN ASSELT, E.D; ZWIETERING, M.H. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens, **International Journal of Food Microbiology**, Volume 107, Issue 1, 1 March 2006, Pages 73-82, ISSN 0168-1605, 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.08.014.

VANIN, F.M.; LUCAS,T.; TRYSTRAM,G. Crust formation and its role during bread baking. **Trends in Food Science &Technology**, v. 20, n. 8, p. 333-343, 2009.

VISCONTI, A.; BOTTALICO, A. High levels of Ochratoxins a and b in moldy bread responsible for mycotoxicosis in farm animals. **J. Agric. Food Chem.** V. 31, n.5 p. 1122, apud SMITH , J,P , et al. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products-A Review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.1, 2004.

VOYSEY, P.A. (1989) Studies of rope in bread. **FMBRA Bull**, 141-148. apud PATERAS, IRENE M. C. **Bread Spoilage and Staling**. In: CAUVAIN, STANLEY P.; YOUNG, LINDA S.; PATERAS, IRENE M. C. Technology of breadmaking. Springer US, 2007. p. 275-298.

WIGGINS, C. Proving, baking and cooling. In S. P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), **Technology of Breadmaking**, London: Blackie Academic & Professional, 1998. p. 120–148.

WILKINSON, J. **Da ditadura da oferta à democracia da demanda? Transgênicos, orgânicos e a dinâmica da demanda no sistema agroalimentar**. Apresentado no Simpósium “Tecnologia Agrícola, Sociedade e Ciências da Vida”. X Congresso Mundial de Sociologia Rural, Rio de Janeiro, 2000.

ZANONI, B., PERI, C. A study of the bread-baking process. I: a aphenomenological model. **Journal of Food Engineering**, v. 19, n. 4, p. 389–398, 1993.

ZANONI, B.; PIERUCCI, S.; PERI, C. A study of the bread-baking process. II: Mathematical modelling. **Journal of Food Engineering**, v. 23, p.321–336, 1994.

ZANONI, B., PERI, C., BRUNO, D. Modelling of browning kinetics of bread crust during baking. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n.6, p. 604–609, 1995

ZHANG, J., DATTA, A.K. Mathematical modeling of bread baking

process. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 1, p. 78–89, 2006.

ZHANG, J.; LUCAS, T.; DOURSAT, C.; FLICK, D.; WAGNER, M. Effects of crust constraints on bread expansion and CO<sub>2</sub> release. **Journal of Food Engineering**, v.80, n. 4, p. 1302–1311, 2007.