



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO: ÁGUAS E
ALIMENTOS (GELADOS COMESTÍVEIS)**

PARNAMIRIM/RN

Discente: Fernanda Rodrigues de Araújo

Orientador: Everaldo Silvino dos Santos

Supervisor: Christiane Maria Christina Nóbrega Bakker

NATAL

MAIO/2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO: ÁGUAS E
ALIMENTOS (GELADOS COMESTÍVEIS)**

Relatório submetido à Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito para aprovação na disciplina Estágio Supervisionado (DEQ - 0537), referente ao estágio realizado pela aluna Fernanda Rodrigues de Araújo na empresa STERBOM, durante o primeiro semestre do ano de 2016, sob a supervisão da Engenheira Química Christiane Maria Christina Nobrega Bakker e orientado pelo Prof.Dr. Everaldo Silvino dos Santos.

NATAL
MAIO/2016

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, que tornou possível essa realização, me dando força, me amparando e renovando a minha fé para seguir em frente.

À minha família, em especial à minha mãe, Aurélia Rodrigues Borges, por todo apoio, dedicação e valores ensinados, por estar sempre presente em minha vida e por todo amor que sempre me foi dado. Principal responsável por eu ser a pessoa que sou hoje.

Ao meu noivo, Isaac Danilo Santos Batista, pelo companheirismo e ajuda sempre. Além do incentivo para alcançar meus objetivos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Everaldo Silvino dos Santos, a quem sou grata por todo apoio, paciência e pelos ensinamentos passados me orientando em atividades de pesquisa.

À minha supervisora, Christiane Maria Christina Nóbrega Bakker, por tudo que me foi ensinado e por sempre se preocupar com que eu aprendesse o máximo com o estágio, a fim de tornar-me uma profissional mais experiente e responsável.

À empresa SterBom, pela oportunidade de realização do estágio, sendo este um grande aprendizado, e por ter sido recebida tão bem por todos.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que fazem parte do Laboratório de Engenharia Bioquímica da UFRN (LEB) pela amizade, apoio, paciência e principalmente pelo aprendizado. Ter feito parte do LEB foi de grande importância para meu crescimento acadêmico e pessoal.

SUMÁRIO

1. RESUMO	6
2. EMPRESA	7
2.1 Histórico	7
2.2 Localização.....	7
2.3 Produtos.....	7
2.3.1 Água Mineral Natural/Gelo.....	8
2.3.2 Sorvetes	8
2.3.3 Picolés.....	9
2.3.4 Complementos.....	9
2.3.5 Polpa de Frutas.....	10
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	11
3.1 Laboratório.....	11
3.1.1 Análises Físico-químicas.....	11
3.1.2 Análises Microbiológicas	11
3.2 ANÁLISES EM ÁGUA E GELO.....	12
3.2.1 Coleta	12
3.2.2 Coliformes Totais.....	13
3.2.3 Coliformes Termotolerantes.....	15
3.2.4 <i>Escherichia coli</i>	16
3.2.5 Bactérias Heterotróficas	18
3.2.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
3.2.7 <i>Enterococcus</i>	21
3.2.8 Clostrídios Sulfito-Redutores	22
3.3 ANÁLISES EM ALIMENTOS (GELADOS COMESTÍVEIS).....	23
3.3.1 Contagem em Placas.....	24
3.3.2 Técnica dos Tubos Múltiplos	25
3.3.3 Coleta das amostras	25
3.3.4 Preparo das Amostras	26
3.3.5 Coliformes Termotolerantes.....	26
3.3.6 <i>Salmonella sp.</i>	27
3.3.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	29
3.3.8 Microrganismos Mesófilos.....	30
4. AVALIAÇÃO DOS CONTEÚDOS ESTUDADOS	31
5. AVALIAÇÃO DO RETORNO DO ESTÁGIO	32

6. CONTRIBUIÇÕES PARA A EMPRESA	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXO I.....	36
ANEXO II	38

1. RESUMO

O relatório apresentado tem como objetivo relatar o estágio obrigatório supervisionado desenvolvido na empresa SterBom, localizada no distrito industrial de Parnamirim/RN. O estágio foi realizado no período de março a julho de 2016. O estágio supervisionado é importante para o desenvolvimento do aluno de maneira geral, é nele que é possível aplicar o que foi aprendido na universidade, além de conhecer como são, na prática, as atividades desenvolvidas em uma fábrica.

As principais atividades desenvolvidas pelo estagiário foram referentes ao controle de qualidade de produtos, no caso água e alimentos. Controlar e garantir que os produtos vendidos sejam de excelente qualidade é o passo mais importante para uma empresa, pois verifica o desempenho da produção, e que exige muita responsabilidade.

Para a indústria alimentar, em todas as etapas da cadeia de abastecimento, a principal prioridade é evitar a contaminação dos seus produtos, para isso a empresa presa fortemente pelas boas práticas de fabricação (BPF) e possui um sistema de análises de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) bastante ativo. É possível o controle da qualidade dos produtos fabricados na empresa garantindo a qualidade e segurança durante o processamento, através de análises microbiológicas, que foram o foco do relatório.

2. EMPRESA

2.1 Histórico

Fundada no ano de 1991, a SterBom iniciou suas atividades em umas das pequenas ruas do bairro do Alecrim, em Natal, onde hoje funciona a Loja da Fábrica. Hoje, a SterBom é uma referência na produção de sorvetes no país.

Antônio Leite Jales, presidente e fundador da SterBom, natural do município de Messias Targino no Rio Grande do Norte, começou vendendo picolé na rua e atualmente está à frente de uma empresa de sucesso. No ano de 1998, adquiriu um terreno no Parque Industrial de Parnamirim para construir sua fábrica.

Além da produção de sorvetes de diversos sabores, também produz uma linha variada de picolés, coberturas, casquinhas para sorvete, canudos *wafers*, água mineral, gelo e polpa de frutas.

Atualmente seu quadro de funcionários conta com mais de 600 pessoas, possui uma política voltada para resultados, mas visa acima de tudo à qualidade de seus produtos. Para tanto, um rigorosíssimo programa de qualidade é adotado visando o monitoramento constante dos produtos para garantir que os mesmos estejam dentro dos padrões e normas nacionais de segurança alimentar.

2.2 Localização

A fábrica está localizada às margens da BR-304, no km 305, Granja São Judas Tadeu no Distrito Industrial de Parnamirim, Rio Grande do Norte.

2.3 Produtos

Atualmente, a SterBom fabrica um série de produtos, entre eles estão os sorvetes, picolés, complementos (casquinhas, canudos, coberturas), água mineral natural, gelo mineral natural e polpa de frutas. Por não possuir um segmento principal de produção, a empresa busca atingir um público maior.

2.3.1 Água Mineral Natural/Gelo

A água vendida pela SterBom é proveniente de poços, não precisando passar pelo processo de adição de sais minerais, possuindo uma excelente qualidade, assim como o gelo. A água pode ser encontrada em diversos recipientes, como copinhos de 300 mL, garrafas de 1,5 mL, de 510 mL, garrafinhas sport de 510 mL e garrafões de 10 e 20 litros. O gelo mineral é produzido em embalagens de 3 kg, 10 kg e 20 kg. A Figura 1 mostra as embalagens das águas e gelos presentes no mercado atualmente.



Figura 1. Embalagem das águas envasadas e do gelo. Fonte: SterBom

2.3.2 Sorvetes

A empresa possui uma variedade de sabores de sorvete. Além dos sabores tradicionais, é produzido o de pavê, seresta, cupuaçu, chiclete com banana, flocos, abacaxi, amendoim, torta de limão, iogurte, bem casado, cappuccino, chocolate belga, dois amores, floresta negra, panetone, prestígio, entre muitos outros. Tais produtos são comercializados de diversas maneiras sob a forma de caixas, potes e copos. A Figura 2 mostra as embalagens dos sorvetes presentes no mercado atualmente.



Figura 2. Embalagens dos sorvetes produzidos na empresa. Fonte: SterBom

2.3.3 Picolés

Os picolés são produzidos em diversos sabores, além dos tradicionais, contando também com uma linha especial que produz os picolés Maximum de chocolate belga, crocante e tentação, SterFruta de coco e tapioca com coco, os picolés de açaí, brigadeiro, sterblanc e sterblito. A Figura 3 mostra as embalagens dos picolés presentes no mercado atualmente.



Figura 3. Embalagens dos picolés produzidos na empresa. Fonte: SterBom

2.3.4 Complementos

Os complementos referem-se a todos os produtos para sorveterias, fabricados na empresa. São produzidos cascão em forma de cone e estrela, casquinhas, canudinhos *wafers*, tubitos (canudinhos *wafers* recheados) e coberturas. A Figura 4 mostra as embalagens presentes no mercado atualmente para estes produtos.

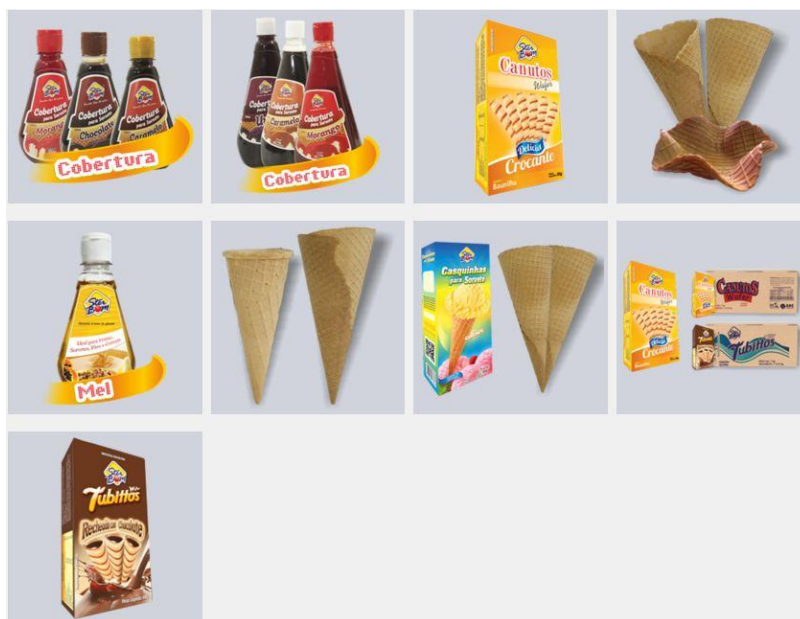


Figura 4. Embalagens para alguns dos complementos produzidos na empresa.

Fonte: SterBom

2.3.5 Polpa de Frutas

As polpas de frutas produzidas atualmente são de acerola, cajá, caju, açaí, goiaba, graviola, manga, cupuaçu, mangaba, maracujá, morango, tamarindo, umbu, uva e ameixa. A Figura 5 mostra as embalagens das polpas de frutas presentes no mercado atualmente.



Figura 5. Embalagens para polpas de frutas produzidas pela empresa. Fonte:

SterBom

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

As atividades realizadas na SterBom tinham como objetivo a realização de análises microbiológicas de alimentos e da água, visando verificar a qualidade dos produtos e a eficiência do processo.

3.1 Laboratório

A SterBom possui um laboratório devidamente equipado, onde são realizadas análises físico-químicas e microbiológicas dos produtos da empresa, dos alimentos consumidos no refeitório e de produtos enviados para análises, por colaboradores, considerando que o laboratório é certificado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

É válido mencionar que a empresa tem uma forte conduta relacionada às boas práticas de fabricação e ao APPCC, que é um sistema de análises de perigos e pontos críticos de controle.

3.1.1 Análises Físico-químicas

São realizadas no laboratório análises físico-químicas da água envasada na empresa, dos poços de onde são retiradas as águas e da estação de tratamento da empresa para acompanhar a qualidade da água que é descartada. Entre as análises realizadas tem-se o pH, condutividade, dureza, fluoretos, cloro residual, nitratos, entre outras. Além disso, também é feito o Brix (teor de sólidos solúveis) das polpas de frutas.

3.1.2 Análises Microbiológicas

Como mencionado anteriormente, as análises microbiológicas foram as principais atividades desenvolvidas pelo estagiário na empresa, sendo realizadas em águas e alimentos. Nesse caso, é verificado o crescimento ou não de microrganismos após o período de incubação. As técnicas podem variar de acordo com os microrganismos que se desejem analisar e de acordo com o material (água ou alimento).

Antes da realização das análises é feita a esterilização do material utilizado e a limpeza e desinfecção do ambiente, sendo utilizada uma capela de fluxo laminar com radiação UV.

3.2 ANÁLISES EM ÁGUA E GELO

As análises são feitas nas águas envasadas, na água dos poços e na água resultante da ETE (Estação de Tratamento de Esgoto). Essas análises tem o objetivo de fornecer subsídio a respeito da sua potabilidade, isto é, acaba com o risco de ingestão de microrganismos causadores de doenças, geralmente provenientes do contágio pelas fezes humanas e outros animais de sangue quente (FUNASA, 2013).

As técnicas adotadas são as preconizadas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA).

Os resultados das análises devem seguir a Portaria no 2.914/2011 do Ministério da Saúde, que estabelece os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e a RDC nº. 275, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA que trata do regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. Os padrões microbiológicos de águas para consumo humano, água mineral natural e água natural são apresentados no Anexo I.

São realizados alguns parâmetros para monitorar o controle de qualidade da água, entre eles são feitos coliformes totais a 35°C, coliformes termotolerantes a 45°C, *Escherichia coli*, bactérias heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa*, Clostrídio sulfito-redutor, *Enterococos*.

3.2.1 Coleta

A coleta de amostra é um dos passos mais importante para a avaliação da qualidade da água. Portanto, é essencial que a amostragem seja realizada com precaução e técnica para evitar todas as fontes de possível contaminação. Os frascos devem ser esterilizados para este tipo de análise. O procedimento que deve ser realizado durante coleta varia de acordo com o local onde se deseja coletar a água. As amostras coletadas são armazenadas em

refrigerados, mantendo a temperatura da mesma a aproximadamente 4°C, evitando a ação ou crescimento de microrganismos.

3.2.2 Coliformes Totais

Coliformes totais são bactérias do grupo coliformes, sendo a maioria pertencente ao gênero *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, apesar disso vários outros gêneros e espécies pertencem ao grupo. Além disso, são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, capazes de crescerem na presença de sais biliares ou agentes tensoativos e que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em 24-48 horas (SANCHEZ, 2015).

Além de serem encontradas em fezes, elas podem ocorrer no meio ambiente, em águas com altos teores de material orgânico, solo ou vegetação em decomposição.

A presença de coliformes totais (na ausência de *E. coli*) em águas de consumo humano pode indicar tratamento inadequado, contaminação após o tratamento ou excesso de nutrientes.

O método utilizado para a determinação de coliformes totais foi o método da membrana filtrante.

3.2.2.1 Meio de Cultura

Inicialmente é preparado o meio de cultura, onde são pesados 51,0 g do meio M-Endo Agar desidratado para 1000 mL de água destilada (considerando que o meio não pode ser autoclavado, a água deve ser autoclavada anteriormente para garantir a esterilização). Deve-se então adicionar 20 mL de álcool etílico 95% e, em seguida, aquecer o meio até o início da fervura. Após o esfriamento, é distribuído em placas de Petri.

3.2.2.2 Execução do Método

Após a montagem do equipamento de filtração, a membrana filtrante estéril é colocada na porta filtro com uma pinça previamente flambada e fria. Agita-se o frasco e, após destampado, flamba-se a boca do frasco. Coloca-se 100 mL da amostra no porta filtro e liga-se a bomba de vácuo para que seja feita a sucção. Após a filtração, com pinça flambada e fria, a membrana deve

ser removida do suporta e colocada na placa de Petri contendo o meio de cultura. A Figura 6 apresenta um exemplo do equipamento usado na técnica da membrana filtrante.



Figura 6. Equipamento para realização da técnica da membrana filtrante. Fonte: Imagens/Google

3.2.2.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação é feita com a placa invertida a 35 °C durante 24 ± 2 horas.

Decorrido o período de incubação, o filtro é examinado fazendo-se a contagem das colônias. As colônias indicativas de coliformes totais típicas têm uma cor rosa a vermelho escuro, com brilho metálico, como apresentado na Figura 7. O brilho pode aparecer no centro ou na periferia da colônia. As colônias atípicas aparecem com coloração vermelho-clara ou escura sem o brilho metálico característico. O resultado deve ser expresso em UFC/100 mL de amostra.



Figura 7. Colônias características de coliformes totais a 35°C. Fonte: Imagens/Google

3.2.3 Coliformes Termotolerantes

Subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas, tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal.

A existência de outros coliformes termotolerantes além de *E.coli* (principalmente de *Klebsiella* e *Enterobacter*), os quais por não serem de origem exclusivamente fecal, comprometem a especificidade desse grupo para a finalidade proposta. Em decorrência disso, a tendência atual se direciona para a determinação específica de *E. coli*, que é o único componente do grupo de origem exclusivamente fecal.

O método utilizado para a determinação de coliformes termotolerantes é o método da membrana filtrante.

3.2.3.1 Meio de Cultura

Inicialmente é preparado o meio de cultura, onde são pesados 52,0 g do meio mFC Agar desidratado para 1000 mL de água destilada (considerando que o meio não pode ser autoclavado, a água deve ser autoclavada anteriormente para garantir a esterilização). Deve-se então adicionar 10 mL da solução de ácido rosólico 1% em NaOH 2N e, em seguida, aquecer o meio até o início da fervura. Após esfriamento, é distribuído em placas de Petri.

3.2.3.2 Execução do Método

O procedimento é realizado da mesma maneira que é feita para coliformes totais, como expresso no tópico 3.2.2.2.

3.2.3.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação é feita com a placa invertida a 45 °C durante 24 ± 2 horas.

Decorrido o período de incubação, o filtro é examinado fazendo-se a contagem das colônias. As colônias indicativas de coliformes termotolerantes típicas são azuis, podendo ser observadas na Figura 8. O resultado deve ser expresso em UFC/100 mL de amostra.



Figura 8. Colônias características de coliformes termotolerantes a 45°C. Fonte: Imagens/Google

3.2.4 *Escherichia coli*

A *E. coli* é uma bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol a 44,5 ± 0,2°C em 24 horas, gerando ácido e gás. Além disso, gera indol a partir de triptofano, não hidrolisa a uréia e apresenta ação das enzimas β-galactosidase e β-glucuronidase, sendo considerado o mais preciso indicador de contaminação recente por fezes e da possível presença de organismos patogênicos (SANCHEZ, 2015).

O método utilizado para a determinação da presença/ausência de *E. coli* é o Método de Tubos Múltiplos. Essa análise é feita quando se deseja verificar a potabilidade da água.

3.2.4.1 Meio de Cultura

Para este método é necessário a preparação de dois caldos: caldo Lauril Triptose e o caldo EC. Para o caldo Lauril Triptose, inicialmente pesa-se 35,6 g

do meio desidratado e dissolve-se em 1000 mL de água destilada. Em seguida, são colocados 10 mL do caldo em tubos de ensaio contendo tubos de Durhan, sendo necessário a retirada das bolhas que possam ficar nos tubos de Durhan após colocado o caldo. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1 Kg/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Após isso, os tubos podem ser refrigerados por até 15 dias. O caldo EC também segue o mesmo procedimento do caldo Lauril, sendo pesados 37,0 g do meio desidratado e dissolvidos em 1000 mL de água destilada.

3.2.4.2 Execução do Método

Inicialmente são separados 10 tubos de ensaio contendo o caldo Lauril para cada amostra e identificados. Após isso a amostra deve ser aberta, próximo à chama do Bico de Bunsen, sendo colocados 10 mL da amostra (diluição 1:1) com pipetas esterilizadas nos tubos, que serão incubados a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24/48 horas. Se no final de 24/48 horas, houver a formação de gás dentro do tubo de Durhan, deve-se transferir com alça de platina flambada e fria, uma porção para os tubos de ensaio contendo o meio EC (a quantidade de tubos com o caldo EC utilizada será a mesma de tubos que apresentaram bolha no caldo Lauril). A incubação é feita a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Se no final de 24 horas ou menos houver a formação de gás, está indicada a presença de coliformes termotolerantes. Na Figura 9 pode-se observar a formação de gás nos tubos de Durhan.

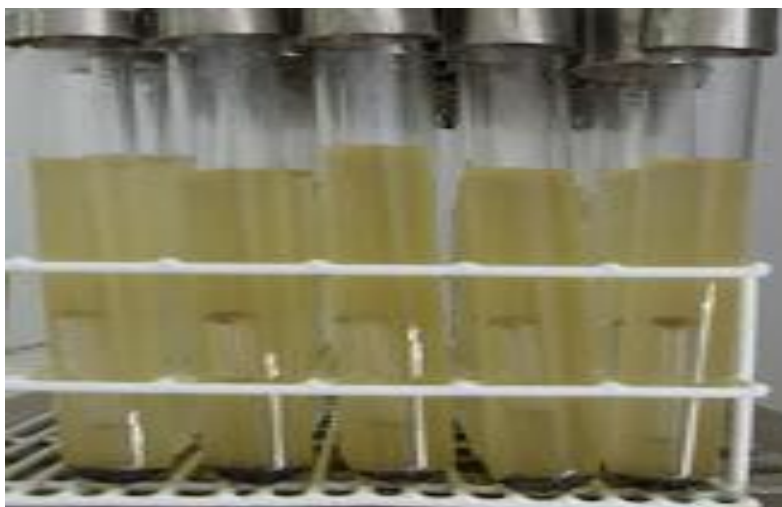


Figura 9. Tubos com formação de gás. Fonte: Imagens/Google

3.2.4.3 Leitura dos Resultados

Ao invés de se fazer a contagem das colônias, é determinado o índice de Número Mais Provável (NMP), que é uma estimativa das colônias que cresceram no meio.

Para se determinar o NMP, verifica-se quantidade de tubos que apresentaram bolha no tudo de Durhan para diluições 1:1. A Tabela 1 fornece o NMP para todos os resultados possíveis quando são inoculados 10 porções de 10 mL da amostra. Os resultados são expressos em NMP (Número Mais Provável)/100 mL de amostra.

Tabela 1: Índice de NMP e limites de confiança de 95%, quando são inoculadas 10 porções de 10mL da amostra

ÍNDICE DE NMP E LIMITES DE CONFIANÇA DE 95%, QUANDO SÃO INOCULADAS 10 PORÇÕES DE 10 ML DA AMOSTRA			
Número de tubos com reação positiva, a partir de 10 tubos de 10 ml	Índice de NMP 100 mL	Limites de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
0	< 1,1	0	3,0
1	1,1	0,03	5,9
2	2,2	0,26	8,1
3	3,6	0,69	10,6
4	5,1	1,3	13,4
5	6,9	2,1	16,8
6	9,2	3,1	21,1
7	12,0	4,3	27,1
8	16,1	5,9	36,8
9	23,0	8,1	59,5
10	> 23,0	13,5	Infinito

Fonte: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. APHA, AWWA, WEF, 1998.

3.2.5 Bactérias Heterotróficas

Bactérias heterotróficas são bactérias que utilizam um ou mais compostos orgânicos, que não o dióxido de carbono (CO₂), para a síntese do seu protoplasto.

Embora a maioria dessas bactérias não sejam consideradas patogênicas, é importante que sua densidade seja mantida sob controle, pois densidades muito elevadas de microrganismos na água podem causar na água

películas ou precipitados, podendo dar origem ao aparecimento de odores e sabores desagradáveis.

A determinação da densidade de bactérias em água para consumo humano é um importante instrumento auxiliar no controle bacteriológico para a avaliação das condições higiênicas e de proteção do poços, fontes, reservatórios e sistemas de distribuição de água para consumo humano, avaliação de diversas etapas no processamento e reservatório de águas minerais, avaliação da eficiência de diversas etapas de operação de estações de tratamento de água na remoção de bactérias e avaliação da eficiência do processo de sanitização e limpeza na indústria.

A técnica utilizada para a determinação de bactérias heterotróficas é a Técnica *Pour Plate*.

3.2.5.1 Meio de Cultura

Para a preparação do meio de cultura, são pesados 23,5 g do meio *Standard Methods Agar* (PCA) desidratado para 1000 mL de água destilada. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1 Kg/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Atingindo a temperatura de 45 – 50°C, é distribuído em placas de Petri.

3.2.5.2 Execução do Método

Na técnica de *pour plate*, a inoculação do agar é feita antes da sua solidificação. Nesta técnica o meio de cultura ainda líquido é misturado com a amostra.

A técnica acontece da seguinte maneira. Após a homogeneização da amostra é feita a inoculação, onde são transferidos volumes em duplicata de 1,0 mL e 0,1 mL da amostra para as placas de Petri correspondentes, previamente identificadas. Se for necessário examinar volumes decimais inferiores a 0,1 mL da amostra (10^{-1}) deve-se preparar as diluições da seguinte maneira: são transferidos 10 mL da amostra para um frasco contendo 90 mL de água de diluição estéril, assim está preparada a primeira diluição (10^{-1}), sendo que 1,0 mL da mesma corresponde a 0,1 mL da amostra.

A operação é então repetida e do frasco contendo a diluição feita anteriormente são retirados 10 mL e colocados em um novo frasco contendo

90 mL de água de diluição estéril, preparando a segunda diluição (10^{-2}), sendo 1,0 mL da mesma correspondente a 0,01 mL da amostra, e assim por diante.

São transferidos 1,0 mL dos frascos contendo as diluições para as placas correspondentes e, em seguida, 10 a 12 mL do meio de cultura. Após a homogeneização, deve-se deixar o meio solidificar.

A Figura 10 apresenta um comparativo entre a técnica de Pour Plate e a contagem em placas tradicional.

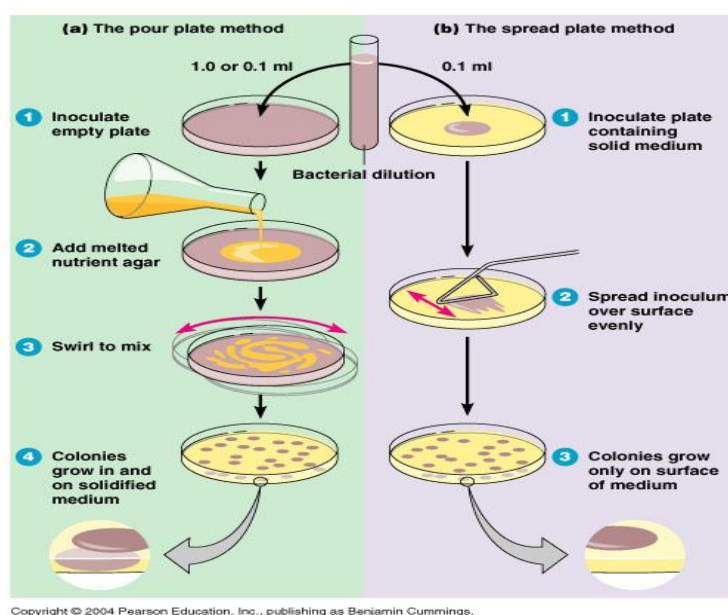


Figura 10. Fluxograma comparativo entre técnicas. Fonte: Imagens/Google

3.2.5.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação das placas é feita a 35°C por 48 ± 2 horas.

Decorrido o período de incubação, a placa é examinada fazendo-se a contagem de todas as colônias. As placas adequadas para contagem devem ter entre 30 a 300 colônias. As colônias indicativas de bactérias heterotróficas são brancas ou amarelas. O resultado deve ser expresso em UFC/mL de amostra.

3.2.6 *Pseudomonas aeruginosa*

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é um microrganismo oportunista encontrado em qualquer *habitat*, incluindo água e sistema de distribuição, solo, ar e o próprio homem, pois se adapta em vários meios. Essas bactérias são

consideradas padrão de qualidade para águas minerais e águas minerais naturais, pois se estiver presente em grandes quantidades pode indicar a ocorrência de contaminação (VASCONCELOS, 2005).

Segundo afirmam Sanchez e Ruocco Jr. (2004), as *Pseudomonas aeruginosa* presentes em altas concentrações podem favorecer resultados falso-negativos interferindo nas análises de coliformes, pois inibem o desenvolvimento desses microrganismos.

O método utilizado para a determinação de *Pseudomonas* é o método da membrana filtrante.

3.2.6.1 Meio de Cultura

Para a preparação do meio de cultura, são pesados 46,7 g do meio Cetrimide Agar desidratado para 990 mL de água destilada. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1 Kg/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Atingindo a temperatura de 45 – 50°C, é distribuído em placas de Petri.

3.2.6.2 Execução do Método

O procedimento é realizado da mesma maneira que é feito para coliformes totais, como expresso no tópico 3.2.2.2.

3.2.6.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação é feita com a placa invertida a 35 °C durante 48 ± 2 horas.

Decorrido o período de incubação, a placa é examinada fazendo-se a contagem das colônias. As colônias típicas indicativas de *Pseudomonas aeruginosa* são amarelas. O resultado deve ser expresso em UFC/100 mL de amostra.

3.2.7 *Enterococcus*

Essas bactérias apresentam forma de cocos, são Gram-positivos, geralmente ocorrendo em pares ou cadeias curtas.

Os *Enterococcus* constituem um grupo de bactérias cujo *habitat* natural é o trato intestinal humano e de outros animais.

O método utilizado para a determinação de *Enterococcus* é o método da membrana filtrante.

3.2.7.1 Meio de Cultura

Inicialmente é preparado o meio de cultura, onde são pesados 42,0 g do meio *m-Enterococcus* Agar desidratado para 1000 mL de água destilada (considerando que o meio não pode ser autoclavado, a água deve ser autoclavada anteriormente para garantir a esterilização). Atingindo a temperatura de 45 – 50°C, é distribuído em placas de Petri.

3.2.7.2 Execução do Método

O procedimento é realizado da mesma maneira que o para coliformes totais, como expresso no tópico 3.2.2.2.

3.2.7.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação é feita com a placa invertida a 35 °C durante 48 ± 2 horas.

Após o período de incubação, a placa é examinada fazendo-se a contagem das colônias. As colônias indicativas de *Enterococcus* são alaranjadas ou vermelhas. O resultado deve ser expresso em UFC/100 mL de amostra.

3.2.8 Clostrídios Sulfito-Redutores

Os clostrídios sulfito redutores são bactérias de morfologia bacilar, gram positivas, anaeróbias estritas, esporuladas e que apresentam ação sulfito redutora (SANCHEZ, 2015).

Esses microrganismos são encontrados no solo e no intestino humano e de outros animais. Sua presença em água indica contaminação fecal remota, podendo indicar também contaminação por solo do reservatório ou fonte contaminada por águas superficiais, além de falhas nas boas práticas de fabricação.

Normalmente são utilizados para avaliação e controle da qualidade bacteriológica de águas para consumo humano (sistema de abastecimento de águas e águas envasadas), de mananciais e corpos d'água, detecção de contaminação fecal remota.

O método utilizado para a determinação de Clostrídios sulfito-redutor é o método da membrana filtrante.

3.2.8.1 Meio de Cultura

O meio de cultura utilizados na análise é o *Clostridium perfringens* Agar Base, onde é feita a pesagem de 42,0 g do meio desidratado para 900 mL de água destilada. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1 Kg_f/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Atingida a temperatura de 45 – 50°C, são colocados 100 mL de Emulsão Gema de Ovo e duas ampolas de *Clostridium Perfringers Supplement*. Em seguida, o meio é distribuído em placas de Petri.

3.2.8.2 Execução do Método

O procedimento é realizado da mesma maneira que o para coliformes totais, como expresso no tópico 3.2.2.2.

3.2.8.3 Incubação e Leitura dos Resultados

A incubação é feita com a placa invertida a 45 °C durante 48 ± 2 horas.

Decorrido o período de incubação, o filtro é examinado fazendo-se a contagem das colônias. As colônias indicativas de *Clostridium* apresentam coloração preto-esverdeado. O resultado deve ser expresso em UFC/100 mL de amostra.

3.3 ANÁLISES EM ALIMENTOS (GELADOS COMESTÍVEIS)

Os microrganismos estão relacionados com a disponibilidade, a fartura e a qualidade do alimento para consumo humano. Os microrganismos podem facilmente infectar os alimentos durante o manuseio e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento de microrganismos. Se esses microrganismos tiverem como se desenvolver, podem mudar as características físicas e químicas do alimento e podem causar sua degradação. Além disso, a sua presença em alimentos pode também ser responsável por intoxicações e infecções transmitidas por alimentos (PELCZAR JR. *et al.*, 1997).

Os métodos de análise são comumente divididos em métodos “convencionais” e métodos “rápidos”. Os métodos convencionais foram desenvolvidos há muitos anos e desde então são utilizados como métodos

oficiais na maioria dos laboratórios brasileiros e também em outros países. Enquanto que os métodos rápidos surgiram da necessidade de se reduzir o tempo de análise nos laboratórios, aumentando-se a produtividade do trabalho realizado.

O método de contagem de microrganismos em placas e a técnica do número mais provável (NMP) foram as técnicas normalmente utilizadas durante o estágio.

Os microrganismos analisados em alimentos foram os coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, microrganismos mesófilos, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, bolores e leveduras, *Vibrio parahaemolyticus* e *Listeria monocytogenes*. Essas análises são feitas de acordo com o alimento ao qual se deseja verificar a qualidade, não havendo necessidade de verificar a presença/ausência de todos esses microrganismos para uma determinada amostra. Levando-se em conta o que foi mencionado anteriormente, a microbiologia apresentada focará em apenas uma classe de produtos, que serão os gelados comestíveis. Apesar disso, no decorrer do estágio foram desenvolvidas análises para outros tipos de alimentos.

Para os sorvetes, a RDC nº 12 pede que seja feita a avaliação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp*, sendo também feita a de microrganismos mesófilos por interesse da empresa.

Os resultados das análises devem seguir a RDC nº.12, de 22 de janeiro de 2001 da ANVISA que trata do regulamento técnico de padrões microbiológicos para alimentos. Os padrões microbiológicos para sorvetes estão apresentados no Anexo II.

3.3.1 Contagem em Placas

O método de contagem de microrganismos em placas é um método geral, que pode ser utilizado para contagem de microrganismo de vários gêneros e espécies, variando o tipo de meio, a temperatura e o tempo de incubação (SILVA, 2002).

Por este método, amostras de alimentos são homogeneizadas, diluídas em séries, em diluente apropriado, plaqueadas, com ou sobre um meio de ágar apropriado, e incubadas. Em seguida, todas as colônias visíveis são contadas.

O procedimento se baseia na premissa de que cada célula presente em uma amostra irá formar uma colônia separada e visível, quando fixada com meio que lhe permita crescer (SILVA, 2002).

3.3.2 Técnica dos Tubos Múltiplos

A técnica dos tubos múltiplos, também chamada do número mais provável, é outra maneira utilizada para as análises de alimentos, onde é feita uma estimativa da quantidade de colônias presente na amostra, sendo utilizada na contagem de alguns tipos de microrganismos, como coliformes fecais, coliformes totais, *E. coli* e *Staphylococcus aureus* (SILVA, 2002).

Na técnica NMP, o produto é homogeneizado e submetido a três diluições seriadas. De cada uma dessas diluições, alíquotas iguais são transferidas para três ou para cinco tubos contendo o meio de cultura escolhido e um tubo coletor de gás (tubo de Durham). Todos os tubos são incubados e após o período de incubação, os tubos que apresentaram formação de gás no tubo de Durham são identificados. Pelo número de tubos de apresentaram formação de gás em cada uma das diluições empregada determina-se o NMP por grama de produto, tendo como base a tabela estatística de Hoskins para três ou para cinco tubos (FRANCO, 2003).

O NMP é uma estimativa feita através dos resultados relatados como positivos e negativos em uma ou mais diluições decimais da amostra, ou seja, apresentaram ou não formação de gás. 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) (SILVA, 2002).

3.3.3 Coleta das amostras

As metodologias para amostragem, coleta, acondicionamento, transporte e para análise microbiológica de amostras de produtos alimentícios devem obedecer ao disposto pelo *Codex Alimentarius*; "*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*" (I.C.M.S.F.); "*Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*" e "*Standard Methods for the Examination of Dairy Products*" da *American Public Health Association*

(APHA)"; "Bacteriological Analytical Manual" da Food and Drug Administration , editado por Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC), em suas últimas edições e ou revisões, assim como outras metodologias internacionalmente reconhecidas.

A coleta de amostra é um passo muito importante para a avaliação do alimento a ser analisado, pois deve ser evitado que o alimento seja contaminado durante a coleta. Portanto, é essencial a lavagem e assepsia das mãos, a utilização de luvas, máscara e toucas e ainda a utilização de frascos com sacos plásticos estéreis próprios para essa atividade.

Devido o sorvete ser coletado após a colocação na embalagem, é imediatamente colocado em um freezer ou câmara de endurecimento, para que o restante da água livre se congele, em temperaturas entre -25 e -28°C . O endurecimento deve ser rápido e a temperatura deve ser uniforme, para que a água livre não forme cristais de gelo grandes.

O armazenamento de sorvetes prontos é feito em freezer cuja temperatura deve estar igual ou inferior a -18°C .

3.3.4 Preparo das Amostras

Inicialmente, pesa-se 25,0 g de cada amostra. O material pesado é colocado em frascos contendo 225 mL de água peptonada estéril (diluyente) e homogeneizado, obtendo-se a diluição 10^{-1} . Desta primeira diluição foi retirado 1,0 mL e transferido para tubo de ensaio contendo 9,0 mL do mesmo diluyente anteriormente citado (diluição 10^{-2}). Posteriormente, prepara-se outras diluições decimais se necessário.

3.3.5 Coliformes Termotolerantes

A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento. Segundo FRANCO *et al.* (2005), os coliformes termotolerantes presentes em alimentos podem indicar a ocorrência de contaminação fecal e a possível da presença de organismos patogênicos. Além disso, pode indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento ou

armazenamento. Esse parâmetro microbiológico tem a importância de avaliar a condição higiênico-sanitária de água e alimentos.

A presença de coliformes em alimentos pode, também, estar relacionada à sua recontaminação, após esses procedimentos.

3.3.5.1 Meio de Cultura

O meio de cultura utilizados nas análises é o *Violet Red Bile Agar* (VRBA), onde é feita a pesagem de 41,5 g do meio desidratado para 1000 mL de água destilada (considerando que o meio não pode ser autoclavado, a água deve ser autoclavada anteriormente para garantir a esterilização). Atingida a temperatura de 45 – 50°C, o meio é distribuído em placas de Petri.

3.3.5.2 Incubação e Leitura dos Resultados

Após a inoculação das placas, é feita a incubação com as placas invertidas a 45 °C por 48 +/-2horas.

As colônias típicas de coliformes termotolerantes são púrpuras circundadas por halos da cor púrpura. As colônias atípicas são pálidas com zonas esverdeadas.

Os resultados são expressos como $X \times 10^y$ UFC/g, sendo x o número de colônias contadas e y a diluição.

3.3.6 *Salmonella sp*

A *Salmonella sp* é uma bactéria patogênica, bastante difundida e que consegue se adaptar e desenvolver em diversos meios, podendo estar presente no solo, ar, na água, nos animais, nos seres humanos, nos alimentos, fezes e equipamentos. Apesar disso, o seu habitat natural é o intestino humano e de outros animais, podendo estar presente no intestino de animais de sangue quente. Pode provocar febre, infecção intestinal, desidratação e mal estar após a ingestão de alimentos contaminados (SILVA e JUNQUEIRA, 2001).

Os principais fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar são: o armazenamento inadequado de alimentos, a ingestão de alimentos crus ou contaminados, o tratamento térmico inadequado, boas práticas de fabricação insatisfatórias e má higienização de equipamento (GUIMARÃES, 2001).

3.3.6.1 Meio de Cultura

Para as análises de *Salmonella sp*, são preparados dois caldos (caldo Rappaport Vassiliadis e o caldo Selenito Cystine) e dois meios (meio XLD e o meio BG).

Para o caldo Rappaport, pesa-se 26,6 g do caldo desidratado para 1000 mL de água destilada. Em seguida, deve-se distribuir em tubos de ensaio (10 mL cada) e esterilizar em autoclave a 116°C (pressão de 10 libras) por 15 min. E para o caldo Selenite Cystine, pesa-se 23,0 g do caldo desidratado para 1000 mL de água destilada esterilizada, também distribuindo em tubos de ensaio (10 mL cada).

Com relação ao meio XLD, pesa-se 56,68 g do meio desidratado para 1000 mL de água destilada esterilizada. Após atingir a temperatura de 45-50°C, o meio é distribuído em placas de Petri. Enquanto que para o meio BG, pesa-se 58,1 g para 1000 mL de água destilada e esteriliza em autoclave a 121°C por 15 min. Atingida a temperatura de 45-50°C, o meio é distribuído em placas de Petri.

3.3.6.2 Inoculação e Leitura dos Resultados

Diferente dos outros microrganismos, é efetuado um pré-enriquecimento da amostra, onde a amostra é colocada em solução salina 1% tamponada (APT) e homogeneizada por 60 segundos e incubada a $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 16 a 20 horas. Após esse período é feito o enriquecimento, onde é transferido 1,0 mL da suspensão pré-enriquecida para um tubo contendo caldo selenito cistina e 0,1 mL para tubo contendo caldo Rappaport. Os tubos são incubados a 41°C por 20 a 24 horas. Após o período de incubação, é feito o isolamento, fazendo-se repique para o ágar XLD e para o ágar Verde Brilhante (BG), os quais são incubados a $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

As colônias típicas de *Salmonella* no ágar XLD possuem centro negro, com halo rosado em seu entorno; *Salmonellas* variantes negativas de H₂S, são rosas, com um rosa mais intenso no meio da colônia; *Salmonella* lactose-positiva é amarela, com ou sem escurecimento. As colônias típicas de *Salmonella* no ágar BG são da cor vermelha para um vermelho mais intenso, pois não fermentam a lactose.

3.3.7 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria que apresenta a forma de cocos aparecendo aos pares no exame microscópico. É um gram positivo, sendo que algumas cepas produzem uma toxina protéica altamente termo-estável que causa a doença em humanos. A multiplicação da bactéria em alimentos armazenados em temperaturas inadequadas produz a toxina mencionada anteriormente (SANCHEZ, 2015).

A variedade nutricional e a possibilidade de se desenvolverem em diferentes condições ambientais fazem com que a *S. aureus* cresçam com facilidade em vários alimentos, sendo dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas, além de lesões na pele.

3.3.7.1 Meio de Cultura

O meio de cultura utilizados nas análises é o Baird Parker Agar, onde é feita a pesagem de 60,0 g do meio desidratado para 1000 mL de água destilada. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1Kg_f/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Atingida a temperatura de 45 – 50°C, são colocados 50 mL de Emulsão Gema de Ovo e, em seguida, o meio é distribuído em placas de Petri.

3.3.7.2 Inoculação e Leitura dos Resultados

Após a inoculação das placas, é feita a incubação com as placas invertidas a 35 °C por 24 +/-2horas.

As colônias típicas de *staphylococcus* coagulase positiva podem ser pretas ou cinzas, brilhantes e convexas, com 1,0 a 1,5 mm de diâmetro. São circundadas por um halo translúcido, que pode conter outro halo opalescente, justaposto à colônia. As colônias atípicas podem ser pretas e brilhantes, com ou sem borda branca bem marcada, ausência ou difícil visualização de área translúcida ou de halo opalescente, ou ainda, podem ser cinza, sem zonas claras ou translúcidas.

Os resultados são expressos como $X \times 10^y$ UFC/g, sendo x o número de colônias contadas e y a diluição.

3.3.8 Microrganismos Mesófilos

Segundo a ICMSF (1984) a quantidade de colônias de microrganismos mesófilos nos alimentos é um ótimo indicador da qualidade dos alimentos, pois verifica se a limpeza, desinfecção, o processo, transporte e armazenamento foram realizados da maneira adequada. Esta determinação também possibilita obter informação sobre a mudança incipiente dos alimentos, sua provável vida útil, a falta de controle no descongelamento dos alimentos ou desvios na temperatura de refrigeração estabelecida.

A análise de microrganismos mesófilos nos gelados comestíveis não é um parâmetro exigido pela legislação, mas a análise é realizada para um controle interno da empresa, garantindo que seu produtos mantenham o padrão de qualidade.

3.3.8.1 Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado nas análises é o *Standard Methods Agar* (PCA), para o seu preparo são pesados 23,5 g do meio desidratado para 1000 mL de água destilada. Em seguida, deve-se esterilizar a 121°C (1 Kg_f/cm² de pressão) em autoclave durante 15 minutos. Atingindo a temperatura de 45 – 50°C, é distribuído em placas de Petri.

3.3.8.2 Inoculação e Leitura dos Resultados

Após a inoculação das placas, é feita a incubação com as placas invertidas a 35 °C por 48+/-2horas.

É realizada a leitura de todas as colônias presentes na placa, sendo o resultado expresso em UFC/g, sendo x o número de colônias contadas e y a diluição.

4. AVALIAÇÃO DOS CONTEÚDOS ESTUDADOS

O curso de Engenharia Química foi de suma importância para o desenvolvimento das atividades do estágio na SterBom, tendo algumas disciplinas do curso se destacado, entre elas a de Química Analítica Aplicada e as experimentais em geral, Introdução aos Biocatalisadores, Engenharia Bioquímica, Qualidade e Segurança do Trabalho e Controle de Qualidade de Águas.

A disciplina de Química Analítica e as disciplinas experimentais do curso desenvolveram as habilidades e conhecimentos necessários para o trabalho em laboratório, além da postura que se deve ter nesse ambiente e o manuseio de diversos equipamentos.

As disciplinas de Introdução aos Biocatalisadores e Engenharia Bioquímica foram de grande importância, pois forneceram o embasamento teórico necessário para o desenvolvimento das análises microbiológicas, que apresentam grande importância no controle de qualidade dos produtos.

Todas as atividades realizadas no ambiente laboratorial requerem o conhecimento das medidas de segurança que devem ser adotadas, sendo isso visto na disciplina de Qualidade e Segurança no Trabalho. Podendo-se entender e debater a respeito da importância da qualidade dos produtos fabricados, tanto para quem produz quanto para quem consome e da utilização de EPI's (Equipamentos de Proteção Individual na Indústria).

5. AVALIAÇÃO DO RETORNO DO ESTÁGIO

O estágio na SterBom contribuiu de diversas formas para a complementação do aprendizado obtido na graduação. Dentre elas, com a possibilidade de vivenciar uma rotina de trabalho, de aplicar na prática os conhecimentos adquiridos e adquirir novos, levando em conta a variedade de setores e podendo ajudar ou observar de perto.

Além disso, tornou-se uma grande oportunidade de adquirir conhecimento técnico no que diz respeito ao setor de qualidade na indústria, que é de grande importância em qualquer indústria, expandindo o interesse pelo setor alimentício. E possibilitou o crescimento pessoal, através da participação de reuniões e da convivência com muitas pessoas com personalidades diferentes e opiniões e pensamentos diferentes.

Por fim, ficou toda a experiência e conhecimento adquirido, principalmente na parte de controle microbiológico, gerando melhores oportunidades de trabalho e a certeza de qual caminho seguir e da importância de buscar ainda mais conhecimento para desempenhar cada vez melhor o papel de engenheiro.

6. CONTRIBUIÇÕES PARA A EMPRESA

Durante o estágio foi possível à realização de algumas atividades que contribuíram para a empresa. Dentre elas a principal contribuição foi a maior agilidade na realização das análises e, conseqüentemente, na entrega de laudos.

Também foram colocadas em dia as atividades pendentes do laboratório, entre elas, as referentes à organização do laboratório e as análises.

Além disso, a presença do estagiário significou uma pessoa a mais no laboratório que além de ajudar nas atividades, pode opinar e dar uma visão diferente de uma determinada situação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. Baltimore, Maryland: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), 1998.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos Alimentos**, 2º edição – São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2005. p.27 – p.171.

FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água / Fundação Nacional de Saúde**. 4º ed., Brasília: Funasa, 2013.

GUIMARÃES, A.G. ; LEITE, C.C. ; TEIXEIRA, L. D. S. ; SANTÍANNA, M. E. B. ; ASSIS, P.N. **Deteção de *Salmonella* spp. em alimentos e manipuladores envolvidos em um surto de infecção alimentar**. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/1875/1/598-2259-2-PB%20Farm.pdf>>. Acesso em: 20 de abril de 2016.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microrganismos dos Alimentos: Técnicas de Análises Microbiológicas**. Zaragoza: Acribia, 1984.

SANCHEZ, P. S.; RUOCCO Jr., J. **Controle de qualidade de águas minerais: novos conceitos e tendências recentes da legislação internacional**. Recife, 2004. In: Seminário, Recife. Apostila do Participante. ABINAM-sucursal nordeste, 95p., 2004.

SANCHEZ, P. S. **Atualização em Análises Microbiológicas em Águas Minerais**. São Paulo, Apostila. 2015. 62p

SILVA, M. C. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate. 2002. Tese (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, 2002, Piracicaba. Disponível em <http://www.teses.usp.br/>. Acesso em: 16 de abril de 2016.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo, 2001.

PELCZAR JR, M.J; CHAN, E.C.S; KRIEG, N.R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2 ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1997. v.2. cap.30, p.372-397: Microbiologia de Alimentos.

VASCONCELOS, U. **Investigação do Antagonismo Entre *Pseudomonas Aeruginosa* e Bactéria do Grupo Coliforme**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife. CCB. Biotecnologia, 2005.

ANEXO I

Tabela 2 – Padrão Microbiológico de Água para Consumo Humano.

Tipo de água		Parâmetro		VMP ¹
Água para consumo humano		Escherichia coli ²		Ausência em 100mL
Água tratada	Na saída do tratamento	Coliformes Totais ³		Ausência em 100mL
	No sistema de distribuição(reservatórios e rede)	Escherichia coli		Ausência em 100mL
		Coliformes Totais ⁴	Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem menos de 20.000 habitantes	Apenas uma amostra, entre as amostras examinadas no mês, poderá apresentar resultado positivo
			Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem a partir de 20.000 habitantes	Ausência em 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês.

Fonte: Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde.

Notas: (1) Valor Máximo Permitido

(2) Indicador de Contaminação Fecal

(3) Indicador de Eficiência do Tratamento

(4) Indicador de Integridade do Sistema de Distribuição

Tabela 3 – Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural.

Microrganismo	Amostra Indicativa Limites	Amostra Representativa			
		n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes (fecais) termotolerantes, em 100 mL	ausência	5	0	-	ausência
Coliformes Totais, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
Enterococos, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
Clostrídios sulfito redutores e <i>Clostridium Perfringens</i>	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP

Fonte: ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 275, de 22 de setembro de 2005.

n: é o número de unidades da amostra representativa a serem coletadas e analisadas individualmente.

c: é o número aceitável de unidades da amostra representativa que pode apresentar resultado

entre os valores "m" e "M".

m: é o limite inferior (mínimo) aceitável. É o valor que separa qualidade satisfatória de qualidade

marginal do produto. Valores abaixo do limite "m" são desejáveis.

M: é o limite superior (máximo) aceitável. Valores acima de "M" não são aceitos.

ANEXO II

Tabela 4 – Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos

GELADOS COMESTÍVEIS E PRODUTOS PARA O PREPARO DE GELADOS COMESTÍVEIS						
Gelados comestíveis e produtos especiais gelados a base de leite e produtos lácteos (sorvetes e picolés com ou sem cobertura, sanduíche e bolo de sorvete) e similares;	Microrganismo	Tolerância para Amostra Indicativa	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
	Coliformes a 45°/g	5×10	5	2	10	5×10
	<i>Staphylococcus aureus</i> /g	5×10^2	5	2	10^2	5×10^2
<i>Salmonella sp</i> /g	Ausência	5	0	Ausência	-	

Fonte: ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 12, de 02 de janeiro de 2001.