

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CONTROLE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE NATUREZA BIOLÓGICA
NO PROCESSO E ARMAZENAMENTO DE XAROPE DE MILHO**

DANIELA MONTEIRO PORTO

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

**Uberlândia-MG
Novembro/2000**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CONTROLE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE NATUREZA BIOLÓGICA
NO PROCESSO E ARMAZENAMENTO DE XAROPE DE MILHO**

DANIELA MONTEIRO PORTO

DAISE A.ROSSI

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

**Uberlândia - MG
Novembro/2000**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CONTROLE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE NATUREZA BIOLÓGICA
NO PROCESSO E ARMAZENAMENTO DE XAROPE DE MILHO**

DANIELA MONTEIRO PORTO

APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA EM ____ / ____ / ____ Nota _____

Daise A. Rossi

Silvana Guimarães Marquez

Angela Maria A. H. Beicher

Uberlândia, ____ de _____ de _____.

RESUMO

Com o objetivo de determinar etapas críticas de contaminação biológica em uma planta produtora de xarope de milho, foram pré determinados 6 pontos de controle: tanque de acidificação, filtro rotativo, tanque de enzima, evaporador, armazenamento e carregamento, onde foram realizadas análises microbiológicas. O experimento constou de 14 repetições. Os resultados obtidos demonstraram que o processo não é suficientemente eficiente para eliminar toda a contaminação, havendo a necessidade de controlar os pontos de controle que seriam a temperatura e o pH, para se conseguir estabilidade no processo em relação ao crescimento microbiológico. O armazenamento foi o ponto de maior contaminação, necessitando controle de temperatura, uso de concentrações maiores de conservantes, menor tempo de estocagem do produto e sanitização do tanque para prevenir contaminação cruzada e fermentação por microrganismos osmofílicos. No entanto, o ponto considerado como crítico foi o carregamento, pois o produto após esta etapa se destina ao consumo final. Através das análises, constatou-se que a contaminação microbiana proveniente dos Tanques de Armazenamento reduziu significativamente devido ao aumento da temperatura no ato de carregar o produto. Foi verificado a necessidade de um controle rigoroso da temperatura de carregamento, devendo esse ser um ponto crítico de controle, e também a empresa estabelecer um programa de sanitização dos tanques afim de evitar a contaminação cruzada.

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1. XAROPES DE AMIDO DE MILHO.....	3
2.2. <i>Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC)</i>	4
2.3. Boas Práticas de Fabricação (BPF)	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	10
3.1.1. <i>Análise do amido diluído em água</i>	12
3.1.2. Análise do xarope de milho	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5. CONCLUSÕES.....	21
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	22

ÍNDICE DE TABELAS

1. **TABELA 1.** RESULTADOS DAS CONTAGENS DE BOLORES, LEVEDURAS E BACTÉRIAS OSMOFÍLICAS (UFC/G), NO FILTRO ROTATIVO (PC2), TANQUE DE ENZIMA (PC3) E EVAPORADOR(PC4).....15
2. **TABELA 2.** RESULTADOS DAS CONTAGENS DE BOLORES, LEVEDURAS E BACTÉRIAS OSMOFÍLICAS (UFC/G), NO TANQUE DE ARMAZENAMENTO (PC5) E CARREGAMENTO (PC6).....17

ÍNDICE DE FIGURAS

1. **FIGURA 1.** FLUXOGRAMA DA PRODUÇÃO DO XAROPE DE MILHO.....11

2. **FIGURA 2.** PERCENTUAL DE OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS, BOLORES E LEVEDURAS NO TANQUE DE ACIDIFICAÇÃO (PC1), FILTRO ROTATIVO (PC2), TANQUE DE ENZIMA (PC3) E EVAPORADOR(PC4).....16

3. **FIGURA 3.** PERCENTUAL DE OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS, BOLORES E LEVEDURAS NO TANQUE DE ARMAZENAMENTO (PC5) E CARREGAMENTO (PC6).....19

1. INTRODUÇÃO

O reconhecimento pela indústria alimentícia de que os adoçantes líquidos, principalmente os comercializados na forma de xaropes, oferecem facilidade de manipulação e são importantes coadjuvantes para melhorar as características funcionais de outros alimentos, vem aumentando a popularidade dos adoçantes de milho e rapidamente expandindo seu uso. O xarope de milho é hoje considerado, devido sua praticidade e qualidade, um dos mais importantes ingredientes na elaboração de alimentos, tanto a nível industrial quanto do consumidor final (BIRCH & PARKER, 1978). Dentre as diversas áreas que utilizam o xarope de milho como ingrediente, destacam-se as indústrias produtoras de alimentos infantis, panificação, bebidas fermentadas e carbonatadas, ketchup e molhos de tomate, cereais preparados, queijos e derivados, produtos de chocolate, sucos de fruta adoçados, condimentos, produtos de confeitaria, sobremesas congeladas, geleias, gelatinas, conservas, produtos de carne, embutidos, entre outras (C.A.S., 1991).

Por ser ingrediente importante no preparo de diferentes produtos alimentícios, o xarope de milho necessita de um controle rigoroso em todas as etapas de fabricação, sendo o monitoramento de microrganismos contaminantes, uma forma importante de manter a segurança para o consumidor e também prevenir a deterioração. Para garantir a qualidade de seus processos, a partir da década de 80 as indústrias de alimentos passaram a redirecionar seus sistemas de gestão de qualidade no sentido de torná-los cada vez mais preventivos e menos corretivos. Esta tendência tem-se fortalecido tanto pela constatação de que os sistemas tradicionais de inspeção e controle de qualidade não têm sido capazes de garantir a inocuidade dos alimentos, como pela necessidade cada vez maior de racionalizar recursos e otimizar processos.

A qualidade de produtos utilizados como matéria-prima ou usados diretamente pelo consumidor necessitam de acompanhamento desde o processo de produção até a comercialização. Com esta finalidade é necessário a realização de testes microbiológicos e monitoramento do processo de fabricação e armazenamento, evitando perdas e qualificando o produto para o consumo.

Como forma de obter alimentos seguros, diferentes procedimentos vêm sendo adotados pelas indústrias, dentre eles, a detecção de pontos críticos do processo de fabricação e ações corretivas logo após a identificação do perigo, o APPCC (análise de perigos e pontos críticos de controle), que enfatiza medidas preventivas. Este sistema, associado às boas práticas de fabricação (BPF), tem-se revelado como a ferramenta básica do moderno sistema de gestão da qualidade nas indústrias de alimentos, sendo compatível com sistemas de série ISO 9000 e de qualidade total.

A contaminação por microrganismos pode acontecer em diferentes etapas da fabricação dos alimentos, dependendo de condições favoráveis ou não para seu desenvolvimento no decorrer do processamento, como pH, temperatura, exposição ao ambiente, tipo de equipamento, teor de umidade ou água disponível, osmolaridade, dentre outras. No caso da produção de xarope de milho, a contaminação pode ocorrer nos tanques de armazenamento de xarope ou outros pontos que apresentem condições favoráveis. Segundo PELCZAR *et al.* (1996) o alimento pode se tornar um substrato para microrganismos, se apresentar condições favoráveis, e devido suas características de composição e processamento, o xarope de milho pode ser contaminado principalmente por microrganismos osmofílicos, que apesar de não serem patogênicos podem causar fermentação do produto e deterioração. Os fungos osmofílicos, por exemplo, são encontrados em roupas velhas ou material de couro, mas basicamente vivem em superfície de doces e geleias (MALLOCHLAB, 2000).

Desta forma, visando verificar a possível contaminação em uma planta industrial produtora de derivados de milho, este trabalho possuiu como objetivo identificar os pontos críticos de controle biológico na produção de xarope de milho através de análises microbiológicas e propor medidas corretivas para torná-lo seguro.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Xaropes de amido de milho

A descoberta de que o amido poderia ser transformado em substâncias doces através de aquecimento com ácido diluído tem mais de 175 anos. Foi feita em um laboratório de cerâmica russo pelo químico Kirchoff, que estava procurando um substituto para a goma arábica, que era então, utilizada como uma cola solúvel para a argila. Trabalhos subseqüentes de outros cientistas demonstraram que o amido é a forma polimérica da glucose, obtida pela hidrólise ou conversão, abrindo assim, o caminho para a criação de uma indústria de adoçantes à base de milho e seus derivados (CARGILL, 1980).

Os adoçantes estavam em muita evidência na época da descoberta de Kirchoff. A França estava em guerra com a Inglaterra e a importação de cana-de-açúcar das Índias Ocidentais tinha sido fechada pelo bloqueio imposto pelos britânicos aos portos europeus. Os franceses apreciavam bastante as coisas doces e a escassez foi tão crítica que Napoleão sofreu forte pressão política para encontrar um adoçante disponível. Desta forma, gerou-se o suporte financeiro governamental para pesquisar a produção de açúcar tanto de beterraba como de uvas. O açúcar de amido atraiu interesse nas atividades de destilação e produção de cerveja devido a sua facilidade de fermentação (CARGILL, 1980).

A hidrólise do amido não foi praticada comercialmente nos Estados Unidos até 1842 e só atingiu proporções significativas por volta de 1857. Inicialmente, a batata serviu como a primeira fonte de amido e xarope, sendo o açúcar em flocos (dextrose), originalmente conhecido como açúcar de milho, produzido numa fábrica de amido de milho em Búffalo no estado de Nova Iorque em 1866. Esta aplicação industrial e a subseqüente elaboração da química dos açúcares iniciada pelo experiente químico Emil Fischer, laureado com o Prêmio

Nobel, serviram como a primeira base científica para o crescente desenvolvimento tecnológico do amido (CARGILL, 1980).

A produção de adoçantes derivados do amido de milho é um processo que envolve diversas etapas, sendo o ponto inicial, a conversão de uma massa de amido, proveniente do processamento do milho por via úmida em xarope ou líquido contendo poucos sólidos. Esta conversão é ácido-enzimática, onde uma massa seca de amido é acidificada até atingir aproximadamente um pH=2.0 e um pré-determinado D.E. (total de açúcares redutores no xarope) sendo bombeada para dentro de um conversor. Esta etapa é encerrada pela redução de pressão e neutralização do líquido resultante em equipamento adequado. Subsequentemente, o líquido é então tratado com uma enzima apropriada ou com uma combinação de enzimas para completar a conversão, sendo que alguns xaropes não passam por este tratamento. A enzima após a conversão é desativada e o líquido sofre uma clarificação para remover os sólidos suspensos, sendo então, concentrado por evaporação até uma densidade intermediária. O xarope conseguido é posteriormente clarificado, descolorido e finalmente concentrado em evaporadores até densidade final. Alguns xaropes são tratados com resinas trocadores de íons para posterior refino (CARGILL, 1980).

Para comercialização de xaropes, existem grande variedade de fórmulas e embalagens disponíveis, que representam um exemplo significativo dos frutos da pesquisa e do desenvolvimento industrial dirigidos às necessidades do consumidor. Nos Estados Unidos, os adoçantes derivados do amido de milho abrangem 37% da demanda do consumo (WHISTLER *et al.*, 1984). O desenvolvimento tecnológico dirigido para o consumidor de novos produtos derivados de milho continua a orientar o crescimento da indústria, assim como seu potencial de serviços. A visão de futuro para produtos crescentemente sofisticados é bastante expressiva (CARGILL, 1980).

2.2. Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC)

Dentre os sistemas de qualidade adotados por estabelecimentos produtores de alimentos, destaca-se a análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), que tem

sido amplamente defendido como um dos métodos mais eficazes para assegurar a qualidade dos alimentos.

De acordo com DESTRO (1996) pode-se definir como alimento seguro, àquele no qual constituintes ou contaminantes que causem perigo à saúde, estão ausentes ou abaixo do limite de risco. Um alimento pode tornar-se de risco devido à contaminação e/ou crescimento de microrganismos patogênicos ou deteriorantes, uso excessivo ou acidental de aditivos químicos, poluição ambiental ou degradação de nutrientes. Deste modo, viu-se a necessidade de se implantar sistemas de qualidade nas indústrias, que enfatizassem medidas preventivas, surgindo assim o sistema APPCC (análise de perigos e pontos críticos de controle), também conhecido, internacionalmente, como Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP).

O mais importante elemento do sistema APPCC é a sua natureza preventiva e o controle do processo de fabricação nos seus pontos críticos (qualquer ponto, etapa ou procedimento no qual o controle pode ser aplicado para garantir a segurança do produto). Neste sentido, problemas que poderiam causar impacto na segurança dos alimentos, podem ser prontamente detectados e corrigidos antes do produto estar completamente processado e embalado (ELEMENTOS.....,1999).

Os perigos do sistema APPCC podem ser classificados em: a) biológicos: moscas, insetos e microrganismos causadores de infecções e intoxicações; b) químicos: pesticidas, hormônios, antibióticos, aditivos, etc.); c) físicos: vidros, metais ou objetos que podem causar um choque no consumidor e serem antiestéticos e desagradáveis (ELEMENTOS....., 1999).

Segundo ALMEIDA (1998), os perigos biológicos são os mais sérios, do ponto de vista da saúde pública, sendo necessário destacá-los, uma vez que um pedaço de metal (perigo físico) em alimentos pode provocar uma lesão bucal em um consumidor, enquanto que a contaminação de um lote de leite pasteurizado pode afetar centenas ou milhares de consumidores.

Os princípios do APPCC foram profunda e detalhadamente estudados pela indústria e agências governamentais. Este sistema é constituído por sete princípios que consistem em: 1) efetuar uma análise de perigos e identificar as medidas preventivas; 2) identificar os pontos críticos de controle (PCCs); 3) estabelecer limites críticos para as medidas

preventivas associadas com cada PCC; 4) estabelecer os requisitos de controle (monitoramento) do PCC e estabelecer procedimentos para utilização dos resultados do monitoramento para ajustar o processo e manter o controle; 5) estabelecer ações corretivas para o caso de desvio dos limites críticos; 6) estabelecer um sistema para registro de todos os controles; 7) estabelecer procedimentos de verificação para monitorar se o sistema está funcionando adequadamente (ALMEIDA, 1998).

2.3. Boas Práticas de Fabricação (BPF)

Dentre os programas de ações realizadas para assegurar que o produto final satisfaça a qualidade desejada para sua intenção de uso, a implantação de Boas Práticas de Fabricação compreende uma etapa importante para assegurar que um produto é consistentemente fabricado com qualidade apropriada para seu consumo (JURAN & GRAYNA, 1991).

A implementação e implantação de BPF em uma indústria compreende uma norma específica envolvendo: a) organização e pessoal; b) prédios e utilidades; c) equipamentos; d) controle de matérias primas e materiais de embalagem; e) produção e controles de processo; f) embalagem (acondicionamento) e rotulagem, e g) almoxarifado e distribuição.

A organização e pessoal requer da empresa uma estrutura organizacional, separando a função da qualidade da de produção, qualificação e higiene pessoal, assegurando também a saúde aos seus funcionários.

O controle de matérias primas e materiais de embalagem é um dos itens mais importantes do sistema, que sendo negligenciado, ocasiona o risco de perda de todo o lote após a sua produção (EUCHI, 1997). Com o objetivo de evitar este risco, os seguintes procedimentos devem ser adotados: 1) matérias primas e embalagens são liberadas somente se reunirem os padrões de conformidade, sendo todas identificadas, amostradas, testadas e estabelecidos por sua especificação; 2) devem ser executados testes microbiológicos em todas as matérias primas suscetíveis; 3) as matérias primas deverão ter um número de controle de identificação e seguir o sistema FIFO (First in, First out); 4) devem apresentar condições de armazenagem apropriadas para proteção contra condições ambientais

adversas, sujeira, insetos e roedores ou outras fontes de contaminação. As matérias primas em análise pelo controle de qualidade devem estar em local separado das aprovadas.

Existem também elementos essenciais para um programa eficiente de segurança da qualidade: 1) definição e identificação das tarefas e pessoal relacionado e responsável para a execução da segurança de qualidade; 2) estabelecimento de um fluxograma do processamento; 3) avaliação dos pontos críticos específicos no processamento para manter a segurança do produto; 4) sistema de registro desses pontos; 5) especificação para matéria-prima, linha de produto, embalagem, condições de armazenamento e produtos acabados; 6) códigos de produtos e sistema de recolhimento que permitem retorno eficiente e completo de produtos defeituosos; 7) manual de higiene que descreva todos os aspectos de um programa de segurança da qualidade; 8) inspeção do programa; 9) compromisso da gerência com o programa.

Além de todos os requisitos acima relacionados, também a limpeza e sanitização é ponto importante na implantação de BPF, devendo ser padronizada e regular em todos os equipamentos e dependências da indústria. A limpeza e sanitização deve ser particularmente cuidadosa em equipamentos e utensílios que entrem em contato direto com o produto durante sua produção, principalmente quando o contato acontece pós processamento, devendo sua eficiência ser monitorada regularmente (TROLLER, 1983; KUAYE, 1999).

A limpeza e sanitização estão baseadas numa sequência de quatro fases: a) pré-lavagem; b) lavagem; c) enxágue; d) sanitização (GAVA, 1998).

A pré lavagem reduz os resíduos aderentes ao equipamento e, quando efetuada de forma adequada, chega a remover até 90% do material solúvel presente. Essa operação é comumente conduzida com emprego de água ligeiramente aquecida (38°C a 46°C), pois a água excessivamente quente é prejudicial, uma vez que pode causar a coagulação de proteínas (desnaturação), resultando assim numa aderência maior e, conseqüentemente, dificultando a operação de limpeza. A lavagem com água fria pode resultar na solidificação de gorduras nas superfícies, prejudicando a eficiência da limpeza (fase 2).

A lavagem, segunda fase, ocorre com a aplicação de uma solução de limpeza (detergente). Coloca-se a solução detergente em contato direto com a sujidade com o objetivo de separá-las das superfícies a serem limpas, dispersá-las no solvente e prevenir sua nova deposição sobre as superfícies limpas. Um detergente ideal deve apresentar: a)

solubilidade rápida e completa; b) não ser corrosivo; c) capacidade de remover a dureza da água; d) boa capacidade molhante e de penetração; e) ação emulsificante; f) ação de dissolver resíduos sólidos; g) ação dispersante, desfloculante ou de suspensão; h) ação enxaguante; j) atóxico; l) econômico; m) estável durante o armazenamento;

A ação da solução de limpeza deve ser atingida por uma série de quatro etapas básicas: 1) a solução detergente entra em contato íntimo com o resíduo a ser removido através de suas características molhantes e penetrantes; 2) deslocamento de resíduos sólidos e líquidos da superfície por ação saponificante em gorduras, peptizante em proteínas e dissolvente em minerais; 3) dispersão dos resíduos no solvente por ação dispersante, desfloculante ou emulsificante; 4) evitar a redeposição dos resíduos na superfície através das características de lavagem.

Na terceira fase, o enxágue, os equipamentos deverão ser enxaguados para remover resíduos suspensos e traços dos componentes de limpeza. Para a maioria das aplicações, a água deve ser morna e um limpador ácido deve ser adicionado para ajustar o pH da água a 5,0 – 5,5. Usando uma solução ácida no enxágue, a substância mineral é mantida em solução, prevenindo assim a formação de filmes minerais, principalmente em caso de águas duras. Em alguns casos, quando se utiliza para o enxágue água quente, esta etapa já apresenta um bom efeito na eliminação de microrganismos, além de favorecer uma secagem mais rápida pela evaporação da umidade na superfície, limitando o crescimento de bactérias.

A sanitização é o último item do fluxograma de limpeza correta, devendo ser efetuada antes do uso do equipamento. A limpeza, por si só, não elimina todos os tipos de bactérias, embora uma boa limpeza reduza a concentração inicial de microrganismos. Além disso um equipamento que não foi adequadamente limpo não poderá ser corretamente sanitizado, pois resíduos remanescentes protegem as bactérias da ação do agente sanitizante. Assim, a sanitização não resolve problemas, quando a limpeza não é efetuada corretamente.

A sanitização por meios químicos é muito usada na prática, principalmente por razões econômicas, destacando-se o uso dos compostos clorados, iodados e quaternários de amônio. O cloro é um sanitizante amplamente utilizado para desinfecção de equipamentos, devido ao seu baixo custo e a sua atividade germicida. Recomenda-se o uso de 100 ppm de cloro durante dois minutos na imersão e circulação. As vantagens do produto seriam: a)

efetivo contra grande número de bactérias; b) bastante efetivo contra esporos bacterianos; c) não é afetado pela água dura. Desvantagens: a) corrosivo; b) é afetado pela matéria orgânica; d) pode provocar irritação na pele; e) pode causar alteração no sabor, necessitando de um novo enxágue.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Baseado no processo tecnológico adotado e fluxograma de fabricação de xarope de milho, foram pré determinados 6 pontos de controle para coleta de amostras para análises microbiológicas, que poderiam se constituir em pontos críticos de controle do processo. O fluxograma de produção do xarope de milho e pontos de coleta para análise podem ser observados na Figura 1.

Como resultado da tecnologia de fabricação adotada pela indústria, dois produtos foram analisados no processo. Até o momento de ser adicionado no tanque para acidificação, foi analisado o produto amido diluído em água, que constituiu o ponto de controle 1 (PC1), após a acidificação, o produto resultante já é considerado dextrose. Seguindo o fluxograma de produção, foram considerados pontos de controle os filtros rotativos, o tanque de adição das enzimas, o evaporador, o armazenamento e o carregamento, denominados PC2, PC3, PC4, PC5 e PC6, respectivamente. O experimento foi realizado durante os meses de maio a novembro de 2000 e constou de 14 repetições.

3.1. Análises microbiológicas

Todas as amostras para análise microbiológica foram coletadas em potes plásticos, previamente esterilizados e identificados com local de coleta, data e lote. As amostras foram armazenadas em estufa à 55°C até o momento da análise. A análise microbiológica foi realizada em capela asséptica, previamente higienizada com álcool a 70% e submetida à radiação ultra violeta por 1 hora, sempre na presença de bico de Bunsen.

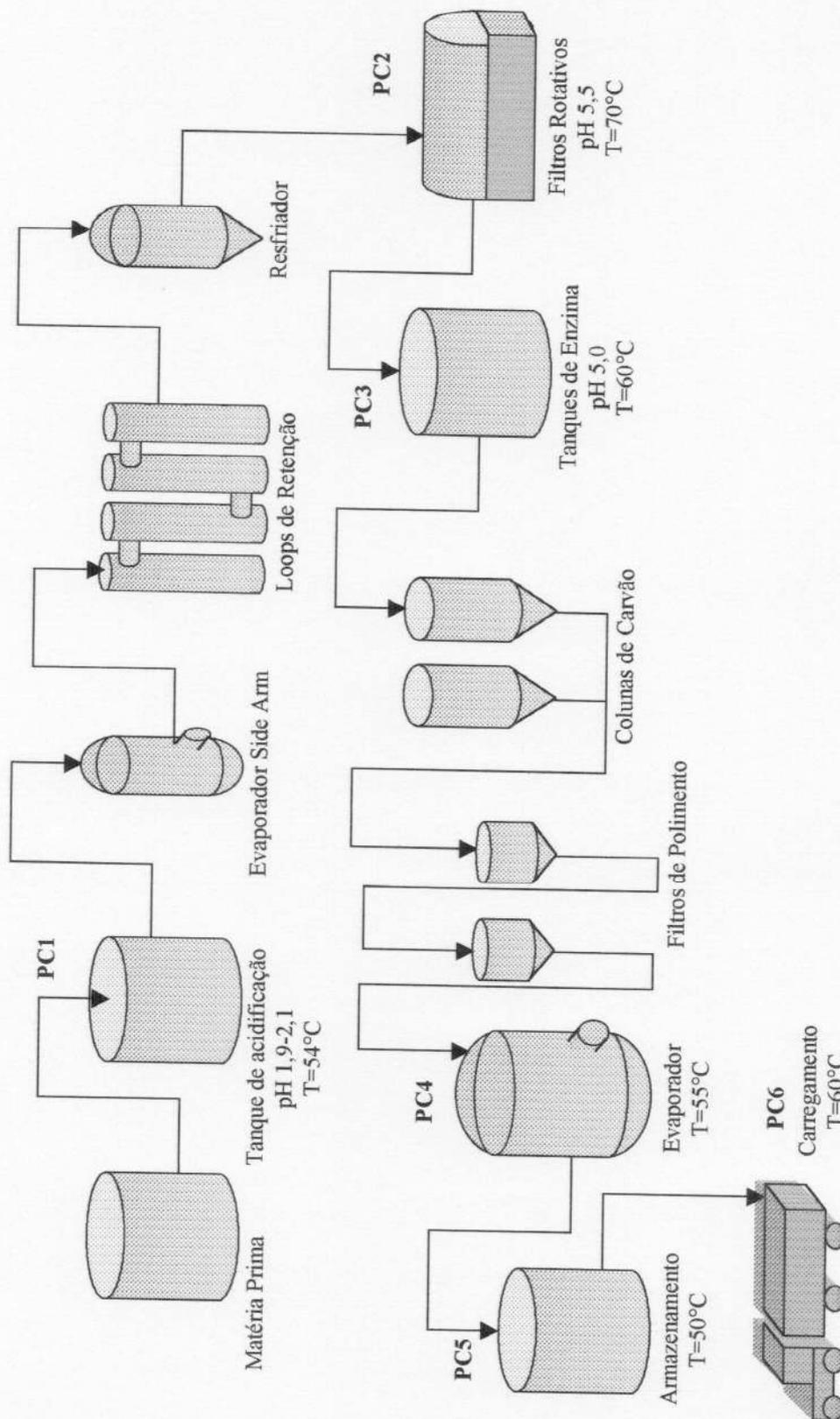


Figura 1. Fluxograma da produção do Xarope de Milho

3.1.1. Análise do amido diluído em água

Para análise de bactérias aeróbicas mesófilas, e bolores e leveduras da amostra de amido e água (PC1), a amostra foi previamente diluída em água peptonada tamponada (APT) na proporção 1:9, obtida pesando-se 1mL da amostra em 9mL de APT. A metodologia utilizada para enumeração dos microrganismos mesófilos foi a descrita por (SILVA *et al.*, 1997). Foram depositados em placa de Petri estéril, 1 mL da diluição (1mL da amostra e 9mL de APT) e cerca de 15mL de ágar padrão para contagem (PCA) previamente fundido e resfriado a 45°C. Amostra e meio foram então homogeneizadas e após solidificação, incubadas em posição invertida em estufa bacteriológica a 35°C/48 horas. Após incubação, as colônias foram contadas e o número obtido multiplicado pela recíproca da diluição (10^{-1}) utilizada e o resultado expresso como unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL).

A contagem de bolores e leveduras foi realizada utilizando a metodologia descrita pela A.O.A.C. (1999), através da inoculação da amostra previamente diluída em superfície de placas contendo potato dextrose agar (PDA) acidificado até pH 3,5 com ácido tartárico. Após inoculação, as placas foram incubadas a 25°C/72 horas em estufa e a contagem realizada com auxílio de contador de colônias. Após contagem, os números foram multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e o resultado expresso em UFC/mL de bolores e leveduras.

3.1.2. Análise do xarope de milho

A análise microbiológica das amostras coletadas nos demais pontos de controle (xarope de milho) constou de contagem de microrganismos osmofílicos, sendo a metodologia utilizada, a preconizada pela (C.S.A., 1991).

Para as análises nos pontos PC2, PC3, PC4, foram pesadas 50mL das amostras e adicionados 50mL de solução diluente em frasco estéril, no PC5 e PC6, foram diluídas 20mL de amostra em 80mL do diluente. O diluente utilizado foi uma solução a 40% de dextrose em água destilada. Para a enumeração de microrganismos osmofílicos, foi realizada a inoculação em profundidade, de 1mL da diluição e adição de cerca de 15mL de

agar PCA modificado (PCA 23,5 g/L, dextrose 110g/L), sendo o restante dos procedimentos como descrito na contagem de bactérias mesófilas. Para a análise de bolores e leveduras osmofílicos, o meio de cultura utilizado foi o agar PCA modificado, previamente acidificado até pH 3,5 com ácido tartárico a 10%, sendo a inoculação de 0,1mL realizada em superfície. A obtenção e registro dos resultados foi como descrito em 3.1.1. para bolores e leveduras do amido.

Após a contagem e registro dos bolores e leveduras, as colônias foram separadas visualmente ou com auxílio de microscopia óptica em 2 grupos: bolores ou leveduras e estes resultados utilizados para uma melhor avaliação da influência das diferentes etapas sobre a microbiota do xarope de milho.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas contagens de bactérias, bolores e leveduras demonstram que as fases do processamento do xarope não oferecem segurança na eliminação total dos microrganismos, pois foi verificado crescimento dos mesmos em pelo menos uma das etapas analisadas, em pelo menos uma das repetições.

Devido às características do produto, a análise de bactérias mesófilas só foi realizada no PC1 (tanque de acidificação do amido) e sua detecção aconteceu somente na 4ª repetição, com contagem de $8,0 \times 10^1$ UFC/mL, sendo que nesta amostra a contagem de bolores e leveduras foi de $6,0 \times 10^1$. Bolores e leveduras em número similar ($4,0 \times 10^1$ UFC/mL) foi enumerado na 3ª repetição realizada. Mesmo esta baixa frequência de presença de microrganismos não era esperada, já que nesta etapa, o produto permanece à temperatura de 54°C a um pH de 1,9-2,1, e portanto, desfavorável à multiplicação e manutenção da microbiota mesófila.

Os resultados individuais das contagens em cada repetição, realizadas no filtro rotativo, tanque de enzima e evaporador podem ser observados na Tabela 1.

Acompanhando o crescimento dos microrganismos nas diferentes etapas, pode-se observar que não houve uma evolução ou regressão da microbiota que pudesse ser associada a sua contagem inicial. Esta constatação é ilustrada pelos resultados obtidos nas repetições 2, 6, 7 e 9, que não apresentaram contagens nas etapas iniciais, mas foram detectadas no evaporador. Porém, nas amostras mais contaminadas (repetição 3 e 10) houve redução nas contagens no evaporador, onde a temperatura era de 70°C e o produto está adicionado (etapa anterior) de conservante metabissulfito de sódio. A não eliminação total da microbiota na amostra 3 pode ser devido ao fato, de nesta repetição, o produto ter

permanecido por 5 dias nos tanques, onde ocorreu fermentação devido a uma parada de fábrica, o que pode ter diminuído a eficiência do conservante adicionado. Além disso, foi observado que o tanque apresentava sujidades em seu interior, o que pode ter ocasionado contaminação por contato direto.

Tabela 1. Resultados das contagens de bolores, leveduras e bactérias osmofílicas (UFC/g), de amostras coletadas de maio a novembro de 2000, no filtro rotativo (PC2), tanque de enzima (PC3) e evaporador (PC4).

Amostra	Filtro		Tanque de enzima		Evaporador	
	Bactérias osmofílicas	Bolores e leveduras	Bactérias osmofílicas	Bolores e leveduras	Bactérias osmofílicas	Bolores e leveduras
01	0	0	12	40	0	24
02	0	0	0	0	144	0
03	0	0	6000	6120	40	0
04	0	0	12	40	0	0
05	0	40	0	0	8	0
06	0	0	0	0	0	8
07	0	0	0	0	8	0
08	0	0	0	0	0	0
09	0	0	0	0	0	24
10	8	80	6000	6000	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0

0= crescimento ausente na menor diluição utilizada.

Além das contagens de bactérias osmofílica, bolores e leveduras, as colônias enumeradas nesta segunda análise, foram identificadas e registradas separadamente como bolor ou levedura, estes resultados foram utilizados para construção de um gráfico contendo as porcentagens de ocorrência de cada grupo no tanque de acidificação, filtro rotativo, tanque de enzima e evaporador (Figura 2). Neste gráfico, a coluna indicada como

percentual de ocorrência de bactérias representa no tanque de acidificação a presença de mesófilas e nas demais etapas bactérias osmofílicas.

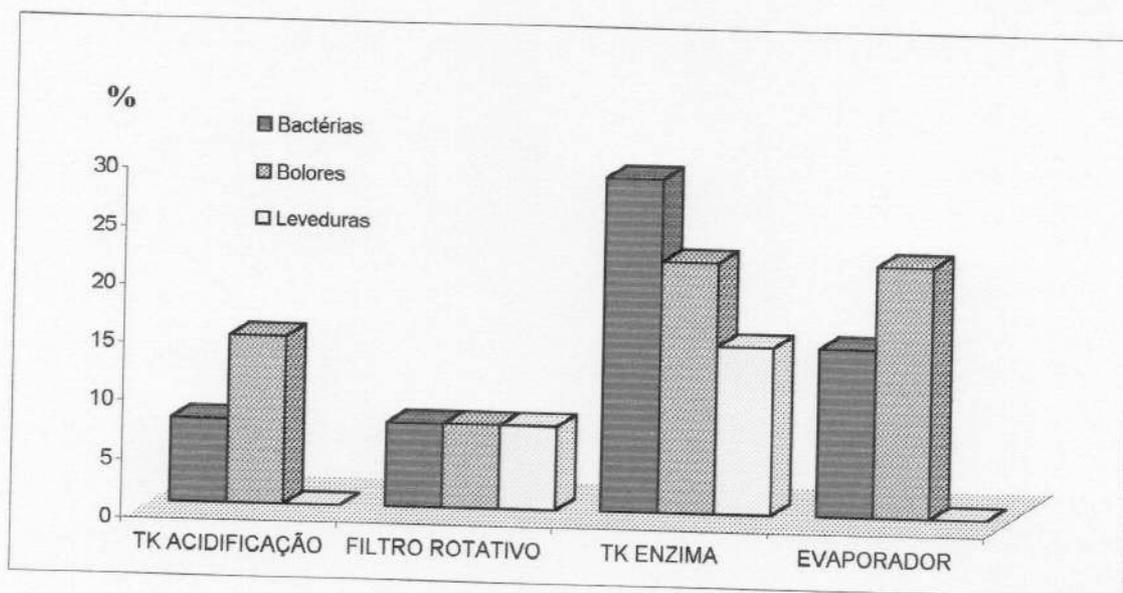


Figura 2. Percentual de ocorrência de bactérias, bolores e leveduras no tanque de acidificação (PC1), filtro rotativo (PC2), tanque de enzima (PC3) e evaporador (PC4), em 14 amostras coletadas de maio a novembro de 2000.

Observando a Figura 2, é possível verificar que ocorreu crescimento de leveduras no filtro rotativo e no tanque de enzima. Isso se deve, provavelmente, à existência nos tanques de enzima, de uma grande quantidade de açúcares fermentáveis (75%), um pH favorável e ao tempo prolongado de estocagem até serem evaporados. No filtro rotativo, este fato é consequência de que nestes tanques, uma vez que já ocorreu fermentação, o líquido é reprocessado, ou seja, retorna para o processo.

Em relação ao desenvolvimento de bolores, foram registrados contagens altas em algumas amostras em pontos isolados, de modo que os percentuais médios foram relativamente baixos.

Apesar de ter ocorrido crescimento de microrganismos nestes pontos de controle (PC1 a PC4), os números obtidos são inferiores aos tolerado pelo Ministério da Agricultura para bactérias osmofílicas, que é de no máximo 1000 UFC/g, (ABIA, 1997), com exceção das contagens no tanque de enzima nas amostras 3 e 10, onde ocorreu fermentação.

Presença e multiplicação neste ponto (tanque de enzima) era esperada, já que nesta fase do processamento há adição de bioenzimas. Apesar da posterior adição de metabissulfito de sódio (BSS), utilizado para prevenir o escurecimento enzimático, que apresenta atividade antimicrobiana e atua também sobre a germinação do endosporo durante o crescimento da célula vegetativa, a ação deste conservante é dependente do número de microrganismos e tempo de atuação, não sendo garantia de destruição total da microbiota presente. A utilização do metabissulfito de sódio é permitido em quantidades pré determinadas, já que em pequenas quantidades não causam injúrias aos seres humanos, pois são metabolizados a sulfatos e excretados na urina sem qualquer dano ao organismo (LANDGRAF, 1996).

De forma geral, a contaminação diminuiu no decorrer das etapas, sendo que, os produtos contidos nos PC1, PC2, PC3 e PC4, necessitam de um controle rigoroso do pH e temperatura. Estes pontos são, segundo a empresas, monitorados constantemente pelos operadores através de amostragem para realização de análises laboratoriais e pelo monitoramento "on line" através de instrumentos localizados em pontos específicos do processo que enviam valores para um CLP (Computador Lógico Programável) onde valores fora de especificação são corrigidos imediatamente. Dessa forma, procedimentos de auditoria para checagem periódica da instrumentação e treinamentos de reciclagem para os operadores devem ser administrados pela indústria, pois a fermentação observada nos tanques (como na amostra 3), poderia ser evitada se sua temperatura (60°C) fosse realmente monitorada e permanecesse estável.

Após a saída do evaporador, o produto é acondicionado em tanques de armazenamento (PC5), e posteriormente, carregado em caminhões, sendo nestas fases, considerado como produto final pronto para comercialização, e portanto, necessitando de monitoramento rigoroso.

No PC5 (tanques de armazenamento) foi determinado o maior índice de contaminação (Tabela 2, Figura 3), principalmente de bactérias. Estas altas contagens e frequências de amostras positivas, ocorreu provavelmente, devido a forma de coleta das amostra, que foi realizada na parte superior do tanque. Como o fechamento dos tanques não é hermético, há uma condensação da água na parte superior, o que faz aumentar a atividade de água do produto, favorecendo o crescimento de microrganismos.

Tabela 2. Resultados das contagens de bolores e leveduras e bactérias osmofílicas (UFC/g), de amostras coletadas de maio a novembro de 2000, no tanque de armazenamento (PC5) e carregamento (PC6).

Amostra*	Tanque de armazenamento		Carregamento	
	Bactérias osmofílicas	Bolores e Leveduras	Bactérias osmofílicas	Bolores e Leveduras
01	620	280	80	1200
02	1450	480	40	300
03	100	1520	0	0
04	1460	3840	0	0
05	695	360	0	0
06	1135	5600	0	0
07	420	640	0	10
08	25	80	0	0
09	5	0	0	0
10	10	80	0	0
11	5	40	10	10
12	0	80	0	0
13	20	160	10	0
14	10	0	0	0

* amostras 1-7 – coletadas após armazenamento por de 5 dias.

* amostras 8-14 – coletadas após armazenamento por 1 dia.

* 0= crescimento ausente na menor diluição utilizada.

O crescimento e número de microrganismos detectados nos tanques, também variou com o tempo de estocagem do produto (1 – 5 dias). Este fato pode ser melhor observado na Tabela 2, que apresenta os resultados das contagens de xarope de milho armazenados por 5 dias até a amostra 7 e, a partir desta repetição, resultados das amostras coletadas com 1 dia de armazenamento.

Apesar do xarope de milho não apresentar condições favoráveis ao crescimento da maioria dos microrganismos devido a redução da atividade de água (A_w 0.65), fornece um ambiente propício ao crescimento de leveduras osmofílicas por apresentar quantidade significativa de açúcar (GAVA, 1998). Estas leveduras são grandes agentes de deterioração,

crescendo em meios com até 70% de glicose, além de tolerar concentrações moderadas de etanol, 10% de NaCl e apresentar resistência a alguns conservadores químicos, como benzoato de sódio (LANDGRAF, 1996).

No carregamento, o percentual de contaminação de bactérias osmofílicas detectado nos tanques de armazenamento foi reduzida de 92,86% para 28,57%, e para bolores e leveduras de 50,00% para 14,28% e de 42,86% para 14,28%, respectivamente (Figura 3).

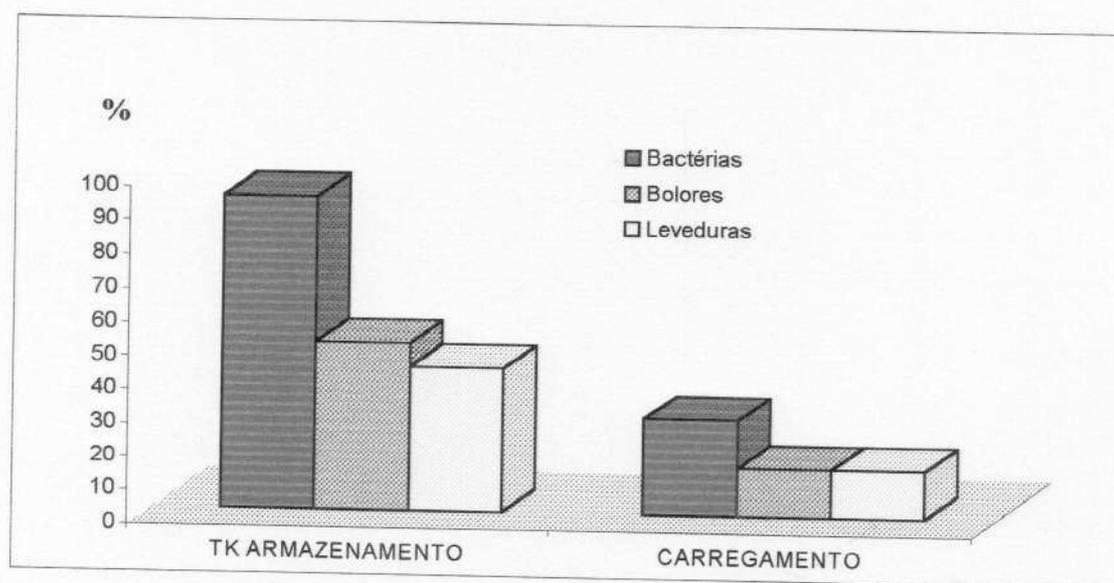


Figura 3. Percentual de ocorrência de bactérias, bolores e leveduras no tanque de armazenamento (PC5) e carregamento (PC6) em 14 amostras coletadas de maio a novembro de 2000.

A redução nos números de microrganismos registrados no carregamento, é devido ao fato, do produto passar por um trocador de calor nesta etapa, onde a temperatura é elevada de 50°C para 60°C. Provavelmente, a redução da contaminação só não foi mais efetiva, devido ao fato do produto do tanque de estocagem passar pelo trocador e ir para um tanque pulmão, que pode estar contaminado e transferir estes microrganismos para o produto.

Toda contaminação em qualquer etapa do processo, pode levar o xarope de milho a biodeterioração, porém, a contaminação é realmente crítica, quando acontece no produto final pronto para o consumo. A biodeterioração é qualquer mudança indesejável nas propriedades de um material, causado pela atividade vital de organismos vivos. As

condições que afetam o grau de biodeterioração são as mesmas que afetam o crescimento dos organismos, isto é, pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes, presença de oxigênio e umidade. Com exceção da umidade, os outros fatores são menos limitantes e tão pouco podem ser controlados em condições normais de uso do xarope de milho. De maneira geral, os substratos não emulsionados ou líquidos necessitam estar em condições de elevada umidade para que haja biodeterioração (EUCHI, 1997).

A estocagem favorece a biodeterioração, pois a diminuição da concentração do conservante metabissulfito de sódio, torna o produto mais suscetível ao crescimento de fungos e, junto a este fator, pode ocorrer contaminação cruzada entre o produto e o equipamento, já que a empresa não possui um sistema de sanitização dos tanques. Este fato pode ser comprovado observando as diferenças entre as contagens obtidas no PC5 (tanque de armazenamento) em amostras coletadas com 1 e 5 dias de estocagem. O controle da produção de xarope de milho poderia evitar prolongados períodos de armazenamento, e consequentemente, o crescimento indesejável de microrganismos, tornando o produto compatível com os padrões tolerados pelo Ministério da Agricultura, que é de 1000 UFC/mL (ABIA, 1997).

Propondo métodos para correção dos pontos críticos de controle detectados por este trabalho, além da regularização da produção, sem estocagem adicional do produto na fábrica, deve ser implantado um sistema regular de higienização dos tanques na indústria, que permitiria, inclusive, a maior permanência do produto na indústria, sem risco de contaminação cruzada.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- O tanque de enzima (PC3) é um ponto crítico de controle, somente, quando há parada de produção na indústria e o produto fica estocado, favorecendo a fermentação. Uma forma de controlar essa contaminação seria o controle de produção, de forma que nenhum produto ficasse armazenado por período de tempo maior que o necessário.
- O tanque de armazenamento foi a etapa do processamento que apresentou as maiores contagens de todos os microrganismos estudados, principalmente, nas amostras coletadas após 5 dias de estocagem. Devem ser controlados fatores interferentes como parada da produção e estocagem por mais de um dia. Pode ser estudada a possibilidade de aumento na concentração do conservante metabissulfito de sódio.
- Há necessidade de implantação de um programa de limpeza e higienização nos tanque de enzima, armazenamento do produto final e tanque pulmão. Este programa de limpeza deve ser estendido a toda planta industrial quando há parada de produção.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- A.B.I.A. **Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos**. Regulamento Técnico – Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos, Portaria nr. 451/97/SVS/MS (DOU 22.09.97).
- ALMEIDA, C. R. O Sistema HAPCC como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, 1998, n.53,v.12, p.12-20.
- A.O.A.C. **Association of Official Analytical Chemists international-Bacteriological Analytical Manual**, 16ª ed., 1999. 529p.
- BIRCH, G.G.; PARKER, K.J. **Sugar: Science and Technology**. Weybridge: Applid Science Publishers, 1978. 475p.
- CARGILL -**Adoçantes Nutricionais de Milho**. Uberlândia, 1ª ed.. 1980.
- C.A.S. - CARGILL SERVICE ANALYSIS. **Microbiological Methods**, 1991.
- DESTRO, M. T. Análises de Perigo e Pontos Críticos de Controle. In: FRANCO, B. D.M.G.; LANDGRAFT, M. (Ed.) **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

- ELEMENTOS de apoio para o Sistema APPCC, Brasília, SENAI. **Qualidade de Segurança Alimentar**, 1999. 370p.
- EUCHI, S. Y. **Técnicas Microbiológicas de Manuseio e Caracterização de Bactérias**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, 1997.13p
- GAVA, J. A. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel S.A., 1998.284P
- JURAN, J.M.; GRANA, F.M. **Controle de Qualidade: Componentes Básicos da Função Qualidade**. São Paulo: Makron Books, 1991.v.2.
- KUAYE, A. Y. Boas Práticas de Manufatura. In: KUAYE, A. Y. ; LEITÃO, M. F.F. **Boas Práticas de Manufatura, Sanificação e Sistema APPCC**. Campinas: UNICAMP. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1999. Paginação irregular. Apostila.
- LANDGRAF, M. Controle do Desenvolvimento Microbiano nos Alimentos. In: Franco, B. D.M.G.; LANDGRAFT, M. (Ed.) **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.
- MALLOCHLAB. **Moulds: Isolation, cultivation, identification**.
<http://www.botany.utoronto.ca>, 2000
- PELCZAR, M. J; CHAN, E.C.E.; KRIEG, N.R. **Microbiologia Conceitos e Aplicações**. São Paulo: Makron Books, 1996. v.2. 517p.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295p.
- TROLLER, J.N. **Sanitation in Food Processing**. Nova York: Academic Press, 1983.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F. **Starch: Chemistry and Technology**. London: Academic Press, 1984. 718p.