



27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

PADRÕES PROPOSTOS PARA A CARGA AMBIENTAL DE MICRO-ORGANISMOS INDICADORES DE UMA ÁREA CRÍTICA DE PROCESSO DE POLPA DE FRUTAS

F. G. Ramos Guerrero^{1,2,4}, R. da S. Rodrigues³, B.C. López Flores^{1,2}, J.C. Ramos Gorbeña⁴

1- Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú, Telefone: +51 989253990 – e-mail: (felix.ramos@unmsm.edu.pe)

2- Grupo de Investigación Ciencia e Inocuidad Alimentaria (INOCAL), Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú, Telefone: +51 989253990 – e-mail: (blopezf@unmsm.edu.pe)

3- Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão- CEP 96010-900 – Pelotas - RS – Brasil, Telefone: +55 (53) 32757354 - Fax: +55 (53) 32757354 – e-mail: (rosane.rodrigues@ufpel.edu.br)

4- Instituto de Control y Certificación de la Calidad e Inocuidad Alimentaria (ICCCIA-URP) - Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú. Telefone: +51 997400652 – e-mail: (juan.ramos@urp.edu.pe)

RESUMO – Dentro do plano de qualidade nas indústrias de alimentos, encontram-se a monitorização microbiológica do ar nas áreas de processo. Essa carga microbiológica deve ser controlada adequadamente para evitar problemas de contaminação no produto final. Neste estudo, avaliou-se quantitativamente as cargas microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas (BAM) e de bolores e leveduras no ar da sala de enchimento de uma fábrica processadora de polpa de frutas durante as quatro estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) e em três anos de monitoramento, com a finalidade de estabelecer padrões de aceitação e rejeição microbiológicos. Em nenhum dos casos avaliados a carga microbiológica de BAM e de bolores e leveduras superou o valor de 50 e 25 UFC/Placa/15 minutos, respectivamente. Assim, através da avaliação dos dados por estações e de forma global (por anos), se estabeleceu três critérios (seguro, precaução e inseguro) para a carga de micro-organismos indicadores nessa área crítica de produção.

ABSTRACT – Within of quality plan in the food industries, it is found the air microbiological monitoring of processing areas. This microbiological load must be controlled adequately in order to avoid contamination issues in the final product. In this research, it was quantitatively evaluated the mesophilic aerobic bacteria (MAB), molds and yeasts on the air of filling room of a factory dedicated to the process of fruit pulps, in order to establish acceptance and rejection standards, and if there is difference between values obtained by season (spring, summer, autumn and winter) between years of monitoring. Through of data evaluation by season and globally (by years), it was established 3 criteria (safe, caution and insecure) to the load of indicator microorganisms in this critical area of production. In none of cases, microbiological load of MAB and molds, and yeast, exceeded the value of 50 and 25 CFU/Plate/15 minutes, respectively.

PALAVRAS-CHAVE: ar; contaminação cruzada; deterioração microbiológica; frutas tropicais.

KEYWORDS: air; cross-contamination; microbiological spoilage; tropical fruits.

1. INTRODUÇÃO

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



O ambiente de processamento das fábricas de alimentos e bebidas tem papel importante na contaminação final do produto (Carminati et al., 2016). Equipamentos, infraestrutura, pessoal (incluindo vestimenta), ar, utensílios e outros materiais, podem ser fonte de contaminação por micro-organismos, os quais poderão causar no produto final: alteração (se contaminados com micro-organismos de deterioração) ou intoxicações e ou infecções (se contaminados com micro-organismos patogênicos) (Zacharski et al., 2018).

O ar é um dos aspectos mais importantes que devem ser controlados na indústria de alimentos para garantir um produto final com qualidade e inocuidade, evitando assim a geração de produtos não conformes e perdas econômicas (Masotti et al., 2019). Bactérias e esporos bacterianos e fúngicos podem estar suspensos no ar do ambiente de processo; e se as condições se estabelecem adequadamente (tempo, área de exposição, fluxo do ar, entre outros), podem atingir a superfície do produto final e posteriormente crescer, ativar-se e/ou desenvolver-se no alimento (Snyder e Worobo, 2018).

É importante que o desenho da área de processo para determinada etapa de produção minimize a dispersão e a contaminação com os micro-organismos ambientais, tendo em conta o fluxo de operações, a entrada e saída de materiais, o número de pessoas que trabalham nessa área, a qualidade do ar necessário para minimizar o risco de contaminação, os tempos de exposição do produto antes do seu envasamento, a disposição do equipamento na área, entre outros aspectos. Adicionalmente, operações industriais tais como a sanitização, a filtração e a barreira física de pressão positiva, são ferramentas incorporadas ao sistema de inocuidade alimentar para garantir e manter a carga microbiológica nos ambientes de processo dentro da especificação (Brown e Wray, 2014).

A qualidade microbiológica do ar no ambiente de processo deve ser monitorada periodicamente e cada fábrica deve estabelecer seus próprios padrões baseados em dados operacionais e sob requerimentos específicos do produto final (segundo especificação técnica). Devido à natureza e diversidade dos produtos alimentares e porque cada grupo de alimentos apresenta uma microflora específica e quantidade tolerável, não existe uma referência global para as áreas de processos de alimentos em relação à carga microbiológica ambiental permissível.

O grupo de micro-organismo a ser controlado e monitorado deve estar relacionado com os possíveis casos de deterioração ou intoxicação/infecção na matriz alimentar. Por exemplo, em produtos cárneos e prontos para o consumo (refrigerados ou congelados), é importante monitorar a presença de *Listeria* spp. no ambiente (Reinhard et al., 2018), enquanto que em padarias é de suma importância a quantidade de fungos filamentosos capazes de causar deterioração, como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (Garcia et al., 2019).

No caso da indústria processadora de sucos, polpas e concentrados de frutas e derivados, é de suma importância o controle de micro-organismos indicadores da alteração como bolores e leveduras (Ramos e López, 2018), capazes de gerar mudanças indesejáveis no produto final, como alteração da aparência, fermentação, turbidez, aumento da acidez, produção de odores e sabores estranhos, entre outros (Hernández et al., 2018).

O objetivo deste estudo foi quantificar a carga de micro-organismos indicadores (aeróbios mesófilos, bolores e leveduras) em diferentes períodos de tempo (por estações do ano e ao longo dos anos), visando estabelecer limites microbiológicos para o ar da sala de enchimento de uma fábrica processadora de polpa de frutas tropicais, e verificar se há diferença entre os valores obtidos nas estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) e entre os anos de monitoramento.



2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação do material estéril para amostragem

Placas de Petri com 15 mL de meios de cultivos esterilizados foram preparadas assepticamente. Agar Padrão para Contagem (PCA) e Batata Dextrose Agar (BDA) foram usados nesta pesquisa para a quantificação de bactérias aeróbias mesófilas e de bolores e leveduras, respectivamente. As placas de Petri com os meios de cultivo gelificados foram armazenadas sob refrigeração até seu uso no momento da amostragem.

2.2 Amostragem do ar em área de processo

Todas as amostras do ar foram tomadas na sala de enchimento (SE) de uma fábrica processadora de polpas de frutas congeladas localizada em Callao (Peru), durante operações normais de processamento e escolhendo um dia aleatório por semana. A amostragem foi realizada expondo ao ambiente da SE uma placa de Petri com o ágar específico para cada grupo de micro-organismo, durante 15 minutos. Um total de 52 amostras foram tomadas por ano (uma por semana), sendo classificadas segundo a estação do ano (12 amostras durante o período de verão, 14 no outono, 13 no inverno e 13 durante a primavera). O programa de amostragem foi repetido durante 3 anos (2017, 2018 e 2019), começando sempre em dezembro do ano anterior ao da estação de verão.

2.3 Incubação e expressão dos resultados

Depois da amostragem, as placas foram levadas às incubadoras isotérmicas do laboratório da fábrica, permanecendo ali durante um período de 48 ± 3 horas a uma temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ para contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias aeróbias mesófilas (BAM) e por 5-7 dias a uma temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ para bolores e leveduras. Os resultados foram expressos como UFC/Placa/15 minutos.

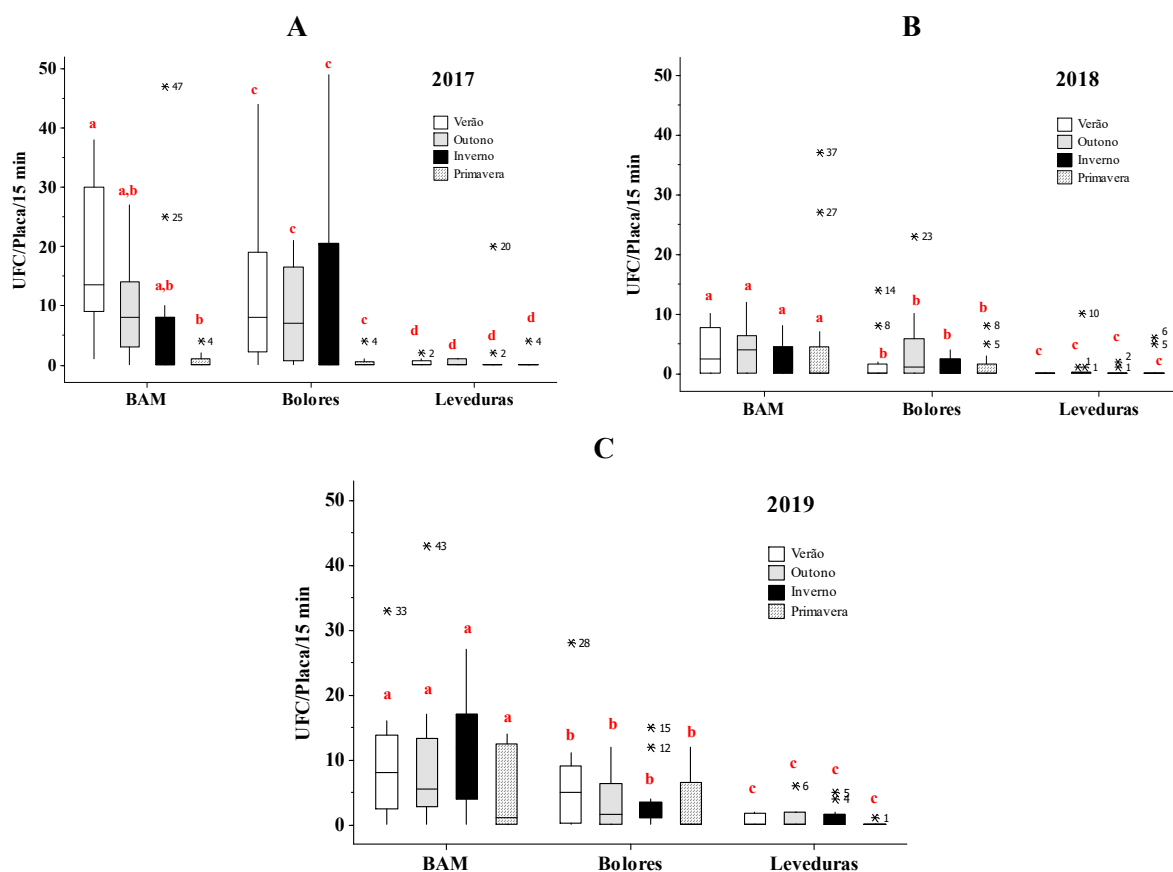
2.4 Análises dos dados

Os dados (sem transformação) obtidos a partir das contagens de UFC de BAM e de bolores e leveduras foram classificados por estação e de forma global por ano, sendo apresentados através de um diagrama de caixas para observar a dispersão dos mesmos e avaliados pelo teste de Tukey para realizar a comparação entre eles. Utilizou-se o software estatístico MINITAB 16[®].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforma mostra a Figura 1, apesar da variabilidade e dispersão dos seus dados, as cargas ambientais de bactérias aeróbias mesófilas na SE durante os anos 2018 e 2019 não foram estatisticamente diferentes entre as estações do ano (verão, outono, inverno e primavera). No entanto, em 2017 ocorreu diferença entre os valores obtidos no verão e na primavera, mas nenhum deles superou o valor de 50 UFC/Placa/15 minutos (Figuras 1A, B e C).

Figura 1 - Cargas microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas (BAM), bolores e leveduras no ar da sala de enchimento, nas 4 estações do ano e durante 3 anos de estudo (2017, 2018 e 2019). Grupos com a mesma letra não diferem significativamente entre si ($\alpha=0.05$) pelo teste de Tukey.



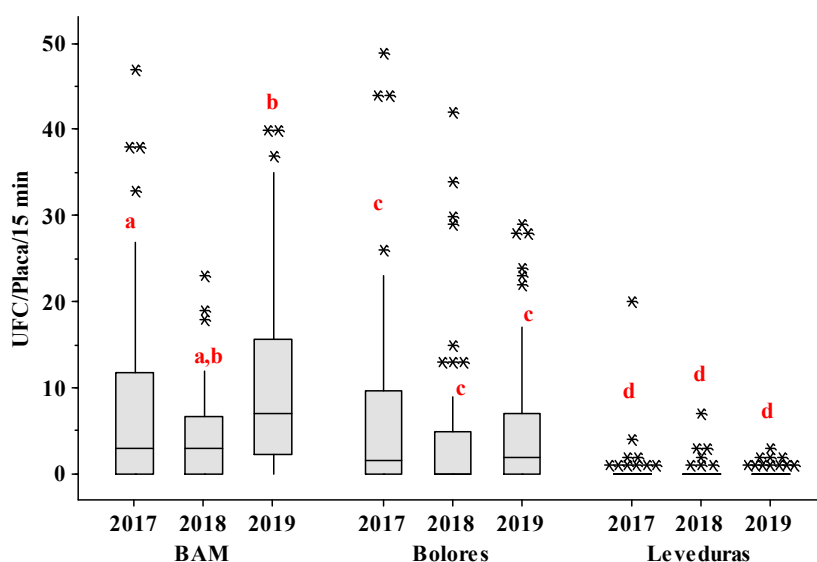
A carga de micro-organismos presente nos ambientes de processo pode estar influenciada pelas estações do ano. Diferentemente de outros processos de fabricação de alimentos que utilizam temperaturas de refrigeração controladas, a produção de polpa de frutas é realizada a temperatura ambiente, com controle da qualidade do ar através de sistemas de filtração e desinfecção. Cada estação do ano tem uma característica particular, principalmente no que se refere a temperatura e umidade relativa. Na região de Lima no Peru (onde encontra-se a “Provincia Constitucional del Callao”) as temperaturas podem superar 29°C durante o verão, enquanto no inverno podem baixar até 16°C, em média. Durante todo o ano em Lima a umidade relativa do ar ultrapassa 85%, valor propício para o crescimento fúngico (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2019).

Não houve diferença significativa entre as 4 estações do ano para contagem de bolores e leveduras no ambiente de processo avaliado durante os 3 anos de estudo. Leveduras foi o grupo de micro-organismo indicador que apresentou menores valores de carga ambiental, perto de zero ou < 1 UFC (Figura 1A, B e C). Essa resposta é relevante, dado que evidencia redução no risco de contaminação e posterior deterioração das polpas de frutas que são elaborados nesta área.

Na Figura 2 estão os valores globais das cargas ambientais de cada grupo de micro-organismo, os quais foram avaliados por ano. Pode-se observar que somente houve diferença entre os valores de

BAM entre os anos 2017 e 2019, ressaltando que nenhum deles foi maior que 50 UFC/Placa/15 minutos. No caso da contagem de bolores, não houve diferença entre os anos avaliados. O comportamento foi similar ao observado para as BAM, não superando também o valor de 50 UFC/Placa/15 minutos. Além disso, os valores foram menores ao relatado para outras indústrias de alimentos (Garcia et al., 2019; Masotti et al., 2019). A carga de leveduras presente no ambiente da SE foi mínima e com menor dispersão em todos os anos, concentrando-se a maioria dos valores perto de zero (< 1 UFC) e nenhum deles superou a carga de 25 UFC/Placa/15 minutos.

Figura 2 - Cargas microbiológicas globais por ano de grupos de micro-organismos indicadores presentes no ar da sala de enchimento de uma planta processadora de polpa de frutas. BAM: Bactérias aeróbias mesófilas. Subgrupos de anos com a mesma letra não diferem significativamente entre si ($\alpha=0.05$) pelo teste de Tukey.



Baseado na avaliação dos dados, se estabeleceu 3 faixas de contagens para cada grupo de micro-organismo indicador, detalhado na Tabela 1. Os limites considerados inseguros foram iguais para bactérias aeróbias mesófilas e para bolores, enquanto que limite menor foi estabelecido para leveduras. Esta classificação pode auxiliar na tomada de decisões a tempo de minimizar possíveis perdas por contaminação microbiológica, principalmente na aplicação de sistemas de sanitização para baixar a carga microbiológica ambiental,

Tabela 1 – Padrões sugeridos para a carga de micro-organismos indicadores presentes no ar da sala de enchimento de uma planta processadora de frutas

Grupo de micro-organismo indicador	Carga microbiológica (UFC/Placa/15 min)		
	Seguro	Precaução	Inseguro
Bactérias aeróbias mesófilas	≤ 35	36 – 50	> 50
Bolores	≤ 25	26 – 50	> 50
Leveduras	≤ 5	6 – 25	> 25



4. CONCLUSÕES

A quantificação da carga ambiental de micro-organismos indicadores própria de uma sala de enchimento de uma indústria processadora de polpa de frutas permitiu estabelecer três faixas de contagens microbiológicas para bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras (seguro, precaução e inseguro). Tais limites microbiológicos poderão ser usados na tomada de decisão dentro desse tipo de indústria visando evitar possíveis problemas de contaminação nas polpas de frutas congeladas através do ar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brown, K. L., & Wray, S. (2014). Control of airborne contamination in food processing. In: Lelieveld, H. L. M., Holah, J. T., & Napper, D. (Ed.). *Hygiene in Food Processing. Principles and Practice* (2. ed.). Cambridge: Woodhead Publishing Limited. p. 174-202.
- Carminati, J. de A., Amorim Neto, D. P., Morishita, K. N., Takano, L. V., Olivier Bernardi, A., Copetti, M. V., & do Nascimento, M. da S. (2016). Microbiological contamination in peanut confectionery processing plants. *Journal of Applied Microbiology*, 121(4), 1071-1078.
- Garcia, M. V., Bregão, A. S., Parussolo, G., Bernardi, A. O., Stefanello, A., & Copetti, M. V. (2019). Incidence of spoilage fungi in the air of bakeries with different hygienic status. *International Journal of Food Microbiology*, 290(2), 254-261.
- Hernández, A., Pérez-Navado, F., Ruiz-Moyano, S., Serradilla, M. J., Villalobos, M. C., Martín, A., & Córdoba, M. G. (2018). Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of food and beverages? *International Journal of Food Microbiology*, 286(2), 98-110.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). (2019). *Perú: Anuario de Estadísticas Ambientales 2019*. Lima: INEI.
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknyte, M., & De Noni, I. (2019). Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air. *Trends in Food Science & Technology*, 90, 147-156.
- Ramos, F. G., & López, B. C. (2018). Propuesta de un criterio microbiológico para pulpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) semi-procesada y congelada. *Ciencia e Investigación*, 21(1), 43-48.
- Reinhard, R. G., Kalinowski, R. M., Bodnaruk, P. W., Eifert, J. D., Boyer, R. R., Duncan, S. E., & Bailey, R. H. (2018). Incidence of *Listeria* spp. in Ready-to-Eat Food Processing Plant Environments Regulated by the U.S. Food Safety and Inspection Service and the U.S. Food and Drug Administration. *Journal of Food Protection*, 81(7), 1063-1067.
- Snyder, A. B., & Worobo, R. W. (2018). Fungal spoilage in food processing. *Journal of Food Protection*, 81(6), 1035-1040.
- Zacharski, K. A., Southern, M., Ryan, A., & Adley, C. C. (2018). Evaluation of environmental monitoring program for the microbial safety of air and surfaces in a dairy plant environment. *Journal of Food Protection*, 81(7), 1108-1116.