



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA
DIVISÃO DE AGRICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

**Avaliação da Eficiência de Detergentes (*Alcalinos e Neutros*) na Remoção Substâncias
Orgânicas e Inorgânicos nas Superfícies do Laboratório de Processamento de Alimentos**
ISPG

Monografia apresentada e defendida como requisito para obtenção do grau de licenciatura em
Engenharia de Processamento de Alimentos

Autor: Gervásio Moniz

Tutor: Beito Pedro Buló

Lionde, Abril de 2022



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

Monografia sobre “**Avaliação da Eficiência de Detergentes (Alcalinos e Neutros) na Remoção Substâncias Orgânicas e Inorgânicos nas Superfícies do Laboratório de Processamento de Alimentos**”, apresentado ao curso de Engenharia de Processamento de Alimentos na Faculdade de Agricultura do Instituto Superior Politécnico de Gaza, como requisito para obtenção do grau de licenciatura em Engenharia de Processamento de Alimentos.

Monografia científica defendida e aprovada no dia 25 de Novembro de 2021.

Supervisor _____

(Eng.º Beito Pedro Bulo)

Avaliador (1) _____

(Eng.ª Angelica Agostinho Machalela Msc)

Avaliador (2) _____

(Eng.º Rafael Francisco Nanelo Msc)

| | |
|--|-------------------------------------|
| Índice | |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| LISTA DE APÊNDICE E ANEXO | v |
| DECLARAÇÃO | Erro! Marcador não definido. |
| DEDICATÓRIA | viii |
| AGRADECIMENTOS | ix |
| RESUMO | x |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 1.1.2. Específicos..... | 13 |
| 1.2. Problema e Justificação do Estudo | 13 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.3. Higienização | 16 |
| 2.4. Higienização das Superfícies..... | 16 |
| 2.5. Higienização dos Equipamentos e Superfícies de Processamento | 17 |
| 2.6. Aspectos a Considerar no Processo de Higienização | 18 |
| 2.7. Tipo de Resíduos | 18 |
| 2.8. Tipos de Superfície | 19 |
| 2.9. Qualidade da Água | 20 |
| 2.2.1. Detergentes | 21 |
| 2.2.2. Tipos de Detergentes | 21 |
| 2.2.3. Detergentes Alcalinos..... | 21 |
| 2.2.4. Agentes Altamente Alcalinos | 21 |
| 2.2.5. Agentes Fortemente Alcalinos | 22 |
| 2.2.6. Agentes Alcalinos Suaves | 22 |
| 2.2.7. Agentes Ácidos..... | 22 |
| 2.2.8. Agentes Fortemente Ácidos | 23 |
| 2.2.10. Surfactantes ou Tensioativos | 23 |
| 2.2.11. Surfactantes Aniónicos | 24 |
| 2.2.12. Surfactantes Catiónicos | 24 |
| 2.2.13. Surfactantes não Iónicos..... | 24 |
| 2.2.13. Agentes Quelantes ou Sequestrantes | 24 |
| 2.2.14. Detergentes Neutros | 25 |
| 2.3.1. Características do Detergente Ideal | 25 |
| 2.3.2. Factores que Afectam a Eficácia dos Detergentes..... | 25 |
| 2.3.3. Principais factores na actuação dos detergentes na higienização. | 26 |

| | |
|---|----|
| 2.4.Microrganismos Indicadores | 26 |
| 2.4.1.Análises Microbiológicas | 27 |
| 2.4.2. Técnica do Número Mais Provável | 27 |
| 2.4.3. Coliformes Totais, Coliformes Fecais | 28 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 29 |
| 3.1.Localização da Área de Estudo | 29 |
| 4.1. Colecta de Amostra | 29 |
| 4. 2. Delineamento experimental..... | 30 |
| 4.4. Análises Laboratoriais | 30 |
| 4.4.1. Preparação das Amostras, Meios de Cultura e Diluições | 30 |
| 4.5. Determinação de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes | 31 |
| 4.5.1.Teste Presuntivo | 31 |
| 4.5.2.Teste Confirmativo | 31 |
| 4.6. Análise estatística dos dados. | 32 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 33 |
| 5.2. Eficiências de Detergentes Alcalinos e Neutro | 36 |
| 6. CONCLUSÕES | 37 |
| 7. RECOMENDAÇÕES..... | 38 |
| 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 39 |
| 9. APÊNDICES: | 42 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Detergentes recomendados na remoção de resíduos | 17 |
| Tabela 2. Características dos principais resíduos encontrados na indústria alimentar..... | 19 |
| Tabela 3. Materiais a ser utilizados em superfícies para processamento de alimento..... | 20 |
| Tabela 4. Análises microbiológicas de utensílios e equipamentos de detergentes Alcalinos. . | 33 |
| Tabela 5. Resultados de análises microbiológicas dos detergentes Neutros. | 34 |
| Tabela 6. Comparação de medias para a eficiências de detergentes alcalinos e neutro | 36 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mapa do local de estudo..... | 29 |
| Figura 2. Técnica dos tubos múltiplos para determinação do NMP de coliformes..... | 30 |
| Figura 3. Ilustração do processo realizado para análises presuntivas de coliformes..... | 31 |

LISTA DE APÊNDICE E ANEXO

| | |
|--|----|
| Apêndice 1. Superfície -A | 42 |
| Apêndice 2. Superfície-B | 43 |
| Apêndice 3. Esterilização a 100° C dos meios culturas na base de uma panela de alumínio. . | 42 |
| Apêndice 4. Esterilização a 100° C dos meios culturas (LTB, EcBroth, CVB e BPW) na base de uma panela de alumínio. | 43 |
| Apêndice 5. Ilustração de diluições seriadas em tubos de ensaios no intervalo de (10-1, até 10 3 ml)..... | 43 |
| Apêndice 6. Tubos de ensaio contendo caldo LST, no teste presuntivo | 44 |
| Apêndice 7. Tubos de ensaio contendo caldo EC Broth, com cinco tubos positivos no teste presuntivo. | 44 |
| Apêndice 8. Tubos de ensaio confirmativos de CTT incubados em um banho-maria a 37oC por 48h..... | 44 |
| Apêndice 9. Tubos de ensaio contendo caldo verde brilhante para confirmação da presença de Coliformes Totais incubados em um banho-maria a 37oc por 48h..... | 45 |

LISTA DE ABREVIATURA

ISPG – Instituto superior politécnico de Gaza

NMP/ml- Número Mais Provávelem Mililitros

APHA-AmercanPublicHealthAsspciation



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA



DECLARAÇÃO

Declaro por minha honra que este trabalho de iniciativa científica é resultado da minha investigação pessoal e da orientação dos meus tutores, o seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas no texto, nas notas e na bibliografia final. Declaro ainda que este trabalho não foi apresentado em nenhuma outra instituição para o propósito semelhante ou obtenção de qualquer grau académico.

Lionde aos 29 de Abrel de 2022

Gervásio Moniz
(Gervásio Moniz)

DEDICATÓRIA

Dedico

“A Deus seu fôlego de vida em mim, aos meus pais Moniz Ferrão e Felismeta Ricardo”.

O caminho de Deus é perfeito; a palavra do Senhor é provada: é um escudo para todos os que nele confiam.

Porque, quem é Deus senão o Senhor? E quem é rochedo senão nosso Deus?

Deus é o que me cinge de força e aperfeiçoa o meu caminho.

Salmo 18:30-32.

AGRADECIMENTOS

Acredito que teria sido mais difícil para mim a conclusão do presente trabalho sem a boa vontade e conselho sabedor e experiente de quem comigo colaborou.

Agradeço, por conseguinte, ao Eng. Beito Pedro Bulo pela disponibilidade para prestar assistência e trocar comigo algumas impressões sobre o trabalho.

Agradeço igualmente, a

Mestre Angélica Agostinho a sua disponibilidade para prestar assistência e trocar comigo algumas impressões sobre o trabalho.

O meu obrigado ao Mestre Heitor Guedes pelos conselhos e recomendação dados para a elaboração e condução do projecto de pesquisa.

Agradeço á minha família, especialmente ao meu pai Moniz ferrão por acreditar em mim, investir e não desistir.

Aos meus irmãos, pelo incentivo, apoio, companheirismo em todos momentos da minha licenciatura e principalmente por estarem sempre a disposição.

Ao Instituto Superior Politécnico de Gaza, seu corpo docente, em especial da Faculdade de Agricultura, com grande destaque, os docentes do Curso de Engenharia de Processamento de Alimentos.

Agradeço, sinceramente, às equipas do laboratório de Higiene e Qualidade de alimentos, de Microbiologia, Bromatologia e Solos, aplicada a assistência prestada quando da condução do experimento.

Aos meus amigos e companheiros das trincheiras Simione Elias, Valério Quive, Abene Hele, Bolt Armando, Yealda Guambe e Sheila Langa pela amizade entre dos anos (2017-2020) por acompanharem a minha caminhada académica.

E aos meus conterrâneos Celso Chongola, Naimo Mussagi, Mateus Materrula, pelo carinho. Finalmente expresso o meu obrigado a todos que directa ou indirectamente deram seu apoio moral e/ ou material que muito valeu para que eu chegasse a esta fase.

A todos vocês, os meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

A higienização inadequada das superfícies reduz a sua vida útil das superfícies e aumenta a incidência de microrganismos colocando em risco a saúde pública. A presente pesquisa objetivou avaliar a eficiência de detergentes (Alcalinos e Neutros) na remoção de substâncias orgânicas e inorgânicas nas superfícies de manipulação de alimentos do laboratório de processamento de alimentos. O detergente alcalino constituiu o tratamento A onde foi diluído em água numa proporção de 5% de detergente líquido concentrado de marca *sunlight* com uma alcalinidade correspondente a 13, e o tratamento B constituiu o detergente sólido de marca *Maeva* com uma neutralidade igual a 7. Fez-se a aplicação nas superfícies das instalações onde posteriormente foram coletados 100 mL da amostra. Para a realização desta pesquisa, em diversos pontos amostrais das superfícies de manipulação de alimentos do laboratório do ISPG, 100 ml da amostra foi coletada para análises, foram acondicionadas em balão volumétrico de 250 mL para a efetivação de análises microbiológicas, visando quantificar os coliformes totais e termotolerantes, pelo método de NMP/mL, sendo que estes foram confirmadas em caldo Verde Brilhante e Caldo EC respectivamente, para a avaliação do desempenho dos detergentes observou-se a redução da carga microbiana quando usado o detergente alcalino nas superfícies A, B e C com a variação de $0,71 \pm 0,01^b$, $1,11 \pm 0,12^b$ e $0,3 \pm 0,1^b$ NMP/mL para os coliformes fecais e quanto os detergentes neutros para os coliformes totais demonstrou eficiente estatisticamente uma vez que a variação foi de $2,5 \pm 4,0^a$, $3,4 \pm 0,5^{a2}$, $4 \pm 0,5^a$ NMP/mL, a presença dessas bactérias de origem fecal foi de nível aceitável de preconizados pela FDA, quanto aos coliformes totais as superfícies A, B e C para os detergentes neutros demonstrou deficiente com a variação de $1,23 \pm 0,3^b$, $2,5 \pm 4,0^a$ e $1,01 \pm 0,2^b$ NMP/mL estatisticamente diferem entre si. Para os detergentes Alcalinos foram totalmente eficientes na remoção bactéria (coliformes Totais) com a variação de $1,23 \pm 0,3^b$, $1,01 \pm 0,2^b$ e $1,2 \pm 0,4^b$ NMP/mL resultados estes, estatisticamente mostram que o desempenho do detergente Alcalino nas Superfícies A, B e C foi eficiente. Conclui-se para este estudo, o detergente alcalino foi eficiente no processo de higienização de superfícies que entram em contacto com os alimentos, quanto a redução de carga microbiana.

Palavras-chave: Eficiência, Detergentes, Higienização.

ABSTRAT

Inadequate cleaning of surfaces reduces their useful life and increases the incidence of microorganisms, putting public health at risk. The present research aimed to evaluate the efficiency of detergents (Alkaline and Neutral) in the removal of organic and inorganic substances from food handling surfaces in the food processing laboratory. The alkaline detergent constituted the treatment A where it was diluted in water in a proportion of 5% of concentrated liquid detergent of the brand sunlight with an alkalinity corresponding to 13, and the treatment B constituted the solid detergent of the brand Maeva with a neutrality equal to 7. application to the surfaces of the facilities where 100 ml of the sample were subsequently collected. To carry out this research, at various sampling points on the food handling surfaces of the ISPG laboratory, 100 ml of the sample was collected for analysis, they were placed in a 250 ml volumetric flask for microbiological analysis, in order to quantify the total coliforms. and thermotolerant, by the NMP/mL method, and these were confirmed in broth green Brity and EC respectively, for the evaluation of the performance of the detergents it was observed the reduction of the microbial load when using the alkaline detergent on surfaces A, B and C with the variation of $0.71 \pm 0.01b$, $1.11 \pm 0.12b$ and $0.3 \pm 0.1b$ NMP/mL for fecal coliforms and for neutral detergents as well as for total coliforms showed a statistically efficient since the variation was $2.5 \pm 4.0a$ $3.4 \pm 0.5a$ $2.4 \pm 0.5a$ NMP/mL, the presence of these bacteria of fecal origin was acceptable and recommended by the FDA, as for the coliforms total surfaces A, B and C for the neutral dergents, it was deficient with the variation of $1.23 \pm 0.3b$ $2.5 \pm 4.0a$ and $1.01 \pm 0.2b$ NMP/mL statistically different from each other. For Alkaline detergents, they were totally efficient in removing bacteria (Total coliforms) with a variation of $1.23 \pm 0.3b$; $1.01 \pm 0.2b$ and $1.2 \pm 0.4b$ NMP/mL these results statistically show that the performance of Alkaline detergent on Surfaces A, B and C was efficient. It is concluded that the alkaline detergent was efficient in the process of cleaning surfaces that come into contact with food, as the reduction of microbial load the alkaline agent was efficient.

Keywords: Efficiency, Detergents, Sanitation.

1. INTRODUÇÃO

Em todas as fases da civilização humana a conservação e higienização das Superfícies em contacto com alimentos fez-se necessária para garantir a qualidade dos alimentos, buscando eliminar ou inibir agentes de transformação químicos, bioquímicos e Biológicos (TETRAPAK, 2012). Chegando a era industrial, os alimentos passaram a ser processados e diversas tecnologias foram criadas e empregadas para a sua elaboração, manuseio, conservação e transporte, despertando significativa preocupação na eficiência dos programas de higienização, sendo que os métodos adotados devem considerar as instalações, utensílios, equipamentos e manipuladores (MARTIN, 2006).

Considerando que a higiene, limpeza e assepsia de todas as etapas do processamento na indústria alimentícia são fundamentais para a segurança e qualidade dos alimentos, é primordial a implantação de programas de sanitização (RESTO, 2007).

Devido à diversificação dos produtos industrializados, estes programas devem ser quase que específicos a cada produto elaborado, nestes processos, o contacto dos alimentos com superfícies mal higienizadas podem aumentar a incidência de microrganismos prejudicando sua qualidade (GÖNDER, 2009).

A higienização por ser procedimento que requer parada de produção, o processo de higienização, muitas vezes, é realizada de forma negligenciada pelas unidades de processamento. Portanto, é de fundamental importância que sejam estudados e otimizados, através do estabelecimento das cinéticas de remoção de resíduos de cada etapa do processo (HARROLD, 2000). O estabelecimento do tempo adequado ao processo de higienização é fundamental para a eficiência do processo deve ser suficientemente longo para que as reacções químicas e as interações físicas ocorram a contento, não deve ser excessivo, pois reduziria a produtividade da indústria (BREMER, 2005).

O processo para este estudo é caracterizado por avaliar da Eficiência de dois Tipos Detergentes (*Alcalinos e Neutros*) na Remoção substancia orgânicos e inorgânicas nos Equipamentos, Utensílios e Superfícies do Laboratório do ISPG, denominado limpeza mecânico, de reconhecida eficiência na remoção de tipos de resíduos em superfícies e equipamentos que possam resultar na proliferação de microrganismos e, por sua vez, contaminar alimentos que venham a ser processados.

1.1. Objectivos

1.1.1. Geral

- ✓ Avaliar a eficiência de detergentes (*Alcalinos e Neutros*) na remoção substâncias orgânicas e inorgânicos nas superfícies do laboratório de processamento de alimentos do ISPG.

1.1.2. Específicos

- ✓ Realizar a higienização de nas superfícies do laboratório de processamento de alimentos do ISPG;
- ✓ Determinar qualidades microbiológicas nas superfícies do laboratório de processamento de alimentos do ISPG;
- ✓ Identificar a eficiência dos detergentes neutros e alcalinos na remoção substancia orgânicos e inorgânicas.

1.2. Problema e Justificação do Estudo

Milhões de pessoas são vítimas de infecções e intoxicações decorrentes de alimentos, em termos de saúde pública, a ocorrência destas doenças vem aumentando sendo responsáveis por muitas mortes, hospitalizações e, possivelmente por complicações irreversíveis (GERMANO, 2003).

PASSOS *et. al.*,(2008), Também afirmam que as doenças transmitidas por alimentos crescem anualmente, principalmente devido a inobservância de técnicas e formas adequadas aplicados na higienização de equipamentos usados na elaboração de alimentos. Essas doenças transmitidas por alimentos em especial infecções gastrointestinais, representam, de acordo com um grupo muito grande de patologias com um forte impacto negativo sobre a saúde pública (MARZANO & BALZARETTI 2011).

A garantia da segurança dos alimentos processados industrialmente é um problema mundial e o acesso ao alimento de qualidade é um direito de todo ser humano, a segurança dos alimentos oferecidos para consumo da população é um desafio dos órgãos responsáveis pela saúde pública. O conceito de qualidade de alimentos, na visão do consumidor, corresponde à satisfação de características como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade, entretanto o a higienização adequada dos equipamentos usados no

processamento deve assegurar a ausência total de microrganismos capazes de ocasionar infecções alimentares (ROSSI, 2006).

A contaminação microbiológica dos equipamentos por manipuladores e a ineficiência na higienização tem sido alvo de constantes mudanças nos procedimentos de controlo higiénico sanitário na produção de alimentos (AGUIAR *et. al.*, 2006).

Há muitos anos os profissionais dos de alimentos têm preocupado com o estudo das doenças de origem alimentar, principalmente nos laboratórios de análises de alimentos (SILVA JÚNIOR, 2005).

A higienização e a desinfecção de utensílios, equipamentos e superfícies que entram em contacto com os alimentos constituem ponto importante para a veiculação de microrganismos patogénicos (GERMANO e GERMANO, 2001).

Para garantir a segurança dos alimentos, é imprescindível a conservação e a higiene das instalações e dos equipamentos, os responsáveis técnicos pelos estabelecimentos, a origem e a qualidade da matéria-prima e o grau de conhecimento e preparo dos manipuladores (AGUIAR *et. al.*, 2006). Para Andrade e Macedo (2004), os equipamentos e utensílios com higienização deficiente têm sido responsáveis, isoladamente ou associados a outros factores, por surtos de doenças de origem alimentar no mundo.

De acordo com Freitas (2005) os utensílios e equipamentos contaminados participam com cerca 16% dos surtos no mundo, e não fica por fora Moçambique, cortadores de frios, cortadores de legumes, bandejas, pratos, talheres, tabuleiros, placas de manipulação, amaciadores de carne, entre outros, devem passar constantemente por uma avaliação microbiológica para controlo de eficiência do procedimento de higienização, evitando-se a contaminação dos alimentos produzidos.

De acordo com o Andrade (2008), em Moçambique, verifica-se elevado uso de detergentes alcalinos e neutros para a higienização de equipamentos e superfícies usados durante o processamento de alimentos e estabelecimento de preparo alimentos prontos para o consumo, desta feita surge a necessidade de avaliar a eficiência destes dois grandes grupos de detergentes, permitindo assim a seguinte questão:

- ❖ *Até que ponto os detergentes alcalinos e neutros são eficiente na remoção de partículas orgânicas e inorgânicas sem que haja formação de biofilmes nas superfícies, utensílios e equipamentos?*

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Intoxicações Alimentares

A Intoxicação alimentar conhecida como doença de origem alimentar é causada por germes bactérias ou vírus ou toxinas (substâncias nocivas produzidas por germes) transmitidos pelos alimentos, quando consomem carnes, crustáceos, peixes, produtos lácteos, produtos agrícolas ou alguns líquidos contaminados podem provocar doenças (ALMEIDA, 2008).

Dentro da contaminação do alimento pode-se ter a infecção, intoxicação e a toxinfecção alimentar, nos três tipos há diversos factores que facilitam a ocorrência desses casos, que vão desde a precariedade no saneamento básico até a falta de cuidado e fiscalização dos alimentos, tanto no processo de fabricação quanto manuseio (FRANCO e LADGRAF, 2005).

Mais da metade dos casos de intoxicação alimentar é causado por bactérias, sendo as principais, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*, que provocam, na maioria das vezes, sintomas como diarreia, vômitos e dores abdominais, porém caso haja um agravamento o paciente pode vir a óbito (ALMEIDA, 2008).

A *Salmonella* spp é muito frequente em produtos agrícolas não processados, onde ocorre o contágio por meio da água impura e em alimentos de origem animal, nos seus derivados a contaminação ocorre mediante a exposição directa, já para a carne isso ocorre no processo de abate (FRANCO e LADGRAF, 2005).

Quando duas ou mais pessoas apresentam os mesmos sintomas após a ingestão de alimentos da mesma origem tem-se um surto alimentar. A probabilidade de este ser reconhecido e notificado pelas autoridades de saúde depende, entre outros factores, da comunicação dos consumidores, dos relatos dos médicos e das actividades de vigilância sanitária das secretarias municipais e estaduais de saúde (NUNES; et. al, 2017).

Os alimentos com maior índice de casos de contaminação são os naturais devido a possíveis microrganismos patogénicos existentes na água ou no solo, ao uso exacerbado dos agrotóxicos e pela má higienização dos manipuladores, em uma pesquisa realizada nos Estados Unidos pelo Centro de Ciência de Interesse Público foi observado que os maiores registos de intoxicação ocorreram pelo consumo de folhas verdes, ovos, atum e batata (MORAIS, 2014).

Uma das formas de se determinar a qualidade de um alimento é pelo controle da qualidade analítica, Essa técnica enfoca a abordagem na inspecção, durante a produção do alimento, até a execução de testes físico-químicos, químicos e microbiológicos no produto final. Esse

critério pode ser realizado tanto por órgãos governamentais, como pelo pessoal da indústria, com o objetivo de verificar se o produto está ou não de acordo com as leis e regulamentos do país e com as necessidades comerciais da indústria (ALMEIDA, 2008).

Os alimentos com maior índice de casos de contaminação são os naturais devido a possíveis microrganismos patogênicos existentes na água ou no solo, ao uso exacerbado dos agrotóxicos e pela má higienização dos manipuladores, em uma pesquisa realizada nos Estados Unidos pelo Centro de Ciência de Interesse Público foi observado que os maiores registros de intoxicação ocorreram pelo consumo de folhas verdes, ovos, atum e batata (MORAIS, 2014).

Escherichia coli é o principal microrganismo gram-negativo anaeróbio facultativo que faz parte da microbiota intestinal normaltem uma tendência de se modificar de organismo comensal para um patógeno oportunista e para uma bactéria extremamente especializada essas habilidades se constituem numa delicada linha que delimita um patógeno em relação a um saprófita e estabelece quais mecanismos são utilizados por bactérias para desorganizar células humanas.

2.3. Higienização

A realização de uma higienização adequada das superfícies, bancadas e equipamentos é um determinante para a efectividade do processamento, ela consiste na remoção física da (materiais orgânicos e inorgânicos) acompanhada da redução da carga microbiana das superfícies externas desses dispositivos utilizando solução de água e detergente, produtos enzimáticos e outros acessórios (RODRIGUES et. al., 2010).

Os detergentes utilizados no processamento devem ser biodegradáveis, não abrasivos, a tóxicos na diluição orientada pelo fabricante, eficazes na remoção de sujidades, ter baixa formação de espuma e boa risibilidade (ROSA, 2006). Por meio da acção de tensoactivos, diminuem a tensão superficial da água e proporcionam maior contacto do detergente com a sujidade contida nos equipamentos, favorecendo a remoção dos resíduos orgânicos e inorgânicos presentes no material (TEIXEIRA et. al., 2013).

2.4. Higienização das Superfícies

Os agentes de higienização são utilizados na remoção do resíduo aderido às superfícies, exercem sua função actuando de várias maneiras, o poder dissolvente principalmente sobre resíduos minerais; Acção peptizante sobre resíduos proteicos; Acção saponificante e emulsificante sobre resíduos gordurosos; Acção sequestrante ou quelante principalmente sobre

minerais (Ca, Mg) responsáveis pela dureza das águas; Poder molhante, Penetrante, de suspensão, Lavagem e Dispersante, propriedades conferidas aos detergentes pelo uso de substâncias tensoativas (COLHO et. al., 2014).

De acordo com a tabela 1 os aspectos em consideração como a natureza do resíduo a ser removido e suas características de solubilidade, os seguintes tipos de detergentes poderiam ser recomendados.

Tabela 1. Detergentes recomendados na remoção de resíduos

| Natureza do alimento ou resíduo | Características de solubilidade | Tipo de detergente |
|---|--|---|
| Açúcares, ácidos Orgânicos, sal | Hidrossolúvel | Detergente alcalino suave |
| Alimentos proteicos (carnes, aves, pescado) | Hidrossolúvel | Detergente alcalino clorado |
| | Álcali-solúvel | |
| | Ligeiramente ácido -Solúvel | |
| Alimentos gordurosos (manteiga, margarina, Óleos, carnes gordas) | Não hidrossolúvel ou forte | Álcali-solúvel Detergente alcalino suave |
| Alimentos formadores de depósitos minerais (leite, cerveja, espinafre) | Ácido-solúvel | Detergente alcalino clorado ou suave, alternado com detergente ácido a cada 5 dias. |
| | Não hidrossolúvel | |
| | Álcali-insolúvel | |
| Alimentos amiláceos, tomates, frutas, hortaliças | Parcialmente hidrossolúvel | Detergente alcalino suave Álcali-solúvel |

Fonte: DIAS et.al., 2008.

2.5. Higienização dos Equipamentos e Superfícies de Processamento

A higienização é conjunto de procedimentos com objectivo de garantir de um ambiente limpo e livre de potenciais contaminantes (DIAS et. al., 2008). Desta forma devera assegurar a eliminação dos materiais indesejáveis restos de alimentos, resíduos físicos, de produtos químicos e microrganismos das superfícies em níveis aceitáveis de tal forma que, não coloquem em causa a qualidade e segurança do produto, bem como a saúde dos consumidores, a higienização conduzida de forma adequada, apesar de não eliminar a

totalidade dos microrganismos presentes, reduzira consideravelmente a carga microbiana (TEIXEIRA, 2013).

Segundo ANCIPA, & FORVISA, 2003 o procedimento de higienização depende do processo de fabrico, do tipo de produto, do tipo de superfícies e do nível de higiene requerido, são observados cinco etapas:

- A primeira etapa consiste num enxaguamento para a remoção das partículas maiores de resíduo; alguns microrganismos também são removidos, pois são arrastados com os outros resíduos;
- De seguida, aplica-se o detergente, que actua sobre as partículas de sujidade, diminuindo a sua ligação as superfícies;
- Na terceira etapa faz-se um segundo enxaguamento para a remoção completa das partículas entretanto libertadas, do detergente e a eliminação de microrganismos;
- A última etapa é desinfecção, que actua sobre os microrganismos, seguido de enxaguamento para remoção completa do desinfectante.

No derradeiro faz-se a secagem, a qual tem como finalidade a remoção da água em excesso, de modo a evitar que a humidade residual favoreça o crescimento de microrganismos, na higienização dos equipamentos em vez de se executar a limpeza e a desinfecção em tempos distintos, procede-se a sua realização conjunta, usa-se produtos químicos conhecidos por detergentes anti-microbianos, os quais são combinações de ingredientes complementares e compatíveis que tornam possível a limpeza e desinfecção numa só operação, estes produtos podem ser usados com muita eficiência quando a sujidade é reduzida e o processo de limpeza necessita de baixas temperaturas e permitem poupar tempo e trabalho. (FUNDACION LAVORA & SINTESI, 2003).

2.6. Aspectos a Considerar no Processo de Higienização

Os aspectos a considerar para a higienização de forma a reduzir e/ou eliminação dos resíduos numa indústria alimentar depende de conjunto de factores a serem observados, nomeadamente do tipo de sujidade, do tipo de superfície, da qualidade da água e do tipo de equipamento (BAPTISTA *et. al.*, 2003).

2.7. Tipo de Resíduos

Os tipos de resíduos presentes nas superfícies são elementos de extrema importância no processo de higienização, sendo crucial a selecção do método e detergente adequado para a

sua remoção, os resíduos são de podem ser origem vegetal e animal, relativamente a sua natureza e composição química existem três tipos de resíduo orgânica, inorgânica e os resíduos mistos (BAPTISTA *et. al.*, 2003). Na Tabela 2 estão descritas características dos principais tipos de resíduo a indústria alimentar gera.

Tabela 2. Características dos principais resíduos encontrados na indústria alimentar.

| Constituinte dos resíduos | Solubilidade | Facilidade de remoção | de Reacções induzidas pelo calor |
|----------------------------------|---|------------------------------|---|
| Proteínas | Insolúveis em água; Solúveis em alcalis; Insolúveis em ácidos | Muito difícil | Desnaturação |
| Gorduras/ Óleos | Insolúveis em água; Solúveis em alcalis | Difícil | Polimerização |
| Hidratos de Carbono | Solúveis em água | Fácil | Caramelização |
| Minerais | Solubilidade na água e Variável; maioria Solúveis em ácidos | Variável | Geralmente Insignificantes |

Fonte: SCHMIDT *et. al.*, 2003.

2.8. Tipos de Superfície

As superfícies que entram em contacto com os alimentícios são importantes na selecção do produto e do método de limpeza a usar, as superfícies devem ser mantidas em boas condições e deve ser facilmente higienizadas e, sempre que necessário, desinfectadas, para o efeito, deverão ser utilizados materiais lisos, resistentes a corrosão e não tóxicos (MARRIOTT & GRAVANI, 2006). Na Tabela 3 são mencionados alguns dos materiais que podem ser utilizados em superfícies num processamento de alimentos.

Os materiais existentes para as superfícies que entram em contacto directo com os alimentos o aço inoxidável é recomendado, pois é resistente a corrosão e a oxidação a altas temperaturas, e de fácil higienização, e a sua superfície é impermeável e suave (MARRIOTT & GRAVANI, 2006).

Tabela 3. Materiais a ser utilizados em superfícies para processamento de alimento

| Material | Características | Precauções |
|----------------------|--|--|
| Aço inoxidável | Superfície suave, impermeável e fácil de limpar; Resiste a corrosão e a oxidação a altas temperaturas. | Algum aço inoxidável é atacado por produtos com cloro, iodo, bromo ou flúor. |
| Betão | Pode ser atacado por alimentos ácidos e agentes de limpeza. | Deve ser denso e resistente a ácidos e não se fragmentar. |
| Borracha | Não deve ser porosa ou esponjosa; Não é afectada por detergentes alcalinos. | E atacada por solventes orgânicos e ácidos fortes. |
| Estanho/ Flandres | Folhade Podem ser corroídos por detergentes ácidos ou alcalinos. | Não devem estar em contacto com os alimentos |
| Madeira | Absorve humidade, gorduras e óleos. | Não deve ser usada, pois não é higiénica. |
| Metais | Detergentes ácidos ou a base de cloro promovem o seu enferrujamento | Devem ser usados detergentes neutros na sua limpeza |
| Vidro | Suave e impermeável; Pode ser atacado por detergentes alcalinos fortes. | Deve ser limpo com detergentes alcalinos suaves ou com detergentes neutros |

Fonte: MARRIOTT & GRAVANI, 2006

2.9. Qualidade da Água

A qualidade microbiológica e química da água utilizada nas operações de limpeza é um elemento primordial no processo de higienização, esta questão é importante, uma vez que a água é utilizada como solvente de todos os agentes de detergentes e desinfecção, representando na maioria dos casos 90 a 95% da composição das soluções (SCHMIDT *et. al.*, 2003).

De todas as propriedades químicas da água a dureza é que mais influencia na eficácia da higienização (SCHMIDT *et. al.*, 2003). Uma água com grande quantidade de iões de cálcio e de magnésio, além de reduzir a eficácia dos detergentes e desinfectantes, contribui para a formação de depósitos ou incrustações nos equipamentos e superfícies. As incrustações que se formam facilitam a acumulação de microrganismos e protegem-nos do calor, tendem a aumentar a corrosão, reduzem a taxa de transferência de calor nas superfícies de contacto dos permutadores de calor e tornam mais difícil a obtenção de uma higienização eficaz (MARRIOTT & GRAVANI, 2006).

2.2.1. Detergentes

Detergentes são substâncias tensoactivas com propriedades anfifílicas, ou seja, que apresentam na sua estrutura uma parte polar e outra apolar, a palavra detergente deriva do latim *detergens/detergentes* e significa limpar (SHOWELL, 2006). Este termo aplica-se a materiais e produtos que promovam a remoção de resíduos numa dada superfície, pois permitem modificar a penetração e remoção da sujidade pela água, como por exemplo, comida de um prato ou sujidade numa toalha (BARBOSA et. al., 2006).

2.2.2. Tipos de Detergentes

Os detergentes são sedimentados de acordo com as suas características da sua formulação, em diferentes grupos representado diferentes tipos de limpeza, tais como alcalinos, ácidos, surfactantes ou tensoativos e agentes quelantes e Neutros (LELIEVELD et. al., 2005).

2.2.3. Detergentes Alcalinos

Os agentes de higienização alcalinos têm um pH compreendido entre 8 a 14 (mais alcalino) e representam o maior composto activo de limpeza presente na indústria alimentar, conforme o grau de alcalinidade dos agentes de limpeza, e os seus compostos adaptam-se a diferentes situações, como à limpeza manual ou à lavagem em circuito fechado (CIP) (LELIEVELD et. al., 2005).

São usados na remoção de proteínas, gorduras e outros resíduos orgânicos que aderem às superfícies entre estes produtos alcalinos incluem-se a soda cáustica, o amoníaco e o hipoclorito de sódio (ANDERSON et. al., 2014).

2.2.4. Agentes Altamente Alcalinos

Agentes altamente alcalinos são produtos utilizados para a remoção de impurezas queimadas ou incrustadas, essa substancia a não ser observada as concentrações indicadas no rótulo são extremamente corrosivos para diferentes tipos de materiais, como alumínio, estanho e metal galvanizado e em contacto com a pele podem provocar queimaduras muito graves (WILDBRETT et. al., 2006).

O hidróxido de sódio (NaOH) é o agente mais utilizado na indústria alimentar, pelo seu custo reduzido bem como pela sua eficácia na remoção de alimentos ricos em lípidos permite que ocorra a saponificação dos mesmos (BAPTISTA & LINHARES, 2005).

O NaOH, possui fracas características emulsificantes, dispersantes e molhantes, quando não estão na presença de aditivos funcionais, sendo essa desvantagem da utilização deste tipo de detergente está associada ao facto de este precipitar sais de cálcio e magnésio presentes em águas duras, criando depósitos nas superfícies dos equipamentos, facto que pode ser removido recorrendo à adição de outros ingredientes aos detergentes (SPRENGER, et. *al.*, 2005).

2.2.5. Agentes Fortemente Alcalinos

Agentes Fortemente Alcalinos **são** eficazes na remoção de gorduras, no entanto a sua utilização não é eficiente em resíduos minerais, o poder de dissolução destes compostos é moderado e podem ser considerados ligeiramente corrosivos (ANTUNES et. *al.*, 2008).

O Carbonato de Sódio (Na_2CO_3) é um agente moderadamente alcalino utilizado com grande frequência na composição de variados compostos de limpezas, tal como em limpeza manual como em sistemas de produção de vapor (MARRIOTT, 2006).

2.2.6. Agentes Alcalinos Suaves

O composto Alcalino Suave é muito utilizados para limpeza manual de áreas superficialmente sujas, não removem resíduos minerais, no entanto são eficazes em águas sem calcário, é o caso do Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3) (LELIEVELD et. *al.*, 2005).

2.2.7. Agentes Ácidos

Os agentes ácidos na higienização da indústria alimentar denota-se pela necessidade de eliminar incrustações minerais formadas tanto pelo tipo de água utilizado no processo de higienização, resultando em depósitos de calcário, removem ainda materiais secos ou incrustados nas superfícies (SMULDERS, 2002).

O uso habitual dos detergentes são compostos por ácidos orgânicos ou inorgânicos, os ácidos orgânicos são ácidos fracos são facilmente removidos, não irritam a pele e são removidos facilmente pela água, são exemplos deste tipo o ácido acético, cítrico e láctico, os ácidos inorgânicos são designados por ácidos fortes e apresentam excelentes propriedades de remoção e controlo de depósitos minerais, contudo, podem ser bastante corrosivos para as superfícies e irritantes para a pele, incluem o ácido nítrico, sulfúrico e fosfórico (BAPTISTA & LINHARES, 2005). Ao contrário dos agentes alcalinos estes compostos são indicados para a remoção de sujidades inorgânicas, eficazes na eliminação dos depósitos minerais criados pelos agentes de limpeza alcalinos o poder de corrosão e perigosidade deste tipo de agentes é elevado, os detergentes que têm por base ácidos inorgânicos contêm apenas uma pequena

quantidade deste princípio activo, de forma a manter o pH apropriado para a actividade remoção das incrustações pretendida (LELIEVELD et. *al.*, 2005).

2.2.8. Agentes Fortemente Ácidos

Agentes fortemente ácidos removem a matéria incrustada nas superfícies de equipamentos de vapor, caldeiras e equipamentos utilizados no processamento alimentar, dissolvem minerais depositados de forma a facilitar a sua remoção, porém, os minerais podem voltar a depositar-se e formar uma película quando a solução se encontra muito quente, estes compostos são corrosivos para a maioria dos metais e estruturas de aço são irritantes para a pele e o aquecimento dos mesmos leva à produção de gases tóxicos podendo afectar os pulmões, o exemplo deste tipo de agente é o ácido fosfórico ($H_2 PO_4$) (BAPTISTA & LINHARES, 2005).

2.2.9. Agentes Moderadamente Ácidos

Os compostos moderadamente Ácidos com menor poder de incrustação comparativamente aos ácidos forte, são menos corrosivos e podem causar reacções sensíveis, podendo em certos casos provocar irritações na pele e nos olhos, os ácidos orgânicos são apropriados para limpezas manuais e conseguem diminuir a dureza da água, e são mais caros relativamente aos outros agentes ácidos, o Ácido Levulínico, Hidra acético e Glucónico são exemplos de agentes moderadamente ácidoseficazes na eliminação dos depósitos minerais criados pelos agentes de limpeza alcalinos, o poder de corrosão e perigosidade deste tipo de agentes é elevado, estes agentes por base ácidos inorgânicos contêm apenas uma pequena quantidade deste princípio activo, de forma a manter o pH apropriado para a actividade de incrustantepretendida (BARBOSA et. *al.*, 2006).

2.2.10. Surfactantes ou Tensioativos

Os agentes surfactantes são designados por tensioativos, com moléculas anfipáticas constituídas por uma parte hidrofóbica (apolar) ligada a uma cadeia hidrofílica (polar), estas moléculas são capazes de modificar a tensão superficial através da interface de duas fases imiscíveis, sólido-líquido, líquido-líquido e gás-líquido (SHOWELL et. *al.*, 2006).

Nos componentes de higienização estes agentes são usados de auxílio para molhar as superfícies e diminuir a tensão superficial entre a água e o resíduo, de modo que a sujidade seja eliminada da superfície na sua totalidade (SMULDERS et. *al.*, 2002).

2.2.11. Surfactantes Aniônicos

Os Surfactantes Aniônicos na suacadeia hidrofílica são composto por carga negativa, caracterizam-se pela sua elevada acção detergente e capacidade moderada-elevada de formação de espuma, eficaz em todos os tipos de resíduos, podendo esta ser afectada na presença de águas duras representam atensioactivos mais utilizados industrialmente e habitualmente são combinados com surfactantes não iónicos com o objectivo de formar detergentes comerciais, como por exemplo detergente para lavagem de loiça (WILDBRETT *et. al.*, 2006).

2.2.12. Surfactantes Catiónicos

Os surfactantes catiónicos são comumente constituídos por quaternários de amónio e apresentam boas propriedades anti-microbianas, sendo utilizados como desinfectantes ou agentes de higienização seu poder de limpeza é reduzido (COLHO, *et. al.*, 2014).

2.2.13. Surfactantes não Iónicos

Agentes com elevada acção de limpeza afectados somente pela dureza da água, a capacidade espumante varia de alta a baixa, consoante a razão hidrofílico/hidrofóbico, que por sua vez é afectada pela temperatura da solução de limpeza, o aumentar a temperatura da solução, a cadeia hidrofóbica e a solubilidade do composto não iónico diminui, chegando a actuar como anti-espumante no ponto de solubilidade mínima (FORSYTHE, *et. al.*, 2002).

2.2.13. Agentes Quelantes ou Sequestrantes

Estes compostos têm como objectivo eliminar os efeitos indesejáveis dos sais que contribuem para a dureza da água em muitas formulações de detergentes é necessário ter em conta o controlo de iões metálicos, por exemplo, a presença de iões de cálcio na água, leva à precipitação de tensioativos aniónicos, interferindo negativamente nos processos de limpeza, os agentes quelantes são adicionados à formulação do detergente promovendo a remoção de iões de cálcio e magnésio em soluções aquosas (SPRENGER *et. al.*, 2005).

Os sequestrantes mais utilizados na indústria de alimentos são o Ácido etilenodiamina tetraacético (EDTA) e os polifosfatos, o EDTA é um composto que através dos seus sais de sódio e potássio consegue-se ligar aos iões de cálcio, ferro e magnésio da água, tem a vantagem de ser estável a elevadas temperaturas, não é corrosivo e é compatível com quaternários de amónio (WILDBRETT, *et. al.*, 2006).

O ácido fosfórico e os fosfatos inorgânicos também são utilizados como sequestrantes, pois influenciam de uma forma positiva o processo de limpeza e são resistentes à hidrólise a elevadas temperaturas, o ácido cítrico é outro exemplo com propriedades quelantes, no entanto a sua eficiência diminui com elevadas temperaturas (MARRIOTT & GRAVANI, 2006).

2.2.14. Detergentes Neutros

Estes tipos de detergentes não actuam por reacção química e incluem-se nesta categoria muitos produtos de limpeza domésticos bem como produtos concebidos para o contacto com as mãos, considerados seguros para serem utilizados em superfícies pintadas ou corrosivas mas que não são adequados para utilização industrial de alimentos (COELHO *et. al.*, 2014). Esses detergentes são caracterizados por não serem corrosivos, não irritantes, indicados para limpeza de superfícies delicadas e com resíduos fracamente aderidos. (Ex. Tensos activos, geralmente aniônicos, adicionados ou não de polifosfatos) (ANDERSON, *et. al.*, 2014).

2.3.1. Características do Detergente Ideal

De acordo com Hayes (2000), o detergente ideal deve possuir boa solubilidade na água a diferentes temperaturas; não ser corrosivo para as superfícies dos equipamentos e utensílios; ser inodoro; biodegradável e facilmente removido; não ser irritante para a pele e olhos e não ser tóxico; manter-se estável durante longos períodos de armazenamento; ser eficaz com todos os tipos de resíduos; orgânicas ou inorgânicas e económico.

Como provavelmente nenhum detergente possui todas as propriedades mencionadas, geralmente os produtos disponíveis no mercado são constituídos por vários agentes que se complementam, na escolha dos detergentes a utilizar deve ter em conta essencialmente o tipo e quantidade de resíduo a remover, em geral, as sujidades orgânicas requerem detergentes alcalinos (anionicos), enquanto as sujidades inorgânicas são mais eficientemente removidas por detergentes ácidos (cationicos) (GARCIA *at. al.*, 2006).

2.3.2. Factores que Afectam a Eficácia dos Detergentes

A eficácia dos detergentes depende de quatro factores principais, a temperatura da solução, acção mecânica usada, tempo de contacto e concentração da solução detergente, no que concerne temperatura e concentração da solução usada, a sua actividade aumentam a medida que estas aumentam (GARCIA, 2006).

De acordo com Baptista, 2003 temperaturas superiores a 55°C, pode ocorrer desnaturação das proteínas dos depósitos dos resíduos, o que dificulta a sua remoção, porque os detergentes não actuam instantaneamente deve se manter em contacto directo com a sujidade o tempo suficiente para que a superfície fique limpa. A aplicação de energia mecânica afecta a capacidade de penetração do detergente na higienização e a separação física de restos do processamento na superfície (MARRIOTT & GRAVANI, 2006).

2.3.3. Principais factores na actuação dos detergentes na higienização.

Para Oliveira (2016) as variáveis mais influentes no processo de limpeza e que condicionam a acção dos detergentes são:

- ✓ Tempo de contactos detergentes não actuam de forma instantânea, é necessário assegurar o tempo de contacto adequado para que estes consigam penetrar na sujidade e remove-la da superfície;
- ✓ Temperatura quanto mais quente estiver a solução detergente mais eficientemente é na remoção da sujidade;
- ✓ Acção mecânica é fundamental para retirar a sujidade das superfícies e dispersá-las na solução de limpeza;
- ✓ Concentração factor mais importante a ser considerado, qualquer produto tem uma concentração específica que corresponde à máxima eficácia da acção química.

2.4. Microrganismos Indicadores

A presença de microrganismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior dos produtos, exceptuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros microrganismos, muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao consumidor somente quando os princípios de sanitização e higiene são violados, o alimento tem estado sujeito a condições que poderiam permitir a entrada e/ou crescimento de agentes patogénicos (VIEIRA E FERNANDES, 2012).

As análises frequentes nas instalações e equipamentos para detecção de uma numerosa série de microrganismos patogénicos é impraticável na maioria dos laboratórios devido ao facto de estes estarem inadequadamente equipados, tem-se, portanto, tornado normal a prática de analisar nos alimentos a existência de bactérias, cuja presença indica a possibilidade da presença de bactérias produtoras de confecções alimentares (FERREIRA et, al., 2014).

De acordo com Lima (2015) Microrganismos indicadores são grupos de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógeno ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento, como exemplos de microrganismos indicadores podem ser citados aqueles que, segundo a ICMSF (Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods), podem ser agrupados de seguinte maneira:

1. Microrganismos que não oferecem um risco directo à saúde: contagem padrão de mesófilos, contagem de psicrófilos e termófilos, contagem de bolores e leveduras.
2. Microrganismos que oferecem um risco baixo ou indirecto à saúde: coliformes totais, coliformes fecais, enterococos, enterobactérias totais, *Escherichia coli*.

2.4.1. Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas são feitas com o intuito de identificar, quantificar os microrganismos num determinado alimento, é de extrema importância, pois através destas análises pode se conhecer as condições de higiene em que os alimentos foram elaborados assim como os riscos que o mesmo pode oferecer à saúde do consumidor e estimar a vida útil, é indispensável para verificar os padrões e especificações microbiológicas para alimentos nacionais ou internacionais estão sendo respeitados adequadamente (FERREIRA et. al., 2014).

De acordo com Santos (2014), a análise microbiológica é fundamental para estimar a carga microbiana existente nas superfícies, equipamentos e utensílios, e avaliar o efeito dos métodos de controlo sanitário utilizados nas indústrias de processamento de alimentos.

Segundo Maitan (2016) os métodos rápidos aprovados pelos órgãos oficiais, podem ser utilizados somente para controlo, sendo que resultados negativos são considerados como definitivos, mas resultados positivos são considerados presuntivos e devem ser confirmados por métodos padrões.

2.4.2. Técnica do Número Mais Provável

A técnica do Número Mais Provável, também chamada técnica dos tubos múltiplos, é outra maneira bastante utilizada pelos laboratórios de microbiologia, alimentos para estimar contagem de alguns tipos de microrganismos, como *coliformes totais*, *coliformes fecais*, *E. coli* e *Staphylococcus aureus* (FRANCO et. al., 2005). Segundo Vieira e Fernandes (2012) o NMP é estimado de respostas onde resultados são relatados como positivo ou negativo em uma ou

mais diluições decimais da amostra, por exemplo, cinco tubos de meio para cada uma de três diluições são inoculados e incubados, e a produção de gás é observada para cada tubo, diferentemente da contagem de aeróbios em placas, o NMP não fornece uma medida directa da contagem bacteriana, o número de microrganismos na amostra original é determinado pelo uso de tabelas de NMP.

O método é estatístico na natureza e os resultados de NMP são geralmente maiores que os resultados da contagem padrão em placas, por esta técnica pode-se obter informações sobre a população presuntiva de coliformes (teste presuntivo), sobre a população real de coliformes (teste confirmativo) e sobre a população de coliformes de origem fecal (coliformes fecais) (SARKIS et. *al.*, 2002).

2.4.3. Coliformes Totais, Coliformes Fecais

Para a determinação deste tipo de Bactérias têm sido utilizados métodos para detectar coliformes, a fermentação da lactose em um meio é o primeiro requerimento para um microrganismo ser considerado um coliforme, o procedimento sugerido pela Food and Drug Administration consiste do uso do método NMP pela inoculação de tubos com caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo a técnica mais utilizada para contagem de bactérias do grupo coliforme (SANTOS et. *al.*, 2014). A avaliação dos resultados dá-se via utilização de uma tabela de NMP com intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade, para as diversas combinações de tubos positivos nas séries de três ou cinco tubos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Localização da Área de Estudo

O estudo foi realizado no laboratório do ISPG na secção de processamento de alimentos localizado no distrito de Chókwè conforme a (figura 1), Sul da província de Gaza, no curso médio do rio Limpopo, tendo como limites a Norte o rio Limpopo que o separa dos distritos de Massingir, Mabalane e Guijá, a Sul o distrito de Bilene e o rio Mazimuchope por distrito de Bilene, Chibuto e Xai-Xai, a Este confina com os distritos de Bilene e Chibuto e a Oeste com os distritos de Magude e de Massingir. O distrito possui uma extensão territorial de 2.450 km² e a sua população está estimada em 197 mil habitantes de acordo com o ultimo censo de 2017. Com uma densidade populacional aproximada de 80,3 km², prevê-se que o distrito em 2020 venha a atingir os 223 mil habitantes (Ministério da administração estatal, 2014).

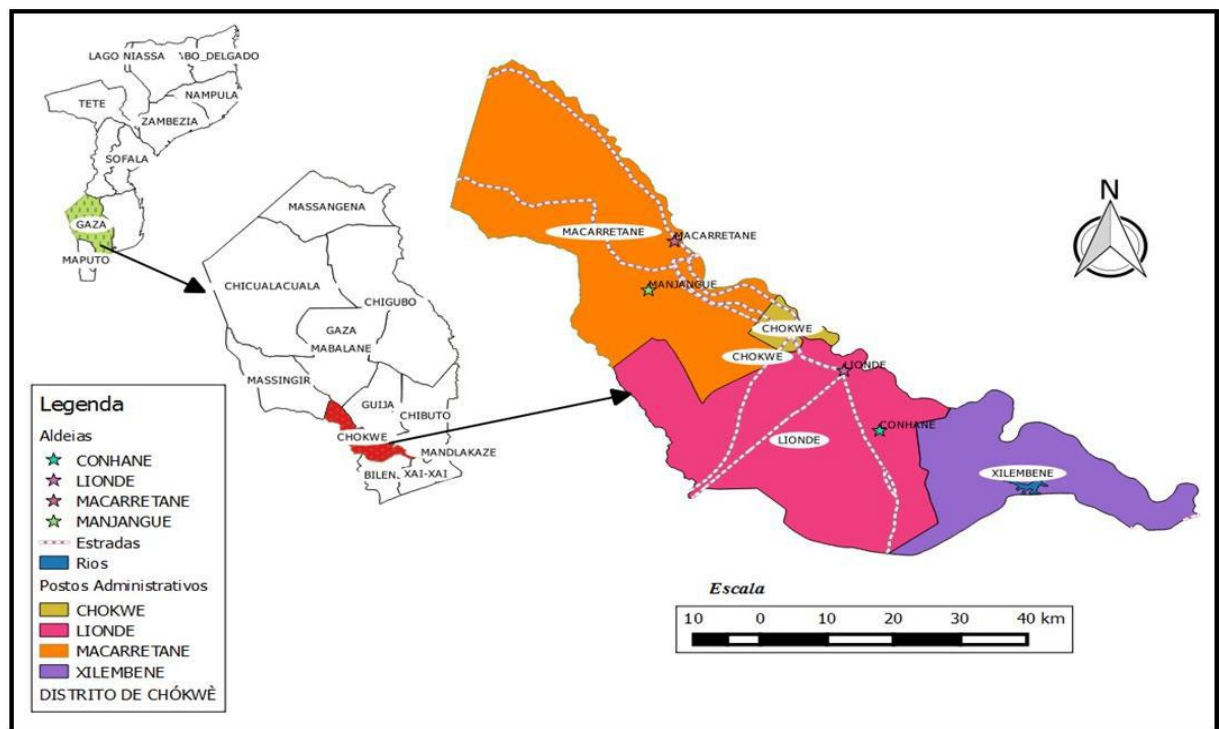


Figura 1. Mapa do local de estudo

Fonte: autor

4.1. Colecta de Amostra

As amostras foram colectadas em quatro pontos críticos conforme ilustram os apêndices 1 e 2 através da técnica de recolha, usando as *swab* de algodão humedecido com água peptonada, foram colectadas amostras antes e depois da higienização totalizando 6 amostras para as detergentes Neutro e Alcalinos respectivamente, todas amostras foram acondicionadas em frascos de vidro previamente higienizados obedecendo as instruções da (APHA¹, 2001)

¹ American public Health Asspiation

deixadas adequadamente, rotuladas e levadas ao laboratório na secção de microbiologia, mantendo-as em condições óptimas livre de contaminantes físicos, químicos e biológicos para posteriores análises, todas amostras foram identificadas previamente a colecta.

4. 2. Delineamento experimental

O experimento foi baseado em Delineamento Inteiramente Casualidade (DIC) a distribuição dos tratamentos às unidades experimentais foi de forma Homogénea. Com três (3) tratamentos e cada tratamento teve três (3) repetições.

4.4. Análises Laboratoriais

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de ISPG no departamento de microbiologia, para a análise de coliformes totais e termotolerantes utilizou-se técnica de tubos múltiplos com três séries de tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) Caldo EC Broth, obtendo os resultados em NMP/ 10mL. O esquema adaptado pode ser evidenciado na figura 2.

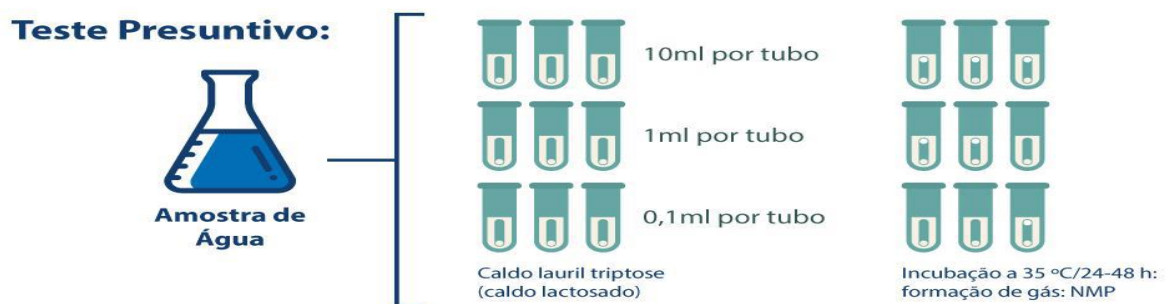


Figura 2. Técnica dos tubos múltiplos para determinação do NMP de coliformes.

Fonte: Sarkis, 2002.

4.4.1. Preparação das Amostras, Meios de Cultura e Diluições

A assepticamente, amostras para a análise da água da lavagem das superfícies de equipamentos e Bancadas, foram colectadas através da passagem do *swab* sobre as superfícies, acondicionadas em um béqueres de 100ml prontas para prosseguir às análises microbiológicas.

Na preparação dos meios, foram usados os seguintes meios (i) água peptona preparada através da diluição de 4,827g em 300ml de água destilada, (ii) Caldo Lauril Sulfato Triptose obtido com a diluição de 2,848 g deste meio em 80mL de água destilada, (iii) o Caldo Verde Brilhante Lactose (CVBL) preparada através da diluição de 0,35g em 108 ml de água destilada e (iv) Caldo *Escherichia Coli* (CEC) preparada através da diluição de 10,8 g para

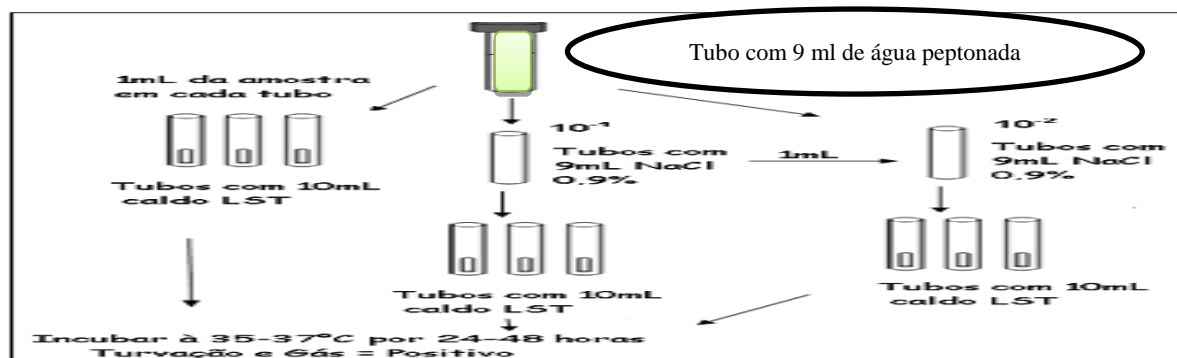
400ml de água destilada. Após a preparação dos meios, e para a obtenção das diluições, foi preparada a solução mãe/ringer (10^0), incrementou-se 25ml da amostra água de lavagem em um erlenmeyer contendo 250ml de solução salina peptonada 0,1 % previamente preparada e esterilizada (100°C por 30 minutos), conforme ilustram o apêndice 1 e 2. De seguida a amostra foi homogeneizada através de movimentos giratórios por 3 ± 4 minutos, por conseguinte as diluições seriadas de (10^{-1} , até 10^{-3}), isto pode ser evidenciado no apêndice 3, executando repique de 1mL de cada de tubo de ensaio para 9 mL do caldo Lauril Sulfato Triptose, previamente flambados.

4.5. Determinação de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

Em seguida, estão descritos procedimentos que foram usados para a determinação de coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CTT) no teste presuntivo e confirmativo.

4.5.1. Teste Presuntivo

As análises de Coliformes foram efectuadas conforme o descrito na figura 3. O teste presuntivo foi realizado em triplicata, inoculando 1 ml de cada diluição em tubos contendo 9 ml de caldo lauril sulfato triptose. Os tubos foram posteriormente homogeneizados e incubados em estufa digital (DIGITHEAT-TFT) de marca HANNA-PSELECT. Conforme ilustra o apêndice 3, a 35°C durante 48h, após a incubação, os tubos que apresentaram turvação (Apêndice 4) foram considerados positivos, confirmando a presença de coliformes.



Fonte: SARKIS, 2002.

Figura 3. Ilustração do processo realizado para análises presuntivas de coliformes

4.5.2. Teste Confirmativo

Os testes de confirmação foram realizados mediante a leitura da turvação dos tubos de ensaio do teste presuntivo dos tubos positivos (+) e dos que não traduziam crescimento microbiano (-). Os tubos positivos (+) são isolados dos demais para efeitos de confirmação da presença de carga microbiana. Na realização do teste confirmativo, alíquotou-se 1mL da amostra, repicadas em cada tubo positivo, transferindo para tubos de ensaio contendo 9, mL de Caldo

Verde Brilhante Lactose (CVBL) para coliformes totais e Caldo *Escherichiacoli* para os coliformes termotolerantes. Os foram assepticamente higienizado e flambados, os tubos de ensaio foram incubados em um banho-maria a 37°C por 48h (apêndice 6 e 7) para os coliformes termotolerante e os coliformes totais a 40°C por 48 horas a ver no apêndice 8 O NMP/mL de coliformes foi determinado através na combinação do número de tubos positivos das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) mediante a tabela do NMP/mL de *Hoskins*, a ver no anexo 1.

4.6. Análise estatística dos dados.

Os resultados obtidos para equipamentos, superfícies, utensílio nos diferentes parâmetros antes e após da Higienização foram submetidos a análise estatística, segundo procedimentos do programa estatístico Minitab, versão 18.1 através do modelo linear geral (GLM), considerando-se o nível de significância de 5%, sendo as médias dos resultados comparadas pelo teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 4 e 5 estão apresentados os resultados das análises microbiológicas das superfícies do laboratório de processamento de alimentos, sobre a eficiência de detergentes (*Alcalinos e Neutros*) na remoção de substâncias orgânicas e inorgânicas conforme descrito.

Tabela 4. Análises microbiológicas de utensílios e equipamentos de detergentes Alcalinos.

| Pontos Amostrais | Coliformes fecais (NMP/ mL) | | Coliformes Totais (NMP/ mL) | |
|------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|----------------------|
| | DAAH ² | DADH ³ | DNAH ⁴ | DNDH ⁵ |
| A | 4,5±1,5 ^a | 0,3±0,1 ^b | 5,5±0,5 ^a | 1,2±0,4 ^b |
| B | 15±0,0 ^a | 0,85±0,1 ^b | 12,0±1,5 ^a | 5,7±0,1 ^b |
| C | 9±1,0 ^a | 1,75±0,25 ^b | 9,0±1,5 ^a | 6,97±0,15 |

Médias e desvios padrão das análises microbiológicas realizadas em triplicata, valores da mesma linha com letras diferentes apresentam diferença significativamente em ($p < 0,05$).

Segundo Bastos (2008), não existe, na legislação Moçambicana, padrões microbiológicos oficiais para superfícies e equipamentos e utensílios, Os padrões do FDA⁶ e da APHA⁷ consideram utensílio higienizado, aquele que possui menos de 100 NMP/utensílio, e 2 NMP/mL para superfície de equipamentos que tem contacto directo com alimentos.

Nas análises feitas nas superfícies por detergentes alcalino da presente pesquisa apresentaram concentrações microbianas para coliformes totais e fecais fora dos padrões dos preconizados pela APHA e pela FDA, para a superfície representada por letra A variação foi de 4,5±1,5^a, 15±0,0^a e 9±1,0^a NMP/ mL nos coliformes fecais antes da higienização e após a higienização das superfícies dos equipamentos mostrou declínio de 0,3±0,1^b; 0,85±0,01^b; 1,75±0,25^b NMP/mL dos coliformes fecais, antes da higienização a quantidade de concentração de microrganismo está acima dos limites, isto pode ser pelo facto de que essas as superfícies analisadas apresentarem formação de biofilmes e incrustações na superfície que entra em contacto com alimentos uma vez que o seu uso não é frequente, após a higienização com o detergente alcalino para os coliformes fecais e os totais reduziu significativamente para níveis aceitáveis, as superfícies A, B e C antes da higienização pelo detergente neutro a concentração microbiana variava de 5,5±0,5^a; 12,0±1,5^a e 9,0±1,5^a NMP/mL, tendo reduzido de significativa para 1,2±0,4^b; 5,7±0,1^b e 6,97±0,15 respectivamente, apesar de não atingirem os

² Detergentes alcalinos antes de higienização

³ Detergentes alcalinos depois da higienização

⁴ Detergentes neutros antes da higienização

⁵ Detergentes neutros depois de higienização

⁶ *Foods and Drugs Administration*

⁷ *AmericanPublicHealthAssociation*

níveis aceitáveis, a contaminação de superfícies com bactérias do grupo coliformes é um facto preocupante e ocorre com frequência nas indústrias de alimentos ou em locais que manipulam alimentos de origem animal e origem vegetal, principalmente quando não são utilizados métodos de higienização adequados.

Exemplos deste são os estudos realizados por André *et. al.* (2014), que avaliaram equipamentos que entram em contacto com a cenoura em um triturador em Goiânia, onde a variação da quantificação de coliformes nas superfícies foi de <1 a> 106 NMP/mL, sendo que 73,1 % das amostras estavam contaminadas, e por Benedetti (2003) que ao monitorar a qualidade higiênico-sanitária no processamento do “leite” de soja, observou que das sete amostras, todas apresentaram contaminação por coliformes totais e em duas das amostras apresentou contaminação por coliformes termotolerantes, na superfície da tubulação do final do processamento e por sua vez Cavalcanti *et. al.* (2013) ao pesquisar coliformes em superfícies de bancadas e utensílios na elaboração de alimentos servidos em escolas, verificou que 75% das bancadas e 25% dos utensílios estavam contaminados por coliformes totais e 25% das bancadas e utensílios estavam contaminados por coliformes termotolerantes.

Tabela 5. Resultados de análises microbiológicas dos detergentes Neutros.

| Pontos Amostrais | Coliformes fecais | Coliformes Totais | DAAH ¹⁰ | DADH ¹¹ |
|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | DNAH ⁸ | DNDP ⁹ | | |
| A | 22,6±0,2 ^a | 7,75±0,7 ^b | 11,0±0,0 ^a | 2,2±0,2 ^b |
| B | 21±0,5 ^a | 3,8±2 ^b | 12,0±1,0 ^a | 2,8±0,2 ^b |
| C | 13,5±0,3 ^a | 13,2±0,3 ^b | 13±2,0 ^a | 11,7±0,0 ^b |

Médias e desvios padrão das análises microbiológicas realizadas em triplicata. Valores da mesma linha com letras são significativamente diferentes (p <0,05).

Os resultados microbiológicos relativos as superfícies A, B e C foram 22,6±0,2^a; 21±0,1^a e 13,5±1,3^a (NMP/ mL) para Coliformes fecais antes da higienização e depois da higienização com 7.75±0.7^b; 3,8±2^b e 13±0,3^b estão nos limites do padronizado pela FDA e da APHA, e para os Coliformes Totais o estudo revelou que a houve maior presença dos coliformes totais antes da higienização cuja variação das médias foi de 11,0±0,0^a; 12,0±1,0^a e 13±2,0^a NMP/ml, após a higienização por detergente neutro a redução da concentração dos coliformes totais foi de 2,4±0,2^b 2,8±0,5^a 11,7±0,0^b o que demonstra a potencialidade deste tipo de detergente.

⁸ Detergentes neutros antes da higienização

⁹ Detergentes neutros depois da higienização

¹⁰ Detergentes alcalinos antes da higienização

¹¹ Detergentes alcalinos depois da higienização

Porém, como ressalta Silva Júnior (2005), microrganismos estão presentes no ambiente, a presença de bactérias totais são indicadores das condições higiênico e sanitárias do local de preparo de alimentos.

Oliveira (2006), avaliando procedimentos de higienização dos utensílios a base detergente ligeiramente neutro em unidade de alimentação no Rio Grande do Sul, verificou a presença de coliformes totais (15 a 135NMP/cm); coliformes termotolerantes (102NMP/ cm), os mesmo resultado foram obtido por Sousa (2004), avaliando a qualidade sanitária de superfícies de equipamentos, superfícies de pré-preparo e de distribuição em estabelecimentos que comercializam alimentos, encontraram valores para coliformes fecais e termotolerantes entre (13a> 110NMP/ cm²), respectivamente.

Em estudo de contaminação microbiana em superfícies de tábuas no restaurante *self-service*, Pinto e Tórtora (2005) constataram que 41,5% das superfícies e 35,4% das facas apresentaram contaminação em valor superior a (102 UFC/cm²), Estes autores consideram o valor de (102 UFC/cm²), sendo representativo de alta contaminação, baseados na RDC n° 12 de 2 de Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que estabelece este limite de tolerância para contaminação microbiana em diversos tipos de alimentos. A contaminação pode ser relacionada à dificuldade de limpeza destes materiais que, muitas vezes apresentam irregularidades em sua superfície dificultando a limpeza e ação de santificantes.

Jerônimo *et. al.*, (2011) avaliaram amostras de 10 diferentes unidades de alimentação e nutrição e registraram que a contagem de *Staphylococcus spp.* Variou entre (<101e>106 NMP/cm⁻²), enquanto que a contagem de NMP oscilou entre (<101 e 105 NPM/mL/cm²),. Superfícies de preparo de vegetais apresentaram maiores contagens de *coliformes fecais e Coliformes temotolerantes*, o que evidenciou possível ineficácia dos procedimentos de higienização do ambiente.

5.2. Eficiências de Detergentes Alcalinos e Neutro

Após a higienização das superfícies de contacto com os alimentos, o passo seguinte consistiu em analisar a eficiência da utilização de detergente neutro e alcalino na redução da carga microbiana. Para tal, recorreu-se aos testes de análises estatísticos teste de médias tukey.

Tabela 6. Comparação de médias da eficiência de detergentes alcalinos e neutros

| Pontos Amostrais | Coliformes fecais | | Coliformes Totais | |
|------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| | Detergente | | Detergentes | |
| | Alcalinos | Neutros | Alcalinos | Neutro |
| A | 0,71±0,01 ^b | 1,9±0,1 ^b | 1,23±0,3 ^b | 2,5±4,0 ^a |
| B | 1,11±0,12 ^b | 2,2±1,3 ^a | 1,01±0,2 ^b | 3,4±0,5 ^a |
| C | 0,3±0,1 ^b | 2,3±0,3 ^a | 1,2±0,4 ^b | 2,4±0,5 ^a |

Fonte: Autor

Quanto a eficiência dos dois detergentes na redução de carga microbiana para os coliformes fecais e coliformes totais em superfícies, utensílios e equipamentos de acordo com a tabela 6, é notório que para a Médias e desvios padrão das análises realizadas em triplicata, valores na mesma coluna com letras diferentes são diferentes significativamente ($p < 0,05$), conforme os dados da higienização das superfícies através de detergentes alcalinos demonstram que estes são eficiente para a remoção de resíduos orgânicos e inorgânicos assim como na redução de coliformes fecais e totais, enquanto o detergente neutro mostrou deficiência da redução de microrganismos indicadores de origem fecal, o que pode ocasionar intoxicações alimentares consequentemente trazer problemas de saúde pública.

6. CONCLUSÕES

É fundamental controlar a eficiência das operações de limpeza e de aplicação dos detergentes adequados para cada tipo de produto a ser processado assim também para cada material ou superfície no laboratório, bem como de uma inspecção após higienização.

Através do presente estudo foi possível realizar a higienização nas superfícies do laboratório do ISPG e concluir que a higienização de substâncias orgânicas e inorgânicas nas superfícies de contactos com Alimentos, adequada reduz o risco de contaminação bacteriana, ou seja, a correcta utilização dos detergentes e um adequado método de secagem é suficiente para garantir a segurança do produto aquando do contacto com a superfície.

Em resposta à determinação de qualidade microbiológica, nas amostras avaliadas foi notória a presença de coliformes totais e termotolerantes, os resultados permitiram concluir que, é essencial escolher cuidadosamente e avaliar os produtos de higienização a serem usados, uma vez que foi possível com este trabalho verificar a sua importância na redução da carga microbiana como uma garantia da segurança alimentar do produto.

O trabalho permitiu igualmente concluir que o detergente eficiente é o agente alcalino o que se complementa com o cumprimento adequado das normas básicas de higienização.

7. RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se para os próximos estudos;

- A utilização de meios de cultura mais específicos para determinados microrganismos, uma vez que estes apresentam um grupo amplo e diversificado.
- Neste estudo considerou se a análise e pesquisa de coliformes fecais e Termotolerante, no entanto, num trabalho futuro deveriam optar por outro grupo como os *mesofilos aeróbio*, *E.coli*, *Staphylococcus* que são os constituem indicadores de higienização;

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANCIPA, & FORVISA O, brabes, k. “*Avaliação das condições microbiológicas e higiênicas em unidades de alimentação*”. CIENC AGROTEC., 2003.
2. ANDERSON, D. Consutivity Measurement: “*Critical for Clean-in-place Systems*”. 2014.
3. ANDRÉ, Tartler N, Fortuna JL. “*Qualidade microbiológica das Bancadas, mãos e luvas e avaliação higiênico-sanitária dos manipuladores de alimentos em uma praça de alimentação*”. Teixeira de Freitas. 2014.
4. ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. “*Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição*”.Ciência e Agrotecnologia, Lavras.2008.
5. ANTUNES, A. R; oliveira, g. l; salema, r. b. “*Pesquisa de coliformes em estabelecimentos comercialização derefeições*”Higiene Alimentar. 2016.
6. APHA- Amercan Public Health Association. “*Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*”, 2001.
7. BAPTISTA & Linhares, “*Higienização de equipamentos e instalações na indústria agroalimenta*”r. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada 2005.
8. BARBOSA “*Métodos de contagem microbiana*”. Valença. 1ªEdição. 2006.
9. BARBOSA, T. J, “*Optimização de detergentes*”.Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. 2010.
10. BASTOS, Alves, M. G.; Ueno, M. “*Restaurantes self-service: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos*”.2008.
11. BENEDETTI, azeredo, r. M. c.Soares, c. M.; kuaye, a. y.Leitão. “*Detecção e avaliação da incidência de Bacillus cereus em amostras de água, coletadas em Unidades de Alimentação apos de higienização e sanitização*”. HigAliment. 2003.
12. BREMER, galetti, f. C. sr.V. p. “*Avaliação do perfil de sensibilidade a antissépticos, detergentes e desinfetantes, de bactérias nas superfícies de contato e alimento*”s,HigAlim, 2005.
13. CHEN, X.D.; ozkany, n.; qin, f.; xin, h.; lin, L.An“*effective CIP procedure for removing dairy protein based deposit*”A Laboratory investigation. R (editors). 2004.
14. COELHO, N. R. A., “*Noções de higienização na indústria de alimentos*”.2014.
15. DALCIN, Eliane Bressa. “*Manual de orientação para coleta de produtos sujeitos a vigilância sanitária. Laboratório central de saúde pública*”. Santa Catarina. 2010.
16. DIAS M.F.G, “*Métodos de contagem microbiana*”. Valença. 1ªEdição.2008

17. FERREIRA, M. A. “*Análises Microbiológicas para Qualidade do Leite Fluido. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico*”. Universidade de Brasília. 2014.
18. FORSYTHE, “*Métodos em microbiologia de alimentos*”. Universidade Aberta 2002.
19. FRANCO, R. M; mantilla, s. p. s; leite, a. m. o. “*Determinacao de NMP/ml em equipamentos e Utensíliosdo preparo de refeições utilizando usando caldo fluorogênico*”. Rev. Portuguesa de Ciências Veterinárias, Rio de Janeiro, 2005.
20. FRYER, P. J.; christian, g. k.; liu, W.”*How hygiene happens: physics and chemistry of cleaning. InternationalJournalofDairy Technology*”.2006.
21. FREITAS, L. H. “*Sistema especialista para diagnóstico de toxinfecções alimentares de origem bacteriana*”. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. 2005.
22. FUNDACION LAVORA e sintesi, “*Métodos para quantificar o crescimento microbiano*”. Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos”. 2003.
23. GARCIA.L M. & Rejane Teixeira. “*Nutrição, um guia completo de alimentação, práticas de higiene, cardápios, doenças, dietas e gestão*”. São Paulo: Rideel, 2006.
24. GERMANO, Guenther. “*Controle Sanitário dos Alimentos*”.São Paulo: Atheneu, 2003).
25. GÖNDER, M. H. RABELO, T. M, M. P. “*Avaliação microbiológica em amostras de utensílios acondicionamento de sorvetes, coletadas no município de Uberaba*”, MG. Higiene Alimentar. 2009.
26. HARROLD, F.L. “*Estudo higiênico-sanitário de diferentes tipos de iogurte*”. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. 2000.
27. LELIEVELD, L. H. L. “*A manipulação inadequada dos alimentos: fator de contaminação. Rev. Higiene Alimentar*”, São Paulo, 2005.
28. MAITAN, V. R. “*Quantificação de Microrganismos, Diluição e Plaqueamento “SpreaderPlate”*” 2016.
29. MARRIOTT & GRAVANI, “*O estudo de bactérias, fungos, vírus e parasitas nas superfícies de manipulação de alimentos*”. 2006.
30. MARTIN, R.S. “*Manual de microbiologia de alimentos*”. Brasília. Rio de Janeiro, CTAA, 2006.
31. MARZANO & BALZARETTI, A. D.O. “*Eficiência dos agentes ácido, neutros e alcalinos sobre coliformes totais, fecais e sporothermodurans*”.Viçosa, MG.2011.
32. MAE. “*Perfil do Distrito de Chokweprovincia de Gaza*”, edi. 2005
33. OLIVEIRA, L. A., & Lopes, A. G. “*Mecânica dos Fluidos na industria de alimentos*”(1ª Edição ed.). 2006.

34. PASSOS, Silva SZ, Kottwitz LBM. “*Condições microbiológicas de Equipamentos e instrumentos de manipulação de alimentos, em cozinha industrial da cidade de Cascavel*”, PR. HigAlim.2008.
35. RESTO, M. T. P. “*Resistência de psicrotrófico acidificante isolado de leite cru a agentes sanitizantes*”, Viçosa, MG. 2007.
36. RODRIGUES, P. M.). ”*Introdução a Cinemática dos Fluidos*”. São Paulo, Brasil, 2010.
37. ROSA, E. D., Tsukada, M., & Freitas, L. A. (s.d.). “*Secagem por Atomização na Indústria Alimentícia: Fundamentos e Aplicações*”. São Paulo, 2006.
38. SANTOS ANDRADE, n. j.; Macedo, j. a. b. “*Higienização na indústria de alimentos*”. São Paulo: Varela, 2014.
39. SARKIS, osvaldo cruz, incqs. “*Técnicas para controlo de qualidade: avaliação da actividade anti-microbiana de saneamentos domissanitários*”. Rio de Janeiro2002.
40. SCHMIDT, I., Alho L. e Sinogas C. “*Microbiologia. Microbiologia geral. Princípios de Microbiologia*”. Universidade de Évora. 2003.
41. SHOWELL, L, J.r.;Souza, h.m. “*Avaliação do método SimPlate para contagem de coliformes totais e E.coli em leite fluido*”.Indústria de Laticínios.2006.
42. SILVA JÚNIOR, MC. “*Avaliação da qualidade de Higienização nosequipamentos utilizando a metodologias convencionais*”. Dissertação. São Paulo. 2005.
43. SMULDERS, Guilherme, E.F.M. Silva, J.A.M. “*Pseudomonas aeruginosacomo indicador de contaminação hídrica, Revista Higiene Alimentar*”. São Paulo2002.
44. SOUZA, Karin. “*Importância da higienização nas linhas de produção de sucos*”. 2018.
45. SPRENGER, cavalli, dr.Oliveira, t.c.r.m. “*Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos de Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichiacolliem alimentos*”. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2005.
46. TEIXEIRA, J. V., Renhe, Í. R., Pereira, J. P., Pinto, R. L., & Perrone, Í.”*Evaporação de soro em concentrador a vácuo semi-industrial*”.2013.
47. VIEIRA, D. A. P. &fernandes. C. A. Q. “*Microbiologia Aplicada.*” Universidade Federal de Santa Maria, 2012.
48. WILDBRETT, “*O estudo de bactérias (coliformes fecais e termotolerantes nas unidade de processamento de leite)*”. Campina-Brasil. 2006.

9. APÊNDICES:

Apêndice: 1 e 2 Ilustram as superfícies, pontos amostrais onde foram colectadas as amostras



Apêndice 1.

Superfície A



Superfície B



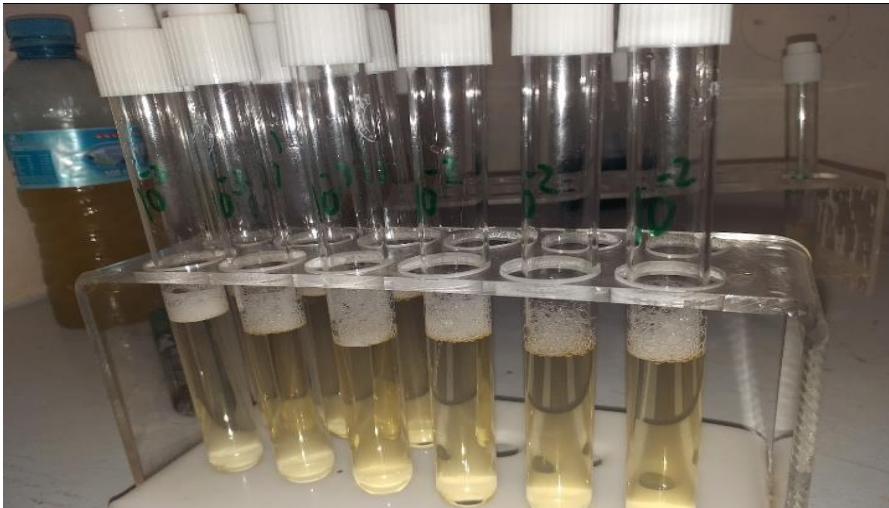
Apêndice 3. Esterilização a 100° C dos meios culturas na base de uma panela de alumínio.

Fonte: Autor, 2021



Apêndice 4. Esterilização a 100° C dos meios culturas (LTB, EcBroth, CVB e BPW) na base de uma panela de alumínio.

Fonte: Autor, 2021

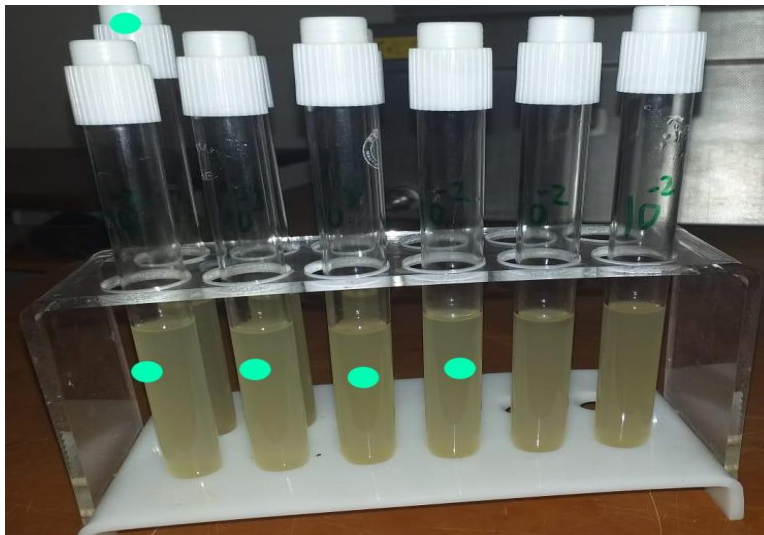


Apêndice 5. Ilustração de diluições seriadas em tubos de ensaios no intervalo de (10-1, até 10-3 ml)

Fonte: Autor, 2021



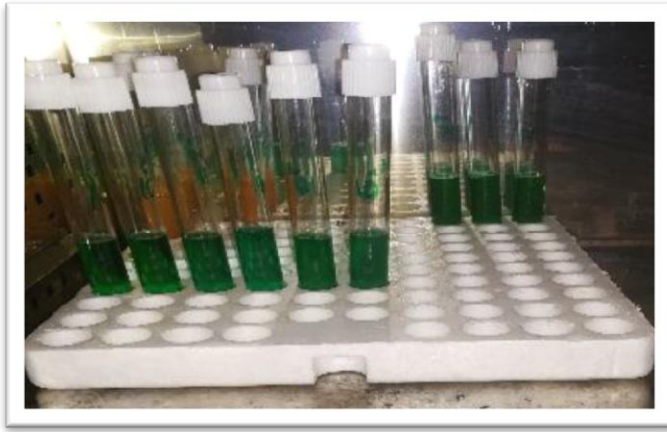
Apêndice 6. Tubos de ensaio contendo caldo LST, no teste presuntivo
Fonte: Autor, 2021



Apêndice 7. Tubos de ensaio contendo caldo EC Broth, com cinco tubos positivos no teste presuntivo.
Fonte: Autor, 2021



Apêndice 8. Tubos de ensaio confirmativos de CTT incubados em um banho-maria a 37oC por 48h.
Fonte: Autor, 2021



Apêndice 9. Tubos de ensaio contendo caldo verde brilhante para confirmação da presença de Coliformes Totais incubados em um banho-maria a 37oc por 48h.

Fonte: Au tor, 2021

Anexo 1. Números Mais Provável (ml)

Table 1 - Table 1 For 3 tubes each at 0.1, 0.01, and 0.001 g inocula, the MPNs per gram and 95 percent confidence intervals.

| Pos. Tubes | | | Conf. lim. | | | Pos. tubes | | | Conf. lim. | | |
|------------|------|-------|------------|------|------|------------|------|-------|------------|-----|-------|
| 0.10 | 0.01 | 0.001 | MPN/g | Low | High | 0.10 | 0.01 | 0.001 | MPN/g | Low | High |
| 0 | 0 | 0 | <3.0 | – | 9.5 | 2 | 2 | 0 | 21 | 4.5 | 42 |
| 0 | 0 | 1 | 3.0 | 0.15 | 9.6 | 2 | 2 | 1 | 28 | 8.7 | 94 |
| 0 | 1 | 0 | 3.0 | 0.15 | 11 | 2 | 2 | 2 | 35 | 8.7 | 94 |
| 0 | 1 | 1 | 6.1 | 1.2 | 18 | 2 | 3 | 0 | 29 | 8.7 | 94 |
| 0 | 2 | 0 | 6.2 | 1.2 | 18 | 2 | 3 | 1 | 36 | 8.7 | 94 |
| 0 | 3 | 0 | 9.4 | 3.6 | 38 | 3 | 0 | 0 | 23 | 4.6 | 94 |
| 1 | 0 | 0 | 3.6 | 0.17 | 18 | 3 | 0 | 1 | 38 | 8.7 | 110 |
| 1 | 0 | 1 | 7.2 | 1.3 | 18 | 3 | 0 | 2 | 64 | 17 | 180 |
| 1 | 0 | 2 | 11 | 3.6 | 38 | 3 | 1 | 0 | 43 | 9 | 180 |
| 1 | 1 | 0 | 7.4 | 1.3 | 20 | 3 | 1 | 1 | 75 | 17 | 200 |
| 1 | 1 | 1 | 11 | 3.6 | 38 | 3 | 1 | 2 | 120 | 37 | 420 |
| 1 | 2 | 0 | 11 | 3.6 | 42 | 3 | 1 | 3 | 160 | 40 | 420 |
| 1 | 2 | 1 | 15 | 4.5 | 42 | 3 | 2 | 0 | 93 | 18 | 420 |
| 1 | 3 | 0 | 16 | 4.5 | 42 | 3 | 2 | 1 | 150 | 37 | 420 |
| 2 | 0 | 0 | 9.2 | 1.4 | 38 | 3 | 2 | 2 | 210 | 40 | 430 |
| 2 | 0 | 1 | 14 | 3.6 | 42 | 3 | 2 | 3 | 290 | 90 | 1,000 |
| 2 | 0 | 2 | 20 | 4.5 | 42 | 3 | 3 | 0 | 240 | 42 | 1,000 |
| 2 | 1 | 0 | 15 | 3.7 | 42 | 3 | 3 | 1 | 460 | 90 | 2,000 |
| 2 | 1 | 1 | 20 | 4.5 | 42 | 3 | 3 | 2 | 1100 | 180 | 4,100 |
| 2 | 1 | 2 | 27 | 8.7 | 94 | 3 | 3 | 3 | >1100 | 420 | – |

Fonte: Blodgett Robert, 2010