



DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO
DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Área de controle de qualidade

Acadêmico: Loiane Mayra Jacó de Souza

Orientador: Prof. Alexander Magalhães Goulart Dornelles

Supervisores: Prof. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Méd. Vet. Hales Antônio de Carvalho

Brasília – DF
Dezembro de 2006



DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO
MEDICINA VETERINÁRIA

ELABORADO POR
LOIANE MAYRA JACÓ DE SOUZA

APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA, ABAIXO ASSINADA

Prof. Alexander Magalhães Goulart Dornelles

Prof. Adriana de Oliveira Santos

Prof. Eliane Maria Molica

Brasília
Dezembro de 2006.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me prover a felicidade de realizar este sonho.

Aos meus pais, Laura e Ivo, por terem sido as peças fundamentais para que eu chegasse aonde cheguei e por sempre acreditarem na minha capacidade.

Aos meus irmãos, Hugo e Júnior, pelo eterno apoio e conforto nas horas mais difíceis.

As minhas cunhadas, Camila e Bruna, por serem mais que irmãs, estando sempre ao meu lado e pelas inúmeras ligações em momentos de solidão.

Aos inúmeros amigos, que Deus colocou em meu caminho durante o estágio final, entre eles, em especial, Regiane, Eliane e Angélica, pelo carinho e amizade tão verdadeiros.

Aos meus eternos amigos de turma, que sabem bem quem são, pelo companheirismo, pelas manhãs e tardes mais descontraídas e pelas horas de estudo cansativas, porém sempre produtivas. Parte desta vitória é de vocês também.

A todos os meus familiares, por nunca duvidarem da realização deste sonho.

As professoras Adriana Silva e Adriana Santos, pela preocupação e auxílio no desenvolvimento deste trabalho, se tornando queridas amigas.

Ao orientador Alexander, por me instruir da melhor forma e confiar na minha capacidade.

E por fim, a todos que influenciaram direta e indiretamente neste momento único da minha vida, através de sorrisos, abraços, carinhos, ensinamentos, amizades verdadeiras que deixei por onde passei e por possibilitarem que me tornasse uma pessoa melhor e mais instruída.

Hoje, festejo uma conquista muito importante, e durante estes cinco anos, cada momento, seja ele de alegria, angústia, persistência, insegurança, estarão eternamente na minha memória. Por isso tenho certeza e plena segurança em dizer: VALEU MUITO A PENA!

SUMÁRIO

1 - Introdução	7
2 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM ALIMENTOS	9
2.1 - Contagem de aeróbios mesófilos viáveis/g ou ml:.....	12
2.2 – NMP e contagem de coliformes a 35°C e 45°C/g ou ml:.....	13
2.3 - Pesquisa de <i>Salmonella sp</i> /25g ou ml:.....	15
2.4 - Contagem de estafilococos coagulase positiva/g ou ml:	16
2.5 - NMP de Streptococcus do grupo D/g ou ml:.....	18
2.6 - Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutor a 46° C/ g ou ml:	18
2.7 - Contagem de <i>Bacillus cereus</i> /g ou ml:	19
2.8 - Contagem de bolores e leveduras/g ou ml:	20
2.9 - Teste de esterilidade comercial:	21
3 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM ALIMENTOS	23
3.1 - Água	23
3.1.1 - Características sensoriais:	24
3.1.2 - Determinação de pH:	24
3.1.3 - Determinação de matéria orgânica:	25
3.1.4 - Dureza total.....	25
3.1.5 - Cloro residual livre	26
3.1.6 - Cloro residual total	27
3.1.7 - Presença de nitrogênio amoniacal	27
3.1.8 - Determinação de sólidos totais	27
3.2 – Leite	28
3.2.1 – Características sensoriais	29
3.2.2 – Acidez	29
3.2.3 - Volumetria	30
3.2.4 - Teor de gordura	30
3.2.5 - Densidade do leite	31
3.2.6 - Presença de fosfatase	32
3.2.7 – Presença de peroxidase.....	32
3.2.8 - Índice crioscópico.....	33
3.2.9 - Extrato seco total	33
3.2.10 - Extrato seco desengordurado	34
3.2.11 - Presença de Água oxigenada	34
3.2.12 - Presença de formol	34
3.2.13 - Presença de cloro	35
3.2.14 - Presença de soro	35
3.3 – Carne	36
3.3.1 - Características sensoriais	37
3.3.2 - Determinação de pH	37
3.3.3 - Pesquisa de gás sulfídrico	38
3.3.4 - Pesquisa de amônia.....	38
3.4 – Mel	39
3.4.1 - Reação de Fiehe.....	40
3.4.2 - Reação de Lund.....	40
3.4.3 - Umidade.....	40
3.4.4 - Prova de fermentos diastásicos	41

3.5 - Outras análises.....	41
3.5.1 - Presença de amido	41
3.5.2 - Pesquisa de nitrito e nitrato.....	42
3.5.3 - Determinação do resíduo mineral fixo:.....	43
4 – CONTROLE E GARANTIA DA QUALIDADE	44
5 – ANÁLISE RESIDUAL DE EFLUENTES INDUSTRIAIS	47
5.1 - Determinação de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Determinação de Oxigênio Dissolvido (OD)	50
5.2 - Determinação de Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	52
5.3 - Determinação de resíduos sólidos sedimentáveis.....	53
5.4 - Determinação de sólidos totais.....	54
5.5 - Determinação de surfactantes aniônicos.....	55
5.6 - Determinação do teor de óleos e graxas	56
6.1 - Teor de umidade	59
6.2 - Acidez.....	59
6.3 - Análise de peróxido	60
7 – CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1 - INTRODUÇÃO

Segurança alimentar e nutricional significa garantir a todos, condições de acesso a alimentos básicos de qualidade, em quantidade suficiente, de modo permanente e sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, com base em práticas alimentares saudáveis, contribuindo assim para uma existência digna, em um contexto de desenvolvimento integral da pessoa humana (MACHADO, 2001).

Face a crescente preocupação dos consumidores com a saúde e com a qualidade dos alimentos, urge que o governo defina uma estratégia de segurança alimentar e estimule produtores e empresários a implantar sistemas de controle de qualidade que permitam fazer o rastreamento do produto alimentar desde a produção até a chegada ao consumidor, isto é, ao longo da cadeia produtiva (MACHADO, 2001).

Com base neste contexto, as empresas têm dado grande importância a pesquisas e desenvolvimento de análises que permitam averiguar e quantificar a qualidade do produto elaborado.

A utilização de planos de garantia da qualidade, como o APPCC (análise de perigos e pontos críticos de controle), que hoje constitui a ferramenta principal para indústrias de alimentos no intuito de rastrear eventuais perigos que possam predispor a qualidade do alimento, juntamente com técnicas analíticas que indicam a qualidade microbiológica e físico-química do alimento formam a parceria ideal para um adequado controle sanitário.

Aliadas a grande ênfase da importância da qualidade dos alimentos, as empresas se estruturam de forma a estabelecer grupos de funcionários que lidam diretamente com o princípio “alimento seguro”, os quais estipulam limites e

padrões além de realizar atividades rotineiras capazes de identificar quaisquer eventuais erros no processamento da indústria que possam acarretar problemas de ordem sanitária.

O controle ambiental dentro da empresa também é um tema cada vez mais discutido em fóruns e conferências, uma vez que nunca se deu tanta importância como nos dias atuais a conservação do meio ambiente. Os efluentes residuais liberados pelas indústrias constituem uma grande porcentagem na contaminação de águas naturais. Portanto amparadas nas leis ambientais, as empresas estabelecem controles rotineiros para um adequado controle dos resíduos liberados no corpo receptor a fim de contribuir para a sua preservação.

Com base nisso, o seguinte trabalho vem abranger as principais técnicas de análises microbiológicas e físico-químicas em alimentos, assim como as técnicas analíticas utilizadas pelas indústrias para adequado controle dos efluentes provenientes das atividades dentro do frigorífico e também os principais métodos analíticos realizados nas farinhas produzidas para alimentação animal a partir de subprodutos oriundos do processamento industrial. Destaca também a importância do controle de qualidade e garantia da qualidade dentro da indústria de alimentos. Os estágios realizados se dividem em:

Pif Paf alimentos – Rio Branco Alimentos, indústria de abate e processamento de suínos, localizada na BR 365, KM 455, Patrocínio- MG. Estágio realizado no período de 17/07/2006 a 06/10/2006, perfazendo um total de 486 horas.

Laboratório de Inspeção de Alimentos de Origem Animal, SOAP, departamento de higiene veterinária e saúde pública da faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Distrito de Rubião Júnior, localizado na cidade de Botucatu – SP. Estágio realizado no período de 09/10/2006 a 01/11/2006, perfazendo um total de 168 horas.

2 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM ALIMENTOS

Hoje em dia é sabida a importância dos microrganismos nos alimentos, quais as formas de contaminação e quais as características que favorecem o seu desenvolvimento.

Todos os alimentos, de origem animal ou vegetal, apresentam-se, desde a origem, contaminados pelos mais diversos tipos de microrganismos, os quais fazem parte de sua microbiota habitual (GERMANO e GERMANO, 2001).

Estes microrganismos podem ser caracterizados como deteriorantes, patogênicos e benéficos ao alimento. Os microrganismos deteriorantes causam diretamente alterações químicas na composição do alimento, levando a modificações nas características organolépticas do mesmo. Essas alterações são conseqüências da atividade metabólica natural dos microrganismos, utilizando o alimento como fonte de energia (FRANCO e LANDGRAF, 2002). Os microrganismos patogênicos são aqueles que de alguma forma podem causar danos à saúde humana e animal. As características das doenças que esses microrganismos causam, depende de uma série de fatores inerentes ao alimento, ao microrganismo patogênico em questão e ao indivíduo a ser afetado (JAY, 2005). Esses microrganismos podem chegar ao alimento de várias formas, sendo imprescindível a higiene na obtenção da matéria-prima, na manipulação, no armazenamento e na distribuição dos alimentos, além da adequada manipulação doméstica do mesmo.

Por fim, ainda há os microrganismos benéficos aos alimentos, os quais modificam suas características originais de forma a transformá-lo em um novo alimento. A este grupo pertencem aqueles microrganismos que são

intencionalmente adicionados aos alimentos para que determinadas reações químicas sejam realizadas (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Dentre as classificações de microrganismos existentes e capazes de serem veiculados por alimentos, existem os microrganismos indicadores que podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação a vida de prateleira ou à segurança, neste último caso, devido a presença de patógenos alimentares (JAY, 2005).

Durante a história da utilização de indicadores de segurança, assumiu-se que os patógenos de interesse eram provenientes de fontes intestinais, resultado de uma contaminação fecal de origem direta ou indireta. Deste modo, indicadores sanitários foram historicamente utilizados para detectar contaminação fecal de águas e a possível presença de patógenos intestinais. O primeiro Indicador fecal foi a *Escherichia coli*. (JAY, 2005).

Há também o grupo dos Enterococos, porém sua utilização como indicadores de contaminação fecal nos alimentos apresenta algumas restrições, pois também são encontrados em ambientes diferentes do trato intestinal. Sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitiram a multiplicação de microrganismos indesejáveis (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

As formas e a intensidade de contaminação dos alimentos por microrganismos, estão intimamente ligadas a vários fatores intrínsecos e extrínsecos, os quais servem como uma forma de barreira.

Os fatores intrínsecos são aqueles inerentes ao alimento, como o pH, umidade, potencial de oxi-redução, quantidade de nutrientes, constituintes microbianos e estruturas biológicas. Os fatores extrínsecos são aqueles relacionados ao ambiente de armazenamento do alimento, tais como temperatura de armazenamento, umidade relativa do meio, presença e concentração de gases, presença e atividade de outros microrganismos. Qualquer alteração nos parâmetros normais e adequados destes fatores favorece o crescimento e multiplicação dos microrganismos (SILVA JR., 1995).

Portanto é de grande importância que a matéria-prima para obtenção dos produtos seja obtida com o máximo de higiene; os manipuladores sejam treinados

na questão das formas de se contaminar um alimento; a manipulação seja feita nos padrões exigidos e o armazenamento seja adequado.

Porém, mesmo atendendo a todos os padrões de higiene, se faz necessário cuidados ainda maiores, tendo em vista o risco que os alimentos podem trazer a saúde. Sendo de grande importância métodos analíticos, tendo como base a microbiologia dos alimentos e as características de todos os microrganismos capazes de causar doenças.

A análise microbiológica de um produto pode ser utilizada para identificar se há contaminação, quais os microrganismos e em que quantidade esses microrganismos estão no produto. Porém nenhum dos métodos utilizados até hoje, podem fornecer a quantidade exata destes microrganismos, sendo sempre obtidas estimativas do grau de contaminação.

Para uma adequada análise, deve-se preparar a amostra, a qual deve ser feita utilizando técnicas assépticas em todas as etapas. Na preparação, utiliza-se uma porção da amostra de 25ml ou 25g juntamente com o diluente, que na maioria dos casos utiliza-se água peptonada tamponada a 0,1%. Este diluente deve estar na quantidade de 225ml. A amostra deve ser corretamente homogeneizada, em homogeneizadores próprios de laboratório, sendo uma etapa importante do processo, uma vez que os microrganismos não estão dispersos na amostra como um todo (BRASIL, 1981).

Os principais métodos utilizados para análises microbiológicas são o de contagem-padrão em placas e o de determinação de número mais provável. Além desses existem vários outros métodos mais específicos para cada microrganismo a ser analisado.

O método de contagem-padrão de microrganismos consiste no plaqueamento de alíquotas do alimento homogeneizado e de suas diluições em meios de cultura sólidos adequadamente selecionados em função dos microrganismos a serem enumerados (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

É um método bastante utilizado para a contagem de diversos microrganismos, variando somente a temperatura de incubação e o tempo.

Este método pode ser feito em superfície e em profundidade. O método de superfície é feito sob o meio de cultura já distribuído na placa de Petri. É bastante útil quando se deseja identificar microrganismos psicotróficos sensíveis ao calor

do alimento, e para revelação das características colônias, principalmente quando serão inoculadas em meios específicos.

O método de contagem-padrão em profundidade é realizado adicionando o meio de cultura previamente fundido e resfriado a 45° C após a transferência de alíquotas da amostra para as placas de petri vazias.

Outra técnica bastante utilizada é a determinação de número mais provável. Consiste na realização de três diluições adequadas, a partir de amostra previamente homogeneizada, onde se transfere alíquotas iguais para 3 a 5 tubos com meios de cultura adequados. Nesta técnica pode-se utilizar ou não o tudo de Durhan, ou tubo coletor de gás, variando de acordo com a análise.

Pelo número de tubos que apresentarem-se positivos, pode-se determinar o número mais provável de microrganismos por grama de amostra.

2.1 - Contagem de aeróbios mesófilos viáveis/g ou ml:

Este tipo de análise é indicada para se verificar a qualidade sanitária do alimento. A contagem elevada de bactérias mesófilas indica que a matéria-prima ou mesmo a manipulação do alimento foi feita de forma insatisfatória.

Em casos onde a contagem é elevada em alimentos não perecíveis, indica que a matéria-prima foi contaminada ou seu processamento foi inadequado. Já em casos de alimentos perecíveis, é indicativo de abuso do binômio Tempo x Temperatura, durante o armazenamento deste produto (ORDOÑEZ, et. al., 2005).

Segundo Franco e Landgraf (2002), todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto, uma alta contagem de mesófilos, que crescem à mesma temperatura que a do corpo humano, significa que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem.

Técnica: Com a amostra previamente preparada, selecionam-se as diluições adequadas de acordo com o tipo de alimento, e inocula-se 1ml de cada diluição em placas de petri, adicionando posteriormente o meio de cultura. Para estes microrganismos utiliza-se o Ágar Padrão para Contagem (ACP) sendo feito o método de inoculação em profundidade. O meio deve ser adicionado à placa de petri, fundido e resfriado a 45° C em banho-maria. Após misturar o inóculo com o

meio, movimentando-se a placa, aguarda-se a sua completa solidificação. Após isso, as placas são invertidas e incubadas a 35° C por 48 horas.

A contagem é feita, observando-se colônias características, pequenas e esbranquiçadas. Para que o resultado seja positivo, é necessário que se conte entre 25 e 250 colônias típicas. O resultado é dado em UFC/ml, devendo ser feito multiplicando-se a quantidade de colônias encontradas pelo inverso da diluição utilizada.

Em casos onde se verifica um número acima de 250 colônias típicas, o resultado é registrado como incontável.

Há uma exceção para análise de água, onde a contagem é feita, segundo a legislação, em placas entre 30 a 300 colônias típicas.

2.2 – NMP e contagem de coliformes a 35°C e 45°C/g ou ml:

O grupo dos coliformes totais é formado por bactérias gram negativas, em forma de bastonetes, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, fermentadores de lactose com produção de gás a 35° C por 48 horas. O grupo é formado por cerca de 20 espécies, originadas tanto do trato gastrintestinal de humanos e animais e também por bactérias não entéricas como *Serratia sp.* e *Aeromonas sp.* Devido a este fato, sua enumeração em água e alimentos não é tão representativa, indicando, porém que houve contaminação após a manipulação, devido à má higienização (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Dentre este grupo, estão inclusos também os coliformes fecais, que são microrganismos capazes de fermentar lactose produzindo gás a 45° C por 48 horas. Três gêneros formam o grupo de coliformes fecais, como *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo os dois últimos de origem não fecal. A análise direta de *Escherichia coli* representa contaminação fecal, embora possa ser oriunda de outras fontes, sendo muito mais importante a análise positiva para este microrganismo.

Estes microrganismos são os mais freqüentes no leite, que predomina nas fezes de animais (BEHMER, 1999).

Para este grupo pode-se usar as duas técnicas, ou seja, a de número mais provável e contagem-padrão em placa.

Técnica: Para contagem de coliformes totais, em método de número mais provável, com a amostra previamente homogeneizada, realiza-se três diluições adequadas, inocula-se 1ml das diluições adequadas para o produto em nove tubos, sendo uma seqüência de 3 tubos para cada diluição. O Ágar utilizado é Lauril Sulfato (CLS). Agita-se os tubos que serão incubados a 45°C por 48 horas. Outros meios podem ser utilizados para esta técnica, como inoculação direta em Caldo biliar verde brilhante (VRB), porém no laboratório do SOAP de análise de alimentos da UNESP - Botucatu se utiliza a técnica em (CLS) primeiramente.

Ao se obter resultado positivo no Ágar Lauril Sulfato (CLS), onde se verifica a turvação do meio e presença de gás no tubo de Durhan, presume-se que haja a presença de microrganismos do grupo dos coliformes, sendo de suma importância uma análise mais detalhada. Procede-se então a inoculação, apenas dos tubos que resultaram positivo, através de palitos estéreis, em Caldo Biliar Verde Brilhante (CBVB) para a identificação de coliformes totais, sendo incubados a 35° C por 48 horas. Em Caldo E. Coli (EC) para identificação de coliformes fecais, realiza-se o mesmo processo, sendo incubado a 45° C por 48 horas em banho-maria. Nos casos onde, no Caldo E. coli for positivo, realiza-se o método de plaqueamento em Ágar Violet Red Bile (VRB), para contagem-padrão, o qual irá selecionar as Bactérias do Grupo *E. coli*, evidenciando que houve contaminação fecal. A partir dos tubos positivos de Caldo E.coli, inocula-se 1mL do tubo em placas de VRB, incubando-se a 45° C por 48 horas. As placas positivas irão apresentar a formação de colônias típicas e atípicas, sendo as típicas de formato alongado e de coloração rosa intenso. O resultado é dado em UFC/ml e em notação científica, onde se multiplica o numero de colônias contadas pelo inverso da diluição.

Na técnica de contagem-padrão, é feita a inoculação da diluição desejada, diretamente no meio VRB, o qual segue os mesmos passos citados anteriormente.

A técnica utilizada para identificação deste grupo de microrganismos varia de acordo com o pedido.

Para as análises feitas apenas por número mais provável, a partir do resultado e quantidade de tubos positivos, chega-se a estimativa de UFC/ml de amostra, através da tabela de Taylor.

2.3 - Pesquisa de *Salmonella sp*/25g ou ml:

O grupo das salmonellas é classificado como o mais complexo das enterobactérias. Compreende bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, produtores gás a partir da glicose, não produtores de esporos. Grande parte é móvel, exceto *S. pullorum* e *S. gallinarum*, que são imóveis. Atualmente, *Salmonella sp.* é um dos microrganismos mais frequentemente envolvidos em casos de surtos de origem alimentar em diversos países, inclusive o Brasil (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

A principal fonte de salmonelas são os animais, e a principal forma de contaminação é através de alimentos, água e leite contaminados por fezes humanas ou de animais.

Ovos, frangos, carne e produtos à base de carne também são ótimos veículos de contaminação por *Salmonella sp.*

O pH ótimo de multiplicação das salmonellas fica em torno de 7,0, e a temperatura ideal para multiplicação está entre 35-37° C.

As salmonellas são capazes de desenvolver diversos tipos clínicos de infecção, desde gastroenterites, que são as mais comuns até a febre tifóide, causada pela *Salmonella typhi*. Os sinais clínicos mais comuns são, diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (FRANCO e LANDRAF, 2002).

Técnica: A técnica utilizada para detecção de *salmonella sp.* é muito complexa, uma vez que geralmente estão presentes em número bem reduzido em relação as demais bactérias competidoras. Por isso são necessárias várias etapas para o adequado cultivo. Essas etapas são classificadas como: pré-enriquecimento em caldo não seletivo; enriquecimento em caldo seletivo; plaqueamento; e confirmação.

Primeiramente, prepara-se a amostra com 25g do alimento juntamente com 225ml de água peptonada tamponada a 1%, após passar ao homogeneizador, deve ser incubada a 35°C por 24 horas em estufa. Para carne de aves, geralmente o meio de enriquecimento utilizado é o caldo lactosado.

Após as 24 horas, realiza-se a inoculação da amostra pré-enriquecida em tubos com os caldos Rappaport Vaniliads (RV) e Tetrathionato (TT). Em caldo RV é inoculado apenas 0,1ml da amostra, já no caldo TT é inoculado 1ml da amostra.

Ambos os caldos são incubados a 42-45°C por 24 horas, caracterizando a etapa de enriquecimento seletivo. Transcorrida as 24 horas, é feita semeadura em placas, utilizando alça flambada, sendo transferida uma porção do meio cultivado para os meios Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Bismudo Sulfito (BS), os quais são incubados a 35°C por 24 horas. Esta etapa é feita para se confirmar se houve desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* sp. O crescimento das colônias acontece dentro do meio, de forma profunda. No meio XLD, as colônias típicas apresentam-se enegrecidas com uma cápsula externa incolor. No meio BS, podem se apresentam enegrecidas, metálicas, ou ainda verde intenso. As colônias típicas identificadas, são semeadas em outros dois meios afim de obter a confirmação de que são realmente colônias típicas de *Salmonella*. Os meios utilizados são Lysine Iron Agar (LIA) e Agar tríplice Açúcar Ferro (TSI) em tubos. A *Salmonella* sp. produz H₂S e utiliza o açúcar do meio, reagindo com o meio TSI, alterando a coloração avermelhada do meio para uma coloração amarelada, com algumas partes apresentando coloração enegrecida. A partir das colônias formadas no meio TSI, realizam-se testes bioquímicos para evidenciar as propriedades fisiológicas e metabólicas das culturas, e os testes sorológicos, que se baseia na reação antígeno-anticorpo, com conseqüente aglutinação do antígeno.

Hábitos alimentares influenciam diretamente na incidência de salmoneloses, sendo de suma importância o preparo adequado dos alimentos e cuidados na manipulação (FORSYTHE, 2002).

2.4 - Contagem de estafilococos coagulase positiva/g ou ml:

O gênero *Staphylococcus* é formado por mais de 30 espécies, são cocos gram-positivos, mesófilas, temperatura de crescimento variando entre 7 a 47,8° C, pH ótimo entre 6 e 7, anaeróbios facultativos, desenvolvendo-se melhor em aerobiose, quando produzem enterotoxinas. Entre as 30 espécies, 6 produzem nuclease termoestável e são coagulase positiva. A principal espécie relacionada a intoxicações alimentares é *Staphylococcus aureus*.

Os surtos de intoxicação são ocasionados quando alimentos permanecem por tempo variado em temperaturas favoráveis ao desenvolvimento da bactéria,

facilitando a produção das enterotoxinas, entre 10 e 46°C. É o único gênero capaz de se desenvolver em Atividade Água consideradas mínimas para bactérias não-halófilas. Os principais sintomas causados são náusea, vômitos, dores abdominais, sudorese, diarreia (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Os principais reservatórios do *S. aureus* são os homens e os animais, sendo que grande parte se encontra na cavidade nasal. Derivados do leite e carnes são os principais meios de intoxicação (MARQUES, 2006).

Técnica: A partir da amostra previamente homogeneizada, realiza-se as diluições desejadas de acordo com o tipo de alimento, retira-se uma alíquota de 0,1ml da diluição escolhida e inocula-se no meio específico Baird-Parker (BP), que contém em sua composição telurito de potássio, que confere a coloração enegrecida as colônias. Após a inoculação, com o auxílio de bastão em “L” espalha-se o inóculo por todo o meio, e em seguida incuba-se a 35°C por 48 horas. Transcorrido o tempo, verifica-se o crescimento de colônias típicas e atípicas. As colônias típicas se caracterizam por serem enegrecidas, com um halo branco ao redor e outro transparente mais externamente. As colônias atípicas apresentam-se apenas enegrecidas sem formação de halos ao seu redor. Em casos onde há formação de colônias típicas, transfere-se, com o auxílio de alça flambada, partes da colônia para o meio Brain Heart Infusion (BHI) em tubo, utilizado para o enriquecimento do microrganismo. Incuba-se a 35°C por 24 horas, se houver turvação do meio, é indicativo que houve multiplicação do *S. aureus*. Por fim, passa-se para o meio utilizado para teste de coagulase, transferindo-se 0,5ml da amostra para o tubo que é constituído por 0,3ml de plasma de coelho. O meio é incubado a 35° C por 24 horas, e deve resultar em sua total coagulação, confirmando então positividade para *S. aureus*.

Muitos alimentos têm sido envolvidos na intoxicação estafilocócica; geralmente são produtos manipulados e inadequadamente refrigerados após o preparo. Alimentos susceptíveis não devem ser mantidos dentro da faixa de temperatura de crescimento do estafilococos por mais de 3 a 4 horas (JAY, 2005).

2.5 - NMP de *Streptococcus* do grupo D/g ou ml:

Atualmente uma nova classificação foi empregada ao grupo dos Estreptococos, devido a suas características antigênicas. Foi estabelecido o critério para os Estreptococos de origem fecal, por servirem como microrganismos indicadores, sendo reclassificados como *Enterococcus*. Os *Streptococcus* são classificados como cocos gram-positivos, aeróbios facultativos e fermentadores de glicose, produzindo ácido láctico. Esta característica faz com que sejam importantes nos alimentos, pois podem ser responsáveis por reações indesejáveis. Estão amplamente distribuídos na natureza e geralmente não são patogênicos. Varias espécies foram recentemente reclassificadas, pertencendo além do gênero *Enterococcus*, aos gêneros *Lactococcus* e *Vagococcus* (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Técnica: Utilizando-se a amostra previamente homogeneizada, realiza-se as diluições desejadas, e inocula-se 1ml de cada diluição em 3 tubos de Caldo Glicosil Azida (CGA), incubando-o a 35°C por 48 horas. O meio se apresentará turvado para os positivos. Estes são repassados, com o auxílio de palitos estéreis para o meio Etil Violeta Azida (EVA) em tubos, que possui coloração violeta, seguindo novamente para estufa a 35° C por 48 horas. Aqueles tubos, que após a incubação apresentarem-se descorados, ou seja, com coloração amarelada, coleta-se uma porção do meio com o auxílio de alça flambada, para os meios Brain Heart infusion (BHI) e Brain Heart Infusion sal (BHI sal). O meio BHI é incubado em banho-maria a 45°C por 48 horas. O meio BHI sal é incubado em estufa a 35° C por 48 horas. Para resultado efetivamente positivo, ambos os tubos devem se apresentar turvados.

2.6 - Contagem de *Clostridium* Sulfito Redutor a 46° C/ g ou ml:

Este grupo é caracterizado como bacilos gram-positivos, anaeróbios, catalase positivos, e estão presentes no trato gastrointestinal de animais e humanos e amplamente no solo. Dentre as espécies de maior importância estão *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, que são veiculadas por

alimentos. Produzem esporos, sendo possível resistirem mais tempo nos alimentos.

Clostridium botulinum causa intoxicação a partir de toxinas pré-formadas nos alimentos. Possuem ação neurotóxica, sendo indiscutível a sua total ausência em alimentos e água para consumo humano.

Clostridium perfringens causa dois tipos de toxinfecção, sendo uma na forma clássica e a outra na forma de enterite necrosante. É comum, que toxinfecções por *Clostridium perfringens*, quando ocorrem, acometam grande número de indivíduos, sendo que este fato está diretamente ligado a alimentos preparados e que são consumidos muitas horas após e mantidos em temperatura de 41 a 45° C, que é a adequada para o desenvolvimento deste microrganismo. Geralmente os alimentos mais comuns ligados a surtos de Clostridioses são aqueles a base de carne, preparados em um dia e consumidos no dia seguinte (FRANCO e LANDRAF, 2002).

Técnica: Utiliza-se a técnica de plaqueamento em profundidade, onde se realizam as diluições adequadas a partir da amostra previamente homogeneizada, retirando-se 1ml das diluições escolhidas e passa-se para as placas de Petri estéreis, adicionando-se posteriormente o meio Ágar triptose Sulfito Cicloserina (TSC) previamente fundido e resfriado a 45°C. Após são incubados a 45°C por 48 horas em jarra de anaerobiose. As placas positivas apresentarão colônias enegrecidas.

2.7 - Contagem de *Bacillus cereus*/g ou ml:

As bactérias deste gênero caracterizam-se por uma intensa atividade metabólica, já que produzem enzimas que degradam muitos substratos orgânicos. Devido a essa característica, a identificação deste microrganismo é bastante complicada, não havendo um consenso geral sobre a melhor forma de fazê-la (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

São bastonetes gram-positivos, aeróbios facultativos e formadores de esporos, que podem resistir facilmente a muitos processos de cocção. Geralmente são encontrados em baixos níveis nos alimentos, porém abusos de tempo-temperatura favorecem a multiplicação em níveis propícios para causar

toxinfecções. São geralmente encontrados no solo e na água. São produtores de toxinas que são responsáveis por gastroenterites. Essas gastroenterites podem ser na forma diarréica ou emética. Estão presentes principalmente em alimentos *in natura*, processados e frescos, além de cereais em geral (JAY, 2005).

A temperatura de crescimento varia de 4 a 50° C e pH ótimo entre 4,9 e 9,3.

Os meios mais utilizados para cultivar o *B.cereus*, são Agar Manitol Gema de Ovo (MYP) e Agar Cereus (PEMBA). Em ambos os meios é adicionada gema de ovo, que atua como agente diferencial.

Em ambos os meios contêm manitol, carboidrato não fermentado pelo *B.cereus*, funcionando também como indicativo. Pode-se usar ainda Polimixina B, que atua como agente seletivo sobre a flora competidora.

Técnica: Realiza-se as diluições desejadas a partir da amostra previamente homogeneizada, e semeia-se 0,1ml da diluição em placas contendo o meio de eleição, com a ajuda de bastão em "L". Em seguida incuba-se a 35° C por 48 horas. Após o prazo, realiza-se a leitura. Em Ágar PEMBA, as colônias crescem em tom azul turquesa, semelhante a cultura de bolor. Já em Ágar MYP, seleciona-se placas entre 10 a 100 colônias, não ultrapassando 30 colônias típicas de *B.cereus*, onde se observa entre colônias largas, bem definidas, de coloração avermelhada e rodeadas por um halo de precipitação, devido a reação com gema de ovo.

Para confirmação de *B.cereus*, pode-se realizar ainda testes bioquímicos, visando identificar se a colônia realmente pertence ao grupo dos *B. cereus*.

2.8 - Contagem de bolores e leveduras/g ou ml:

Os fungos são indesejáveis nos alimentos porque são capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os alimentos, provocam a sua deterioração. Além disso, muitos fungos podem produzir metabólitos tóxicos quando estão se multiplicando nos alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Esses metabólitos, chamados de micotoxinas, quando são ingeridos com os alimentos, provocam intoxicações tanto no homem quanto nos animais.

Estão dispostos amplamente na natureza, e em ambientes que geralmente não são muito propícios para bactérias.

Utiliza-se o método de plaqueamento em profundidade. O meio mais utilizado é o Agar Batata Dextrose (PDA).

Técnica: Inocula-se 1ml da amostra em placa estéril, e acrescenta-se o meio previamente fundido e resfriado a 45°C. Movimenta-se a placa para misturar o meio com a amostra. Após a solidificação do meio, a placa é incubada a 25°C por 3-5 dias, variando de acordo com o momento em que se já observa o crescimento das colônias, evitando o espalhamento das mesmas.

As colônias são características, com formação de colônias evidenciando bem crescimento fúngico.

2.9 - Teste de esterilidade comercial:

É utilizado para análise de alimentos enlatados em geral, como também para novos produtos a serem lançados no mercado. Seu objetivo é verificar a adequação do processo de esterilização, em função do crescimento de possíveis microrganismos (SILVA et. al., 1995).

A esterilidade comercial para alimentos processados termicamente é baseada na aplicação de calor suficiente para eliminar qualquer microrganismo capaz de se multiplicar no produto, até que o mesmo seja consumido. Além disso, se baseia na aplicação de calor concomitante com a redução do pH e Aa, impedindo também a multiplicação de microrganismos.

Um alimento comercialmente estéril pode conter microrganismos sobreviventes, desde que sua multiplicação seja impedida por outros fatores de prevenção, particularmente a estocagem em temperaturas não superiores a 40° C, a redução do pH ou a redução da atividade de água (SILVA et. al., 1995).

Entre os microrganismos considerados aceitáveis em alimentos comercialmente estéreis, estão bactérias termófilas estritas que não se desenvolvem em temperaturas ambientes e esporos de bactérias termófilas e mesófilas.

Técnica: Incubar o alimento em seu próprio recipiente, enlatado, sobre um papel toalha, por cinco dias a 35-36°C. Após este tempo, verifica-se se houve

produção de gás, causando o estufamento do enlatado, ou microfugas formadas na lata, observando-se se há manchas na toalha de papel. Em casos onde estas alterações ocorrem, deve-se proceder a análise de aeróbios e anaeróbios, mesófilos ou termófilos.

Para realizar a análise, deve-se abrir a lata assepticamente, com abridor previamente esterilizado, e retirar alíquotas do conteúdo para os meios indicados. Os meios mais usados são Caldo de carne cozida (Caldo Tarozzi) e Caldo Glicose Triptona. Nos tubos contendo caldo de carne moída deve-se adicionar uma cobertura de vaselina ou parafina estéril, previamente fundida. São utilizados 4 tubos de cada meio, sendo que 2 de cada são incubados a 36° C e dois a 55° C por 5 dias.

Nos tubos de Caldo de carne cozida, identifica-se turvação do meio e produção de gás, podendo ocorrer também alteração na coloração da carne, indicando que houve crescimento bacteriano. No caldo Glicose Triptona, os positivos apresentam-se com turvação do meio e formação de película na superfície.

3 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM ALIMENTOS

3.1 - Água

A água para consumo humano é aquela cujos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e radioativos atendem aos padrões de potabilidade e não oferecem risco à saúde da população (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A água é considerada solvente universal, sendo formada pela união de cerca de 30 componentes. É de suma importância para a manutenção fisiológica dos seres vivos, por este motivo, quando não tratada, pode ser veículo de transmissão de várias doenças. Contém inúmeras impurezas, entre as quais estão vírus, bactérias, parasitos, substâncias tóxicas e elementos radioativos.

Segundo a organização mundial de saúde, cerca de 80% de todas as doenças que afetam os Países em desenvolvimento provêm de água de má qualidade.

Os microrganismos mais comuns encontrados na água são Coliformes e enterocócos, indicativos de contaminação fecal; *Salmonella* sp.; *Pseudomonas* sp.; *Streptococcus* sp.; verminoses como *Giardia lamblia*; vírus da hepatite; vibrião da cólera (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

A água pura é caracterizada como incolor, inodora, insípida e transparente. E suas alterações são caracterizadas principalmente pela forma que foi adquirida, o local onde foi adquirida, e pelo tratamento realizado para torná-la própria para o consumo.

A rotina para análises da água, realizadas no laboratório, normalmente é:

Água tratada: sensorial, pH, dureza, cloro residual livre, nitrogênio amoniacal, sólidos totais.

Água bruta: sensorial, pH, matéria orgânica, dureza, nitrogênio amoniacal.

3.1.1 - Características sensoriais:

Cor: incolor

Aspecto: límpida

Odor: inodora

As características sensoriais podem ser alteradas em águas que apresentarem suspensão de substâncias, podendo ser causadas pela presença de argila, efluentes domésticos ou qualquer outro material esgotado nessas águas.

A presença de sólidos totais em quantidade acima do normal pode levar a alterações no sabor da água.

3.1.2 - Determinação de pH:

O termo pH é universal e utilizado para indicar a intensidade de uma condição ácida ou alcalina de uma solução.

Técnica: é feita primeiramente a partir da calibração do pHmetro, com as soluções tampão padrão de pH 7,0 e pH 4,0, realizando ajustes se necessário. A mensuração é realizada colocando-se cerca de 70ml da amostra de água previamente homogeneizada em béquer de 100ml, e colocando-se o eletrodo em contato com a água, sem que este encoste no fundo do béquer. Aguarda-se cerca de 5 minutos para a completa estabilização da medição e procede-se a leitura. O pH da água varia em torno da neutralidade, entre 6 e 8,5. Quanto mais distante da neutralidade o pH se apresentar, indica presença de íons metálicos, os quais conferem a dureza da mesma.

O tempo para a completa estabilização do aparelho, no caso da água, pode variar, uma vez que há grande quantidade de íons H⁺ presentes na solução.

Águas com pH muito ácido, podem causar problemas de origem estomacal.

Os sistemas de abastecimento de água, mantêm a água em pH variando entre 6,5 e 9,5.

3.1.3 - Determinação de matéria orgânica:

É realizada em águas não tratadas, sendo chamada também determinação de oxigênio consumido por matéria redutora de permanganato. Essa técnica baseia-se na oxidação da matéria orgânica através do oxigênio liberado pelo permanganato de potássio, quando aquecido em meio ácido.

Técnica: Realizada em duplicata. Transfere-se 100ml da amostra previamente homogeneizada em um erlenmeyer de 250ml e adiciona-se 10ml de ácido sulfúrico 25%, isento de matéria orgânica. Após aquece-se em bico de Bunsen, até o início da fervura e adiciona-se, por meio de bureta, 10ml de permanganato de potássio 0,0125N continuando o aquecimento 10 minutos, sempre mantendo leve fervura. Após os 10 minutos, retira-se do fogo e adiciona-se 10ml de ácido oxálico 0,0125N. Neste ponto, verifica-se a coloração adotada. Se a coloração permanecer rósea, devido ao permanganato de potássio, indica a ausência de matéria orgânica, se a coloração se alterar de rósea para incolor, indica que há presença de matéria orgânica na amostra analisada. A partir daí realiza-se novamente a adição de permanganato de potássio, até que a amostra volte a ficar com coloração rósea novamente.

Cálculo: é feito a partir da multiplicação entre o volume gasto de permanganato de potássio e o fator de correção da solução de ácido oxálico.

O valor máximo permitido é de 2mg de oxigênio consumido/L (BRASIL, 1981).

3.1.4 - Dureza total

Característica conferida a água devido à presença de íons metálicos dissolvidos, principalmente cálcio e magnésio.

A presença em grandes quantidades desses íons na água pode levar a incrustações, servindo para a manutenção de matéria orgânica, dificultando a ação de desinfetantes. Além disso, impede a formação de espuma, além de dificultar a higienização de utensílios e equipamentos principalmente em indústrias.

Técnica: Transfere-se 100ml da amostra, com o uso de pipeta volumétrica, previamente homogeneizada para um erlenmeyer de 250ml e adiciona-se 2ml da

solução tampão para dureza juntamente com 0,05g de Negro de Eriocromo T, o qual servirá como indicador. Homogeneiza-se a amostra e titula-se imediatamente com EDTA, 0.01M, até a total modificação da coloração roxa para azul .

Cálculo: $1000 \times \text{volume gasto de EDTA} \times \text{fator de correção da solução de EDTA} / \text{volume da amostra}$.

3.1.5 - Cloro residual livre

O cloro é o agente químico mais usado atualmente na desinfecção de água, tendo uma ação satisfatória na redução de vários agentes contaminantes. Após o tratamento adequado da água, com níveis de cloro aceitos, restam resíduos livres deste composto, que não sofreram reação química para ácido clorídrico.

Técnica: Feita em duplicata. Transfere-se 100ml da amostra previamente homogeneizada, com o uso de pipeta volumétrica, para 2 provetas de 100ml. Em uma terceira proveta deve ser completada também com 100ml de água destilada a qual será utilizada para calibrar o aparelho, sendo chamado de tubo branco. Adiciona-se 5ml da solução de Ortotolidina, substância carcinogênica e teratogênica, em todos os tubos, que ao reagir com o cloro, é oxidada e produz coloração amarelada. Homogeniza-se e faz-se a leitura imediatamente em espectrofotômetro a 465nm.

O espectrofotômetro é um aparelho utilizado com a finalidade de medir a quantidade de feixes capazes de serem transmitidos através da amostra analisada. A qual se denomina absorvância.

Deve-se calibrar o espectrofotômetro com o tubo branco e logo após, realizar a leitura da amostra. A análise não deve passar de 5 minutos, uma vez que a água possui muita instabilidade e também devido a reação rápida da Ortotolidina com o cloro.

Através do valor obtido, realiza-se o cálculo final da quantidade de cloro residual.

Segundo a legislação, o valor de cloro residual livre não pode ser superior a 1mg/L (BRASIL, 1980).

Cálculo:

CRL: $3,6470 \times (A + 0.0027)$

Onde:

A = valor obtido de absorvância da amostra.

O resultado é dado em mg/L ou em ppm.

3.1.6 - Cloro residual total

Esta técnica é feita 5 minutos após a análise de cloro residual livre, utilizando-se o mesmo procedimento, porém não é muito utilizada na rotina de laboratórios, sendo realizada somente quando solicitada.

3.1.7 - Presença de nitrogênio amoniacal

O nitrogênio amoniacal presente na água pode ser um produto da atividade microbiológica, degradação de tecidos, ou pode ser adicionado no tratamento de água para formar residual combinado de cloro. Esta determinação pode indicar se houve contaminação por esgotos ou poluição industrial (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Técnica: transfere-se com auxílio de pipeta volumétrica 100ml da amostra previamente homogeneizada para uma proveta de 100ml. Adiciona-se 2ml de tartarato duplo de sódio e potássio e 4ml do reativo de Nessler. Tampa-se a proveta e homogeniza-se bem.

Resultado: coloração amarelo intenso indica resultado positivo; branco ou ligeiramente amarelado indica resultado negativo.

3.1.8 - Determinação de sólidos totais

Esta técnica é utilizada para verificar a presença de resíduos sólidos presentes na água. Pode ser em outros produtos chamada de determinação de umidade. É obtida a partir da total evaporação e secagem da amostra.

Técnica: Pesa-se o cadinho utilizado para colocar a amostra. Anota-se o peso. Adiciona-se 5ml de água, no próprio Cadinho a ser utilizado a partir da

balança tarada. Leva-se a estufa por 3 a 4 horas com temperatura de 110° C. Passado o tempo, retira-se o Cadinho da estufa, e pesa-se, obtendo-se o a quantidade em mg/L de sólidos totais.

3.2 – Leite

Segundo o RIISPOA (Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal), entende-se como leite, fresco ou integral, o produto normal oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias.

O leite é uma emulsão de glóbulos graxos, estabilizada por substâncias albuminóides num soro que contém em solução: um açúcar, a lactose, matérias protéicas, sais minerais e orgânicos e pequena quantidade de vários produtos, tais como: lecitina, uréia, aminoácidos, ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, álcool, lactocromo, vitaminas e enzimas (BEHMER, 1999).

Sua composição pode variar muito, dependendo intimamente de fatores como, espécie animal, raça, estágio de lactação, idade e número de parições, status sanitário, alimentação (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

O leite é considerado o mais completo alimento, possuindo elevado valor biológico na alimentação humana, particularmente nos primeiros estágios de vida, quando se constitui em alimento exclusivo (GERMANO e GERMANO 2001).

A conservação do leite, e o período no qual ele ainda está viável para ser consumido, pode ser alterado de acordo com a taxa de microrganismos existentes antes, durante e após o processamento do mesmo. Além disso, é fortemente influenciada pela forma de pasteurização utilizada. Enzimas proteolíticas, na maioria das vezes termoestáveis, podem permanecer no leite após a pasteurização inadequada, conferindo alterações principalmente no sabor do leite. O tempo transcorrido entre a ordenha até a chegada a plataforma de recebimento, a armazenagem do produto sob refrigeração ou não, também influenciam diretamente na qualidade do produto final (ORDOÑEZ et. al., 2005; FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Do ponto de vista da saúde pública, o leite pode servir como veiculador de microrganismos patogênicos e também como alvo de fraudes durante seu processamento. A avaliação da qualidade do leite *in natura*, mediante provas

físico-químicas, complementadas por exames microbiológicos, possibilitam a identificação dos produtores com problemas zootécnicos e até mesmo os inidôneos (GERMANO e GERMANO, 2001).

É expressamente proibido o acréscimo de qualquer substância que tenha a finalidade de prolongar o período de vida útil do leite (FAGUNDES, 1997). Porém, o leite pode ainda sofrer processos de fraude, através da adição de compostos químicos. A falsificação é o delito resultante da desnaturação de um produto visando lucro ilícito dele, isto é, lesar e enganar, seja por adição de uma matéria qualquer, que não exista no produto, seja pela subtração de um de seus elementos, em condições tais que o mesmo não corresponda ao produto normal (BEHMER, 1999)

Dentre as fraudes mais corriqueiras, estão a adição de formol, água oxigenada, cloro e soro.

As análises físico-químicas mais comuns para o leite são: análise sensorial, acidez, volumetria, gordura, densidade, fosfatase, peroxidase, crioscopia, EST (matéria seca total), ESD (matéria seca desengordurada), fraudes por adição de água oxigenada, formol, cloro e soro.

3.2.1 – Características sensoriais

Dentre as características sensoriais realizadas no leite, deve constar aparência com coloração normal, sem a presença de sangue ou pus, e sem formação de grumos, indicativos de reações inflamatórias. Apresentar “flavor” característico, não sendo ácido, pútrido ou de origem química (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985)

3.2.2 – Acidez

A determinação da acidez do leite nos indica diretamente seu estado de conservação, uma vez que quando em temperaturas favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos mesófilos, estes se multiplicam, realizando o desdobramento da lactose em ácido láctico, o que faz a acidez do leite se elevar.

É um dos testes mais utilizados para avaliar o grau de qualidade do leite, tendo em vista julgar o seu estado de conservação, além de ser utilizado para controlar processos de maturação do creme destinado ao processamento de manteiga e regular as diferentes etapas do processamento tecnológico de queijos (FAGUNDES, 1997).

A acidez do leite pode sofrer variações devido a fatores como raça, individualidade, período de lactação, porcentagem de extrato seco e adição de água e neutralizantes (FAGUNDES, 1997).

O grau de acidez é determinado em graus Dornic, e é medido através de titulação da quantidade de solução Dornic utilizada até a viragem do leite para uma discreta coloração rósea.

Técnica: transfere-se por meio de pipeta volumétrica 10ml da amostra para um béquer de 100ml e adiciona-se 3 a 5 gotas de fenolftaleína a 1%, que terá a função de indicar o momento da viragem. A seguir, titula-se com solução Dornic (hidróxido de sódio) até adquirir a coloração levemente rósea.

O grau de acidez do leite é diretamente associado com a quantidade de solução de Dornic utilizada, sendo que para cada mL gasto de solução, calcula-se 1º D de acidez.

O leite deve apresentar acidez entre 15 a 20º D (BRASIL, 2002).

3.2.3 - Volumetria

Este teste tem a função de verificar a exatidão da quantidade do produto expressa na embalagem.

Técnica: Utilizando um Béquer graduado, despeja-se todo o volume de leite da embalagem e verifica-se se há realmente a quantidade especificada na embalagem.

3.2.4 - Teor de gordura

Este teste é utilizado com finalidade de determinar a integridade do leite, além de permitir a sua padronização conforme o seu destino industrial (FAGUNDES, 1997).

Realizado para graduar o teor de gordura da solução, através da adição de ácido sulfúrico e ácido isoamílico, utilizando Butirômetro de Gerber, o qual irá digerir todos os outros componentes do leite, restando apenas a gordura.

Utiliza-se 10ml de ácido sulfúrico com densidade 1,820 a 1,825, cuidadosamente adicionado em butirômetro e em seguida, 11ml do leite previamente homogeneizado, deixando o líquido escorrer lentamente pelas paredes do butirômetro, de forma a evitar o impacto com a superfície do ácido. Adiciona-se, então, 1ml de álcool isoamílico. Fecha-se com rolha apropriada e agita-se de modo que os três líquidos se misturem, sempre amparado por equipamentos de proteção, uma vez que a reação provoca produção de calor. Em seguida, centrifuga-se durante 5 minutos em centrifuga de Gerber a 1000 – 1200rpm. Após este passo, retira-se o butirômetro cuidadosamente, com a boca para baixo, afim de que toda a parte gordurosa se localize na porção graduada, facilitando sua interpretação. A graduação estabelecida representa a quantidade de gordura presente no leite.

O teor mínimo de gordura no leite deve ser de 3,0% (BRASIL, 2002).

3.2.5 - Densidade do leite

Para esta prova utiliza-se o termolactodensímetro, utilizando-se amostra a uma temperatura de 15°C.

A densidade pode sofrer alterações por causas normais como temperatura, tempo decorrido após a ordenha, composição do leite e fraudes (FAGUNDES, 1997).

Técnica: transfere-se para uma proveta de 100ml uma quantidade adequada de leite. Introduce-se lentamente o termolactodensímetro, evitando que o mesmo encoste nas paredes da proveta. Realiza-se a leitura do aparelho, observando a altura do nível de leite na proveta, assim como a temperatura indicada no termômetro.

Resultado: Caso a amostra tenha resultado em uma temperatura acima de 15° C, para cada grau acima do estabelecido, acrescenta-se 0.0002 no valor da densidade obtido. Para cada grau abaixo do estabelecido, diminui-se 0.0002 do valor de densidade obtido.

A densidade do leite a 15° C deve variar entre 1,028 a 1,035 (BRASIL, 2002). Os valores da densidade podem ser fortemente alterados quando ocorrem fraudes por adição de outros elementos no leite.

3.2.6 - Presença de fosfatase

Fosfatase é uma enzima termo sensível presente no leite cru. A sua destruição pelo calor está em relação à temperatura e ao tempo de aquecimento. Quando o leite é aquecido em temperatura e em tempo ótimos para obtenção de uma efetiva pasteurização, observa-se que a fosfatase é totalmente destruída (BEHMER, 1999).

Por este motivo, a prova de fosfatase é utilizada para verificar se houve uma adequada pasteurização, e conseqüente controle microbiológico.

Técnica: adiciona-se 1 gota de leite em tubo de ensaio contendo o reagente utilizado para prova de fosfatase (a base de fósforo e molibdato), homogeneiza-se e leva-se a estufa a 35° C por 35 minutos realizando-se a leitura posteriormente.

Resultado: Em resultado positivo, a amostra apresenta coloração amarelo-intenso. Em resultado negativo a amostra apresenta coloração amarelo-palha.

3.2.7 – Presença de peroxidase

A peroxidase é uma enzima presente no leite, que possui a propriedade de desdobrar o peróxido de hidrogênio liberando oxigênio, o qual reage com o guaiacol, corando-o na cor salmão (BRASIL, 1981).

Esta enzima é destruída quando o leite é aquecido a 70 ou 80° C. Os processos de pasteurização, quando bem executados, apresentam sempre a reação de peroxidase positiva (BEHMER, 1999).

Técnica: A partir de um tubo de ensaio contendo 10ml do leite previamente homogeneizado, leva-se ao banho-maria por 3 a 5 minutos a 45°C para a devida ativação da enzima. Após adiciona-se 2ml da solução de guaiacol a 1%. Agita-se bem e adiciona-se 0,5ml de água oxigenada. A reação irá ocorrer e demonstrar a formação de um anel de coloração salmão, o qual indica a efetiva presença da peroxidase, ou seja, resultado positivo.

3.2.8 - Índice crioscópico

Este teste tem como função medir o ponto de congelamento de soluções, em comparação com solventes puros. Assim, o crioscópio tem por fim descobrir a adição de água ao leite, baseado na diferença entre o grau de congelamento do leite e o da água.

O índice crioscópico de leite varia entre -0,530 a -0.570° H. Fraudes por adição de água são logo detectadas devido à aproximação do zero após a análise (ponto de congelamento da água).

Técnica: Como passo inicial deve-se calibrar o aparelho com soluções-padrão, que apresentam ponto de congelamento em -0,422 e -0,621° H. respectivamente. Em um tubo adequado para o aparelho, adiciona-se 2,5ml de leite, procedendo a leitura.

Caso o resultado da análise seja inferior a -0.570° H pode-se suspeitar de fraudes por adição de sais, e em casos onde o resultado seja superior a -0,530° H suspeita-se diretamente da adição de água ao produto.

3.2.9 - Extrato seco total

Denomina-se como extrato seco, o conjunto de todos os componentes do leite, com exceção da água. A percentagem de matéria seca é indispensável para se julgar a integridade do leite (BEHMER, 1999).

Para sua determinação, é utilizado o disco de Ackermann, baseando-se nos resultados obtidos de densidade e teor de gordura.

Admite-se em um leite normal um mínimo de 11,5% de matéria seca (BEHMER, 1999).

Técnica: No disco de Ackermann, deve-se girar de forma que as setas indicativas estejam pontuadas exatamente na densidade e teor de gordura correspondentes do leite a ser analisado. Através daí, observa-se o lado oposto do disco, que indicará o resultado de matéria seca da amostra.

3.2.10 - Extrato seco desengordurado

É obtido subtraindo-se o valor de extrato seco total pelo teor de gordura da amostra.

O valor mínimo permitido é de 8,5% de extrato seco desengordurado.

3.2.11 - Presença de Água oxigenada

A água oxigenada é muito utilizada como forma de rendimento para o leite. A água oxigenada é de difícil detecção nas análises, uma vez que é facilmente degradada no leite, ficando mascarada.

Técnica: Adiciona-se 10 ml de leite previamente homogeneizado em um tubo de ensaio juntamente com 2 ml de solução de Guaiacol a 1%.

Caso tenha havido a adição de água oxigenada, irá se desenvolver uma coloração salmão na amostra. Isso se dá devido a liberação de oxigênio através da reação com a peroxidase, alterando o guaiacol e levando a alteração da coloração.

3.2.12 - Presença de formol

O formol é bastante utilizado como conservante indiscriminado, visando evitar a multiplicação microbiana no leite (FAGUNDES, 1997).

Técnica: Em um tubo de ensaio contendo 10mL de leite, adiciona-se 1 mL de floroglucina a 1%. Homogeniza-se e adiciona-se posteriormente 2mL de hidróxido de sódio a 10%.

A floroglucina irá reagir com o radical formaldeído produzindo uma reação que dará a coloração salmão, indicando positividade para fraude por adição de formol. O uso do hidróxido de sódio serve para conferir pH alcalino, indispensável para que ocorra a reação.

3.2.13 - Presença de cloro

Esta prova fundamenta-se na formação de iodo livre a partir do iodeto de potássio, pela ação do cloro livre ou hipoclorito (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Técnica: Adiciona-se 1,5ml de iodeto de potássio em tubo de ensaio contendo 10ml de leite juntamente a 3 a 4 gotas de ácido clorídrico 1+1.

Resultado: Em caso de resultado positivo, ocorre a formação de uma coloração amarronzada. Em caso negativo a coloração permanecerá inalterada.

3.2.14 - Presença de soro

A adição de soro proveniente da fabricação de queijos é uma forma bastante comum de fraudes, uma vez que não ocorre a alteração do pH do leite. A adição do mesmo no leite visa especificamente o seu rendimento volumétrico.

Técnica: Ainda hoje, a técnica de detecção de soro no leite é bastante complexa e demorada, sendo utilizado vários passos para a sua total realização.

Em erlenmeyer de 125ml, adiciona-se através do uso de pipeta volumétrica, 25ml de ácido tricloroacético a 24%. Em seguida adiciona-se 25ml da amostra previamente homogeneizada gota a gota e sob agitação. Deixa-se a solução em descanso por cerca de 30 minutos, realizando em seguida a filtração utilizando filtro qualitativo em erlenmeyer de 125ml. Transfere-se 25ml do filtrado para tubo de ensaio e adiciona-se 1ml de ácido fosfotungstíco a 20% o qual é preparado no momento do uso. A amostra é então levada para centrifugação a 3000r.p.m. por 10 minutos. Após despreza-se o sobrenadante, lavando o precipitado com 4ml de álcool a 95% com o auxílio de bastão de vidro. Em seguida lava-se também o bastão com 1ml de álcool a 95%. Esta solução é então

centrifugada novamente por 10 minutos a 3000 r.p.m., desprezando-se novamente o sobrenadante. Encaminha-se então o precipitado para estufa onde permanecerá por 30 minutos a 35-45° C. Em seguida realiza-se a lavagem deste precipitado com 3ml de ácido sulfúrico 0,1N com auxílio de um bastão de vidro. Lava-se o bastão com mais 1ml do mesmo ácido. Leva-se a solução em banho-maria por cerca de 40 minutos a 80°C e em seguida aguarda-se o retorno a temperatura ambiente, onde se realiza novamente outra centrifugação a 3000 r.p.m. por 6 minutos. Pipeta-se 2ml do sobrenadante com bastante cuidado para não coletar o precipitado, e adiciona-se 0,5ml de reagente de Erlich. Por fim é levado a banho-maria por 30 minutos em água fervente.

Resultado: A reação positiva para adição de soro no leite irá conferir coloração lilás intensa. Em caso de resultado negativo, a coloração estará amarelada ou levemente rósea.

3.3 – Carne

Denominam-se carnes, as partes musculares comestíveis das diferentes espécies de animais de açougue, manipuladas em condições higiênicas e provenientes de animais que ao abate se apresentam em boas condições de saúde, certificados por médico veterinário responsável pelo serviço de inspeção (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A carne se caracteriza pela natureza das proteínas que a compõem, não somente do ponto de vista quantitativo como qualitativo. Além de sua riqueza em ácidos aminados essenciais, ela contém umidade, vitaminas, glicídios e sais minerais como elementos nutritivos complementares. Sua composição varia de acordo com a idade, sexo, raça, manejo, alimentação e a espécie animal (PARDI et. al., 2001).

De modo geral as carnes frescas, ou seja, que não sofreram nenhum processo de industrialização, são analisadas em relação as suas características organolépticas, classificação e presença de conservadores. As determinações de umidade, proteínas, lipídios e cinzas, podem dar alguma idéia do produto, uma vez que os componentes do tecido muscular de qualquer animal variam, dentro de certos limites (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

As características organolépticas da carne fresca, ou repercutem na carne cozida para fins culinários ou no processo industrial, razões pelas quais são objeto de padronização destinada a aferição de qualidades (PARDI et. al., 2001).

O exame organoléptico da carne é de grande importância e, às vezes, maior que os exames químicos, pois são as características organolépticas que mais se alteram no início da putrefação da carne (GIL, 2000).

Os principais testes físico-químicos realizados para carnes in natura, na rotina laboratorial são: sensorial, pH, pesquisa de gás sulfídrico, pesquisa de amônia.

3.3.1 - Características sensoriais

Deve se apresentar com aspecto uniforme, sem acúmulo sanguíneo ou corpos estranhos, com coloração uniforme, sem manchas escuras ou zonas claras, variando do vermelho rosado ao vermelho pardo, normalmente tem consistência firme, compacta e elástica e odor suave agradável e característico (BRASIL, 1981).

3.3.2 - Determinação de pH

O pH caracteriza-se na medição da atividade dos íons H⁺, o que irá conferir a acidez do produto. Pode ser fortemente influenciado pelas características químicas, ou seja, pelas reações advindas do tempo de exposição da mesma a fatores capazes de causar sua deterioração.

Técnica: em um béquer de 80ml, adiciona-se 50g da amostra em pequenos pedaços, juntamente com 10ml de água destilada. Homogeniza-se bem, utilizando-se um bastão de vidro para macerar ao máximo a amostra, e procede-se a leitura em pHmetro previamente calibrado.

O pH normal para carnes frescas próprias para o consumo varia entre 5,8 a 6,2. pH entre 6,2 e 6,4, se faz necessário o consumo imediato da carne. Já para pH acima de 6,4 indica que a carne já está em processo de decomposição, sendo incabível o seu consumo. Em peixes, o pH para consumo esta entre 6,5 a 6,9.

3.3.3 - Pesquisa de gás sulfídrico

Fundamenta-se na decomposição dos aminoácidos sulfurados com liberação de enxofre. Este em meio ácido transforma-se em gás sulfídrico e que combinado com acetato de chumbo produz sulfeto de chumbo que enegrece o papel (BRASIL, 1981).

Técnica: Em um erlenmeyer de 125ml, coloca-se 10 gramas da amostra de carne a ser analisada juntamente com 25ml de água destilada. Veda-se o frasco com papel de acetato de chumbo e leva-se a banho-maria sob bico de bunsen, por 10 minutos. Passado o tempo, verifica-se em caso positivo, a formação de uma mancha enegrecida no interior do papel. Em resultados negativos observa-se apenas a formação de uma mancha de cor grafite, ou seja, bem mais clara.

3.3.4 - Pesquisa de amônia

Este teste também é utilizado como indicativo de decomposição de fragmentos cárneos.

A amônia resulta da reação do reagente de Éber com o gás amoníaco oriundo da putrefação. É evidente a formação de uma fumaça bem esbranquiçada no momento da reação.

O reagente de Éber é composto por três partes de álcool etílico absoluto, uma parte de ácido clorídrico para análise, e uma parte de éter etílico e irá reagir diretamente com o gás amoníaco.

Técnica: coloca-se 5ml de reagente de Éber em um tubo de ensaio, em seguida afixa-se um fragmento da amostra a ser analisada em um gancho e o introduz-se no tubo, evitando que o mesmo toque as paredes ou a superfície líquida. O resultado é considerado positivo quando há formação de uma fumaça esbranquiçada e espessa, indicando que já há um processo de decomposição iniciado. Em produtos frescos, sem que haja qualquer início de decomposição, não haverá a formação de fumaça.

3.4 – Mel

O mel é um produto natural de abelhas elaborado a partir do néctar das flores (mel floral), de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de partes vivas das plantas (BRASIL, 2000).

A composição do mel consiste numa solução concentrada de açúcares, com predominância de glicose e frutose. Contém, ainda, uma mistura complexa de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen (CAMPOS e DELLA MODESTA, 2000).

Dentre os componentes, mais especificamente as enzimas, são adicionadas pelas abelhas ao néctar causando mudanças químicas, que irão aumentar a quantidade de açúcar, o que não seria possível sem essa ação enzimática. A enzima invertase, transforma $\frac{3}{4}$ da sacarose inicial do néctar coletado em glicose e frutose. Sua ação é contínua até que o amadurecimento total do mel ocorra. A diastase quebra o amido. A catalase e a fosfatase são enzimas que facilitam a associação açúcar- álcool, sendo um dos fatores que auxiliam na desintoxicação alcoólica pelo mel (RABELO, 2006).

A presença de umidade no mel é normal, entretanto nele também existem leveduras que podem ativar a fermentação desde que existam condições favoráveis como ar e umidade excessiva (RABELO, 2006).

A armazenagem do mel em temperaturas elevadas, ou mesmo o seu aquecimento de forma errada, pode causar o desdobramento da frutose em Hidroximetilfurfural. Geralmente este componente está presente em baixos níveis, sendo influenciado também pelo tempo de armazenagem do mel e pela adição de compostos no intuito de realizar um rendimento maior do mel. (COUTO e COUTO, 2002).

O mel deve se apresentar com odor agradável e característico, sabor próprio e doce, aspecto límpido denso, viscoso, translúcido ou cristalino e coloração variando de branco d'água a âmbar escuro, dependendo do tipo de mel (BRASIL, 1981).

Dentre as análises mais comuns para mel estão, prova de Fiehe, prova de lund, umidade e prova de fermentos diastásicos.

3.4.1 - Reação de Fiehe

Utilizada para detecção da HMF no mel, sendo uma prova qualitativa, indicando ou não o excesso deste composto no mel.

Técnica: pesa-se 5 gramas de mel em um béquer em seguida adiciona-se 5ml de éter, o qual irá agir retirando o HMF do mel. Transfere-se a solução para uma cápsula de porcelana. Aguarda-se o éter evaporar. Após adiciona-se 1ml de uma solução clorídrica de resorcina 1%, a qual combina-se com HMF dando uma coloração alaranjada a vermelha. Quanto mais intensa a coloração, maior o teor de HMF no mel. Em casos onde a coloração se mostrou fraca, indica uma baixa quantidade de HMF no mel.

3.4.2 - Reação de Lund

Fundamenta-se na precipitação dos açúcares albuminóides normais e naturais do mel.

Técnica: transfere-se com pipeta volumétrica 20ml de solução de mel a 10% (2 gramas + 20ml de água destilada) para uma proveta de 50ml. Após adiciona-se 5ml de uma solução de ácido tânico a 0,5% e completa-se com água destilada até atingir a marca de 40ml. Agita-se bem a solução e deixa-se em repouso por 24 horas.

Para méis naturais, ocorre a formação de um depósito de açúcares que varia de 1 a 4ml. Em méis fraudados ou impuros este precipitado geralmente permanece abaixo de 1,5ml.

3.4.3 - Umidade

O método universalmente recomendado é aquele feito por refratometria a 20° C e o resultado é obtido através da tabela de Chataway.

Técnica: Primeiramente realiza-se a calibração do refratômetro em uma temperatura estabilizada de 20° C. Após coloca-se uma gota de mel nos prismas e focaliza-se e realiza-se a leitura. O valor obtido é transformado com o auxílio da

tabela de chataway. Para cada grau acima de 20° C soma-se 0.00023 e para cada grau abaixo de 20° C subtrai-se 0,00023.

A umidade máxima permitida para o mel é de 20% (BRASIL, 2000).

3.4.4 - Prova de fermentos diastásicos

Prova utilizada única e exclusivamente para verificar a presença de diastase, enzima natural do mel.

Técnica: Coloca-se 10 gramas de mel em 2 béquers de 50ml cada um. Adiciona-se 20ml de água destilada para dissolver o mel. Em seguida transfere-se 10ml da solução para uma proveta de 50ml e adiciona-se 1ml de solução amido (1 grama de amido solúvel + 100ml de água destilada) em cada uma das provetas. Uma das provetas é posta em banho-maria a 42-45° C e a outra permanece em temperatura ambiente. Ambas por 1 hora. Após, coloca-se 1ml de solução de iodo para fermento diastásico e verifica-se a reação na coloração.

Resultado: Coloração verde oliva à castanha indica a presença de diastase. Coloração violeta indica ausência de diastase.

3.5 - Outras análises

Para controle de qualidade e verificação de fraudes de alimentos industrializados ou que passam por algum processo de beneficiamento, é comum as empresas solicitarem análises de seus componentes, de forma a verificar se estão de fato dentro dos padrões exigidos.

Dentre as análises estão: presença de amido e açúcares totais, pesquisa e análise de nitrito e nitrato, determinação de resíduo mineral fixo.

3.5.1 - Presença de amido

Utilizada para verificar fraudes por adição excessiva em embutidos e queijos, de forma a aumentar o volume de massa obtido.

Técnica: pesar 5 gramas da amostra em um erlenmeyer de 150ml e adicionar água destilada de forma a cobrir a amostra. Aquecer em bico de Bunsen até verificar a fervura e aguardar por 5 minutos. Aguardar o total resfriamento da amostra, e adicionar gotas de solução de iodo. Em casos onde ocorre a presença de amido na amostra, a mesma desenvolverá uma coloração azulada. Em casos onde não há presença de amido, a amostra irá desenvolver coloração amarronzada.

3.5.2 - Pesquisa de nitrito e nitrato

O emprego destes sais é bastante antigo e tem como finalidade conferir cor e sabor aos produtos, além de funcionar como agente antimicrobiano e antioxidante. Além de ter a capacidade de inibir o crescimento e a produção de toxinas das várias espécies de *Clostridium* sp. A aplicação destes sais acima do limite máximo estabelecido pela legislação pode acarretar sérios riscos à saúde humana, pela possibilidade de manifestações de efeitos tóxicos agudos e crônicos (MELO FILHO et. al., 2004).

A reação de íons nitrito com aminas presentes no meio pode dar origem as nitrosaminas e nitrosamidas, substâncias consideradas carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas.

O nitrato, por sua vez, é reduzido a nitrito por enzimas produzidas por microrganismos (*Micrococcus*), cuja proliferação é favorecida por manuseio e processamento inadequado dos alimentos (MELO FILHO et. al., 2004).

Técnica: Deve ser feita sempre em duplicata por se tratar de uma prova quantitativa. Pesa-se 5 gramas da amostra em uma proveta de 100ml, completando-se com água destilada até 50ml. Agita-se a amostra a cada 5 minutos por um período de 30 minutos. Após adiciona-se 5ml de creme de alumina e completa-se o restante do volume com água destilada até os 100ml. Homogeniza-se bem a amostra e filtra-se com papel filtro número 41. Do filtrado, retira-se 5ml e coloca-se numa proveta de 50ml, adicionando 1ml de ácido sulfanílico e 1ml de cloridrato de alfa-naftalamina. Completa-se o volume total com água destilada e mantém-se em repouso por 30 minutos. A leitura é realizada utilizando-se espectrofotômetro a 520nm.

A quantidade de nitrito é calculada da seguinte forma: $\text{ppm NaNO}_2 = (\text{absorbância} - 0,003) \times 2088 / \text{peso da amostra}$.

A quantidade máxima permitida pela legislação para carnes é de 150ppm.

3.5.3 - Determinação do resíduo mineral fixo:

Cinza de alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica.

A cinza obtida não é necessariamente da mesma composição que a matéria mineral presente originalmente no alimento, pois pode haver perda por volatilização ou alguma interação entre os constituintes da amostra. Os elementos minerais se apresentam na cinza sob forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos e cloretos, dependendo das condições de incineração e da composição dos alimentos (CECCHI, 1999).

Técnica: Esta prova é realizada em triplicata. Com o cadinho previamente aquecido em mufla e resfriado em dessecador, tara-se o mesmo e em balança analítica, pesa-se 2 gramas da amostra previamente homogeneizada. Posteriormente, leva-se a mufla a 550° C por 4 horas. Transcorrido o tempo, retira-se o cadinho e leva-se ao dessecador para esfriar por 30 minutos, realizando a pesagem do mesmo.

O resultado é dado pela seguinte fórmula: $\text{peso final} - \text{peso inicial} \times 100 / \text{peso da amostra}$.

4 – CONTROLE E GARANTIA DA QUALIDADE

A saúde é um direito inalienável de todo cidadão, tal como está expresso na Declaração Universal dos Direitos do Homem, promulgada em 1948 pela Organização das Nações Unidas. Mas para que haja saúde é fundamental que os alimentos sejam produzidos com qualidade apropriadas ao equilíbrio orgânico, o qual representa um fator de resistência às doenças (GERMANO e GERMANO, 2001).

As características sanitárias de um alimento constituem apenas uma das facetas que compõem o complexo problema dos alimentos em relação à saúde. Não é possível isolar completamente este aspecto restrito de transmissão de doenças através dos alimentos, de outros problemas de qualidade dos alimentos que, de alguma forma, também acabam por influir na saúde humana (RIEDEL, 2005).

Deste modo, a preocupação é cada vez mais constante das empresas, mais especificamente, do setor alimentício, em implantar controles e sistemas de qualidade que garantam um produto com características sanitárias aceitáveis para consumo.

Controle é um processo através do qual são estabelecidos e depois alcançados determinados padrões. Quando aplicado a sistemas de qualidade é chamado de controle de qualidade, sendo desta forma, um processo regulador através do qual é efetuada uma medição de desempenho da qualidade de um produto, sendo processada comparação dessa medida com padrões estabelecidos e atuação para reduzir a diferença (CALEGARE, 1985).

O controle de qualidade é considerado frequentemente sob três aspectos, que englobam o controle da matéria-prima, controle do processamento e inspeção

do produto acabado. Se o controle da matéria-prima e do processamento for perfeito, a inspeção do produto acabado se torna dispensável. Porém, na prática, dificilmente pode-se obter a garantia total no controle da matéria-prima e processamento, tornando-se necessária a inspeção do produto acabado. É um processo dinâmico e evolui com a experiência. A experiência cotidiana pode mostrar a conveniência da simplificação ou subdivisão do plano original (YOKOYA, 1983).

O controle de matéria-prima engloba todos os ingredientes utilizados no processamento, incluindo assim todos os aditivos, condimentos e embalagens utilizados para a obtenção do produto final. Deste modo devem passar por análises químicas, físicas, sensoriais e microbiológicas.

O controle de processamento deve ser focado inicialmente nos pontos críticos da linha. Dentro deste contexto devem conter análises de peso do produto, adequação da embalagem, erros de processo, que geralmente são feitas no próprio local da operação.

Por fim, a inspeção do produto acabado, que por vezes desempenha um papel de relevância, serve pra confirmar se os controles anteriores estão funcionando adequadamente além de indicar a existência de pontos frágeis nesse sistema (YOKOYA, 1983).

Para que se tenha uma organização adequada do controle de qualidade, é necessário conhecer detalhadamente todo o processo e os equipamentos envolvidos, a fim de identificar as etapas de maior importância durante o processo (YOKOYA, 1983).

Além da gerência do controle de qualidade, há necessidade de uma equipe de auxiliares especialmente treinada para a operação deste controle, tanto no laboratório como nos pontos críticos da linha de processamento (YOKOYA, 1983).

Juntamente ao conceito e funcionalidade de controle de qualidade, pode-se incluir outra forma bastante eficaz no tocante a segurança do alimento, a qual se intitula garantia da qualidade.

Garantia da qualidade é um conjunto de medidas planejadas e sistemáticas, necessárias para assegurar que um produto tenha desempenho satisfatório quando em consumo (CALEGARE, 1985).

Recentemente, ambos os conceitos foram englobados, se tornando alicerces indispensáveis quando em utilização mútua. O controle de qualidade segue a linha de estabelecer padrões e evitar que estes mesmos padrões sofram desvios, e a garantia da qualidade funciona como ações ou medidas tomadas para manter o produto dentro dos padrões.

A chave para um programa de garantia da qualidade é a compreensão minuciosa de todo o processo, da amostragem até a apresentação dos resultados de modo que possam ser aplicadas aos pontos mais críticos, as medidas de qualidade apropriadas (LIGHTFOOT e MAYER, 2003).

Um programa de garantia da qualidade deve ser criado em consonância com a política de qualidade da empresa, especificando todos os materiais, produtos, itens, serviços, sistemas e componentes a serem abrangidos, de forma seletiva que proporcione maior controle e verificação. Este programa deve estabelecer as inspeções, ensaios e testes a serem realizados em cada fase de cada atividade, de forma compatível com sua importância (CALEGARE, 1985).

Devem ser escolhidos pela equipe da garantia da qualidade, os métodos, equipamentos, meios e tipos de análises realizadas. Além disso, todos os resultados devem ser registrados para fins de consulta ou referência, utilizados principalmente em auditorias.

Na empresa Pif Paf alimentos, a preocupação com a produção e comercialização de alimentos seguros e higienicamente adequados é fundamentada no trabalho das equipes de garantia da qualidade e controle de qualidade. Baseados e amparados em pesquisas científicas e na legislação vigente no Brasil para indústria de alimentos, o controle de todos os processos é feito de forma direta na produção e é considerado de grande importância para o desenvolvimento da empresa. Aliados a isso, são estabelecidos testes rotineiros de acompanhamento de forma a garantir e validar as metas estipuladas. Porém, a partir da política interna da empresa, o acesso aos trabalhos realizados, incluindo a metodologia de como são feitos é privativo da empresa, não sendo possível a publicação ou veiculação externa dos mesmos.

5 – ANÁLISE RESIDUAL DE EFLUENTES INDUSTRIAIS

A atividade industrial como um todo, apesar de ser essencial para o desenvolvimento social e econômico, gera grande quantidade de efluentes, geralmente lançados nas fontes de águas naturais contribuindo para o aumento da poluição destes corpos receptores (TACHIZAWA, 2002).

Quando a carga lançada em um corpo receptor excede sua capacidade de autodepuração ocorre um excessivo consumo de oxigênio, provocando problemas estéticos, liberação de odor e impedindo a existência de peixes e outros seres aquáticos que morrem por asfixia (SANTOS et. al., 2003).

Nos matadouros e fábricas de produtos cárneos, os resíduos são frequentemente muito volumosos e representam um problema sério, pelo teor de matéria orgânica alí obtido. Tais resíduos, lançados diretamente nos cursos de água, acarretam vários problemas de poluição, impondo severos prejuízos à flora e à fauna (PARDI, 2001).

Os efluentes são compostos por matéria orgânica biodegradável e matéria orgânica não biodegradável. A primeira caracteriza-se pela parcela de matéria orgânica de um efluente susceptível a decomposição por ação microbiana, sendo representada pela Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). A segunda é caracterizada pela parcela de matéria orgânica pouco susceptível a decomposição por ação microbiana, nas condições ambientais ou em condições pré-estabelecidas (FEEMA, 1991).

Na indústria de carnes, os principais resíduos constituintes de efluentes são:

Curral ou pocilga: esterco

Sala de abate: sangue, resíduos de carne e gordura.

Depilação: pêlos e materiais terrosos

Tripária e bucharia: Conteúdo de estômagos e intestinos e gordura

Preparo das carcaças: resíduos de carne, gordura e sangue

Subprodutos: Gordura e resíduos não comestíveis.

Além destes, estão inclusos todos os resíduos utilizados para limpeza e sanitização da indústria (PARDI, 2001)

Todas as atividades poluidoras industriais que gerem efluentes contendo matéria orgânica biodegradável deverão reduzi-la através das tecnologias de tratamento internacionalmente consagradas e disponíveis (FEEMA, 1991).

Estudos demonstram que os abatedouros brasileiros aproveitam bem seus resíduos como subprodutos, mesmo porque é uma forma de reduzir o custo de sua disposição. Os efluentes resultantes do aproveitamento industrial destes subprodutos apresentam alta concentração de matéria orgânica, necessitando também de tratamento adequado antes de chegarem ao ambiente externo (CHAVES, 2006).

O tratamento de efluentes da Pif Paf alimentos se divide da seguinte forma:

Tratamento primário (peneira)

O efluente da produção junta-se com o efluente dos subprodutos, que caracteriza-se pelos dejetos de suínos proveniente da pocilga de matança, e seguem para o tratamento primário, composto por uma peneira. Os resíduos grosseiros ficam retidos nas malhas da peneira e são encaminhados a fábrica de farinha. A água que passa através da peneira segue para o tratamento secundário.

Tratamento secundário (Flotador)

O processo de flotação consiste em separar partículas sólidas ou menos densas presentes em uma fase líquida. A flotação se dá pela introdução de bolhas de ar na parte líquida (RICHTER e NETTO, 1998).

O mecanismo físico deste processo baseia-se no contato e aderência de microbolhas de ar nas partículas, diminuindo a densidade das mesmas, o que resulta no seu arraste para a superfície do líquido (RICHTER e NETTO, 1998). O material flotado é retirado do flotador através de raspadores e enviando para o tanque coletor de lodo.

A água obtida através deste processo encontra-se isenta de partículas em suspensão, sendo descartada e enviada por tubulações para o tratamento terciário ou biológico. A principal função desta etapa é garantir uma redução no lodo produzido, e conseqüentemente menor quantidade de matéria orgânica enviada para o tratamento biológico.

O lodo produzido segue para um tanque coletor, onde ocorre a homogeneização sob agitação. Após segue para o um tanque de aquecimento com injeção de vapor a 90 – 100° C e por fim para a centrífuga, onde ocorre o processo de separação em fases.

A fase líquida composta pela água, retorna novamente para o flotador através de circuito fechado. A fase sólida, composta pelo lodo adensado, é armazenada para utilização como adubo. Por fim a fase oleosa, segue para o depósito de óleo, onde será utilizado como meio combustível para a caldeira.

Tratamento Terciário (biológico)

Este processo é formado pela utilização de lagoas de tratamento, que se dividem em anaeróbias, aeróbias e facultativas.

O princípio do tratamento biológico de efluentes apoia-se na atividade de bactérias e microrganismos que se alimentam de matéria orgânica dos próprios resíduos, podendo-se ocorrer na presença de oxigênio, pelo processo aeróbico, ou na ausência de oxigênio, pelo processo anaeróbico (BERNI, 2000).

Nas lagoas anaeróbias, o processo se desenvolve na decomposição da matéria orgânica pela alimentação de microrganismos anaeróbios. Baseia-se em uma série de reações químicas em seqüência, desencadeadas por uma cultura diversificada de microrganismos anaeróbios, os quais promovem a redução das moléculas orgânicas mais complexas como lipídios, carboidratos e proteínas, em estruturas moleculares mais simples como aminoácidos, ácidos graxos e açúcares, para em seguida, passar por fermentação e oxidação anaeróbica, transformarem-se em CO₂, hidrogênio e ácido acético, este último, precursor primário do produto final, o metano (BERNI, 2000).

O resíduo resultante da lagoa anaeróbica, segue para lagoa facultativa, que constitui-se unicamente de processos naturais. Elas podem ocorrer em três zonas de lagoa: zona anaeróbia, zona aeróbia e zona facultativa. A matéria orgânica em suspensão começa a sedimentar formando o lodo de fundo, o qual

sofre tratamento anaeróbio na zona anaeróbia da lagoa. A matéria orgânica dissolvida juntamente com a matéria orgânica de pequenas dimensões permanecem dispersas na zona líquida sofrendo tratamento aeróbio nas zonas superficiais da lagoa onde há a presença de oxigênio. Este oxigênio é fornecido pelas trocas gasosas da superfície líquida com a atmosfera e pela fotossíntese realizada pelas algas presentes. Por este motivo é indispensável que haja adequada iluminação solar. Enquanto as bactérias produzem gás carbônico e consomem oxigênio, as algas produzem oxigênio e consomem gás carbônico na realização da fotossíntese, formando reações iguais com direções diferentes, adequando o processo de fermentação.

Na lagoa aeróbia, é onde ocorrerá a degradação por bactérias aeróbias, terminando assim o processo de desdobraimento das partículas orgânicas emitidas a níveis aceitáveis. O processo baseia-se no mesmo citado acima, para a zona aeróbia, onde há a simbiose entre bactérias aeróbias e algas.

Por fim, há ainda a lagoa de polimento, na qual utiliza-se aguapés que realizam várias reações químicas, físicas e biológicas. A intenção do uso de aguapés se baseia na propriedade de assimilar substâncias inorgânicas solúveis do meio aquático.

A partir daí, o efluente, encontra-se praticamente em condições aceitáveis para ser lançado no corpo receptor, atendendo assim a legislação ambiental.

De forma a estimar o teor de matéria orgânica presente nos efluentes da indústria, além de verificar quais tipos de materiais estão sendo emitidos ao corpo receptor, existem vários métodos de análise passíveis de serem utilizados.

Dentre as análises existentes para avaliar o teor de resíduos carbonáceos e demais resíduos presentes nos efluentes, a empresa pif paf alimentos realiza as seguintes: DBO (demanda bioquímica de oxigênio), DQO (demanda química de oxigênio), determinação de resíduo sedimentável, determinação resíduo sólidos totais, determinação de detergentes e determinação do teor de óleos e graxas.

5.1 - Determinação de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Determinação de Oxigênio Dissolvido (OD)

DBO define-se como a quantidade de oxigênio necessária para a oxidação biológica e química das substâncias oxidáveis contidas nas amostras (NBR 9896, 1993).

É um teste empírico que corresponde à diferença entre as concentrações de oxigênio no início e no fim do período de incubação, em condições específicas de ensaio. A temperatura de incubação é padronizada em 20°C e o tempo de incubação em 5 dias. Admite-se que nestas condições 80% da matéria orgânica carbonatada já estejam mineralizadas e começando a nitrificação (COLOMBO)

O Método de incubação com diluição aplica-se a águas superficiais poluídas, efluentes e águas residuais que tem microrganismos próprios, mas não oxigênio suficiente para que, após cinco dias de incubação, ainda haja oxigênio dissolvido na amostra.

O crescimento e a reprodução de todos os organismos vivos dependem da energia desenvolvida no processo metabólico de utilização do oxigênio. A quantidade de oxigênio dissolvido em águas naturais e residuárias dependem da atividade física, química e bioquímica dessa massa de água.

A solubilidade do oxigênio em água varia em função da temperatura e da pressão atmosférica e suas principais fontes na água são a aeração natural proveniente da atmosfera e a fotossíntese das plantas aquáticas. A análise de oxigênio dissolvido é o teste-chave para indicar poluição de águas (COLOMBO)

Técnica: Realiza-se quatro pares de diluições apropriadas para o tipo e teor de matéria orgânica do efluente. Transfere-se essas diluições para provetas de 1000ml completando-se o volume com água de diluição com nutrientes. Homogeniza-se a amostra. Para cada proveta são preparados dois frascos de DBO, os quais são preenchidos e tampados.

Após 15 minutos determina-se o oxigênio dissolvido pela titulação com tiosulfato de sódio padronizado em uma das séries.

Incubar a outra série por 5 dias a 20°C, determinando em seguida o oxigênio dissolvido pelo mesmo processo do anterior.

Segundo a NBR 10559, a concentração de oxigênio dissolvido é dada pela fórmula:

$$\text{Mg O}_2/\text{L} = V1 \times 0,025 \times f_c \times 8000/ V2$$

V1= volume de solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra

V2= volume da amostra

Fc = fator de correção volumétrica gasto na titulação da amostra

O resultado final da demanda bioquímica de oxigênio é expressa:

$Mg\ O_2/L = (OD_i - OD_5) \times 100 / \% \text{ da amostra}$

OD_i = oxigênio dissolvido inicial em mg/L antes da incubação

OD₅ = oxigênio dissolvido em mg/L determinado após cinco dias de incubação.

A diluição escolhida para o cálculo de DBO deve ser a que apresentar consumo médio de 40 a 70% da quantidade inicial de oxigênio. As diluições devem apresentar no mínimo 1mg/L de oxigênio dissolvido após 5 dias de incubação.

O parâmetro exigido na legislação impõe limites de DBO de 60mg/L ou 90% de eficiência de remoção (NBR 12614, 1992).

5.2 - Determinação de Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Medida da quantidade de oxidante químico energético necessário para oxidar a matéria orgânica de uma amostra expressa em unidades equivalentes a miligramas de oxigênio por litro (NBR 9896/1993)

A demanda química de oxigênio é a quantidade de oxigênio consumido na oxidação química da matéria orgânica existente na água, medida em teste específico. Usada geralmente como indicador do grau de poluição de um corpo de água, ou de água residuária (COLOMBO)

A DQO tem se demonstrado um parâmetro muito eficiente no controle de sistemas de tratamentos anaeróbios de esgotos sanitários e de efluentes industriais (CETESB)

Técnica: técnica utilizada pela empresa pif paf alimentos é feita pelo método de refluxo aberto. Em caso de teores acima de 50mg/L deve-se diluir a amostra. Coloca-se 50ml da amostra em um frasco de refluxo de 500ml. Adiciona-se 1g de Sulfato de mercúrio e 5ml de solução gelada de Ag₂SO₄/H₂SO₄ (sulfato de prata e ácido sulfúrico), agitando-se bem até a total dissolução do sulfato de

mercúrio. Adiciona-se 25ml de dicromato de potássio 0,00417 mol/L e mistura-se novamente. Conecta-se então o condensador ao frasco e liga-se a água de refrigeração. Adiciona-se mais 70ml da solução gelada de $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ (sulfato de prata e ácido sulfúrico) através do condensador e realiza-se refluxo por 2 horas. Passado o tempo, aguarda-se o sistema esfriar e realiza-se a lavagem do condensador com 50ml de água destilada e adiciona-se a água de lavagem a solução de digestão. Deixa-se a amostra esfriar e posteriormente, titula-se o excesso de dicromato de potássio com solução de sulfato ferroso amoniacal 0,025 mol/L usando 3 gotas de indicador de ferroína que inicialmente dará a coloração esverdeada. O ponto final da titulação é quando a amostra muda sua tonalidade para marrom-avermelhado. Realiza-se o mesmo processo com uma amostra branco, contendo os reagentes e água destilada. A DQO é determinada por:

$$\text{DQO em mg/L} = (V_b - V_a) \times M \times 8000 / V$$

Onde:

V_a = volume em ml de solução de sulfato ferroso amoniacal gastos na titulação da amostra.

V_b = volume em ml de solução de sulfato ferroso amoniacal gastos na titulação da amostra branco.

M = concentração em mol/L da solução de sulfato ferroso amoniacal

V = volume em ml da amostra.

O limite estipulado para DQO é de 90mg/L ou 85% de eficiência na remoção (NBR 10357, 1988).

5.3 - Determinação de resíduos sólidos sedimentáveis

Define-se pela quantidade de material que sedimenta, por ação da força da gravidade, a partir de um litro de amostra em repouso por uma hora em cone de Imhoff. É constituído pelos materiais inicialmente em suspensão em águas e efluentes domésticos e industriais, que podem ser removidos por sedimentação, após um período de decantação. O resíduo sedimentável é medido em ensaio específico e expresso em mL/L (NBR 9896/1993).

O método do cone de Imhoff é realizado por sedimentação das partículas em suspensão pela ação da gravidade, a partir de 1 litro de amostra em repouso durante 1 hora (COLOMBO).

Técnica: Transfere-se a amostra para o cone de Imhoff até a marca de 1000mL. Deixa-se decantar por 45 minutos e após este tempo desloca-se cuidadosamente as partículas aderidas à parede do cone através de movimentos circulares com o auxílio de um bastão de vidro. Deixa-se decantar por mais 15 minutos. Realiza-se novamente o deslocamento das partículas aderidas e realiza-se a leitura do material sedimentado em ml. O resultado é expresso em mL/L.

O limite máximo permitido é de 1mL/L (NBR 10561, 1988).

5.4 - Determinação de sólidos totais

O teor de sólidos dissolvidos representa a quantidade de substâncias dissolvidas na água, que alteram suas propriedades físicas e químicas.

A classificação dos sólidos pode ser química e física. Fisicamente eles são classificados segundo suas dimensões. Sólidos dissolvidos possuem dimensões inferiores a 2,0 micrômetros. Sólidos em suspensão possuem dimensões superiores as dos solúveis. Do ponto de vista químico, os sólidos são classificados como voláteis e fixos. Sólidos voláteis são os que volatizam a temperaturas inferiores a 550°C, sejam estas substâncias orgânicas ou sais minerais que evaporam a esta temperatura. Os sólidos fixos são aqueles que permanecem após a completa evaporação da água, geralmente os sais minerais (COLOMBO).

O excesso de sólidos dissolvidos na água pode causar alterações no sabor e problemas de corrosão. Já os sólidos em suspensão, provocam turbidez da água gerando problemas estéticos e prejudicando a atividade fotossintética (COLOMBO).

Técnica: Afere-se um cadinho de porcelana e em seguida deixa-se em mufla por 1 hora a 550°C, aguarda-se seu total esfriamento e realiza-se pesagem com precisão de 0,1mg. Transfere-se 100mL da amostra e submete-se a banho-maria até a secura. Após a evaporação da amostra, coloca-se a mostra em estufa

a 103 – 105° C durante 1 hora. Esfria-se em dessecador e realiza-se a pesagem. O resultado é dado a partir da seguinte fórmula:

$$ST = (m_2 - m_1) \times 1000 / V$$

Onde:

M₂ = massa da cápsula com resíduo total em mg

M₁ = massa da cápsula vazia em mg

V = volume da amostra em ml.

O limite estipulado é de 100mg/L (NBR 10664, 1989).

5.5 - Determinação de surfactantes aniônicos

Detergentes aniônicos são substâncias que como os LAS, se associam com o cátion intensamente colorido de azul de metileno, formando um complexo de associação que é extraível com clorofórmio. Os LAS (Linear Alquilbenzeno Sulfonado) de cadeias lineares são derivações dos ABS (Alquilbenzenossulfonatos) que são biologicamente degradáveis (COLOMBO)

Os LAS estão sendo amplamente utilizados como detergentes, sendo substâncias ativas ao azul de metileno. Assim o método baseia-se na ligação do detergente com este componente. Embora este seja um método amplamente utilizado para determinação de detergentes, ele não é específico.

O detergente aniônico associa-se com o cátion intensamente colorido do azul de metileno formando um complexo extraível no clorofórmio. O principal interferente é o pH da amostra que pode ser ajustado com solução de H₂SO₄ 0,5mol/L e NaOH 1mol/L (COLOMBO)

Técnica: A partir de uma amostra de 250mL já filtrada, transfere-se para um funil de separação de 500ml e coloca-se 1 a 2 gotas de indicador de fenolftaleína. Adiciona-se 1 a 2 gotas de solução de hidróxido de sódio 1,0mol/L e neutraliza-se com 1 a 2 gotas de solução de ácido sulfúrico 0,5mol/L até que a solução apresente-se incolor. Através do uso de pipeta, adiciona-se 25ml de solução de azul de metileno, agitando-se até a total uniformidade da cor azul. Novamente adiciona-se 25ml por meio de proveta de clorofórmio agitando-se o funil de modo que as fases se separem. Transfere-se a fase contendo o clorofórmio para outro funil de separação de 500 ml, repetindo a extração com

clorofórmio por mais 2 vezes, acondicionando-se sempre a fase contendo formol num mesmo funil. Adiciona-se 50ml de solução de lavagem LAS (DDS) no funil contendo os extratos clorofórmicos e agita-se vigorosamente. Novamente deixa-se separar em fases e filtra-se o extrato clorofórmico em funil contendo lã de vidro em balão volumétrico de 100ml. Por fim, afere-se o volume do balão preenchido com a amostra e realiza-se leitura em espectrofotômetro em 652 nanômetros.

O resultado final é obtido diretamente pela curva de calibração, em mg de detergentes aniônicos/L. O limite aceito pela legislação é de 2mg/L (NBR 10738, 1989).

5.6 - Determinação do teor de óleos e graxas

Óleos e graxas são substâncias orgânicas de origem mineral, vegetal ou animal. Estas substâncias geralmente são hidrocarbonetos, gorduras e ésteres. São raramente encontrados em águas naturais, normalmente oriundos de despejos e resíduos industriais, esgotos domésticos e efluentes de oficinas mecânicas (QUEIROZ, 2006).

Os despejos de origem industrial são os que mais contribuem para o aumento de matérias graxas nos corpos de água. A pequena solubilidade dos óleos e graxas constitui um fator negativo no que se refere a sua degradação em unidades de tratamento de efluentes por processos biológicos e, quando presentes em mananciais utilizados para abastecimento público, causam problemas no tratamento de água (CETESB).

Técnica: Transfere-se 90ml da amostra a uma proveta de 100ml. Adiciona-se 10ml de n-hexano, agitando-se por 5 minutos, a fim de retirar a maior parte possível de fase oleosa para o meio contendo n-hexano. Após a agitação, fase oleosa, presente na parte superior da proveta é extraída. Transfere-se então a amostra para uma cubeta de espectrofluorímetro, o qual é previamente calibrado com duas soluções: n-hexano puro e solução concentrada de água oleosa a 225mg/L. O resultado da amostra é então lido no aparelho após o mesmo ter sido calibrado.

O limite estipulado pela legislação é de 50mg/L (NBR 13348, 1995).

6 - ANÁLISES QUALITATIVA DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL

O crescimento populacional do mundo, acompanhado de perto pelo incremento da demanda de alimentos, faz com que, cada vez mais, as atenções se voltem para o aproveitamento mais racional e evoluído dos produtos resultantes dos animais abatidos, seja diretamente para o consumo do homem, seja indiretamente, para a alimentação dos animais de consumo (PARDI, 2001)

Os subprodutos podem ser definidos como sendo tudo aquilo procedente do matadouro ou do açougue e que não possa ser vendido diretamente como alimento. A necessidade de tratamento eficiente desses produtos se baseia, primeiramente na premência de sua destinação rápida e higiênica, evitando-se assim a decomposição e a formação de cheiros desagradáveis. Secundariamente, a manipulação eficiente dos subprodutos do matadouro assegura um reembolso econômico procedente de um material, que de outro modo, seria desperdiçado (THORNTON, 1969).

As farinhas de origem animal, produzidas a partir de subprodutos, são amplamente utilizadas como ingredientes das rações para animais monogástricos e de pequenos animais. A qualidade nutricional e as possíveis contaminações químicas e microbiológicas das farinhas, a exemplo dos demais ingredientes que irão compor as rações, devem ser investigadas e monitoradas por meio de análises laboratoriais (ZANOTTO e BELLAYER, 2006).

Dentre os principais métodos analíticos utilizados para subprodutos, a pif paf alimentos realiza, teor de umidade, acidez e análise de peróxido.

O processo básico de produção de farinhas animais consiste na retirada dos excessos de água, picar ou triturar os resíduos não comestíveis da matança, quando isso for necessário devido ao tamanho das peças, levá-los aos digestores

para cocção com ou sem pressão, por tempo variável dependendo do processo, sendo a gordura drenada, prensada ou centrifugada e o resíduo sólido moído na forma de farinha com especificações de granulometria variáveis (ZANOTTO e BELLAVER, 2006).

A descrição do processo na pif paf alimentos é a seguinte:

Os produtos não comestíveis são separados durante o processo de abate e beneficiamento. São considerados como subprodutos, sangue, pêlos, unhas, ossos e vísceras.

Esses produtos seguem através de chuts para a fábrica de farinha, onde passam por processos de cozimento, pressurização e moagem, gerando o produto final, no caso, a farinha.

O sangue que chega através de tubulações até os subprodutos é armazenado em reservatório até que se atinja uma quantidade adequada e posteriormente passa pelo processo de coagulação, o qual através do uso de vapor separa-se a água do sangue. A água separada segue para a estação de tratamento de efluentes. Após este processo o sangue segue para um silo, onde fica armazenado para que possa seguir ao digestor de sangue e pêlos, onde passará pelo processo de cozimento.

Os pêlos e as unhas são separados da água através de uma peneira, sendo posteriormente enviados ao mesmo silo de armazenagem do sangue, para sofrerem o processo de cozimento.

No digestor, o processo de cozimento leva cerca de 14 horas, sendo que passado este tempo a mistura segue para o processo de hidáulise, onde será pressurizado a 3kgf de pressão por 20 a 30 minutos. A partir daí, segue para o processo de moagem.

Ossos e vísceras chegam através de tubulações diferentes sendo armazenados no mesmo silo para posteriormente seguirem ao digestor, onde sofreram o processo de cozimento. Este processo pode levar até 4 horas para ser concluído.

Após o cozimento, a mistura segue para o perculador, onde será feita a separação da graxa não-comestível. Esta graxa é utilizada na caldeira geradora de vapor. A parte sólida ainda passa por um filtro prensa, para a retirada do óleo que tenha restado na parte sólida da mistura, garantindo assim o menos teor de

umidade possível. Por fim, a mistura segue para moagem, onde junta-se com a farinha de sangue e pêlos, tornando-se uma mistura homogênea. Esta farinha é utilizada para alimentação de suínos da própria granja da pif paf alimentos.

6.1 - Teor de umidade

É definida como sendo a água livre remanescente nas farinhas após o processamento dos subprodutos que as compõem. Em geral o teor de umidade não deve ultrapassar 8%. Valores de umidade acima dos padrões podem acelerar o processo de oxidação da gordura presente nas farinhas depreciando seu valor nutricional. Por outro lado, valores muito baixos de umidade podem ser indicativos de excesso de processamento de farinhas, podendo levar a desnaturação de proteínas e em consequência diminuir a digestibilidade dos aminoácidos (ZANOTTO e BELLAVER, 2006).

Técnica: Uma amostra de farinha é pesada e submetida à secagem em estufa a 105°C, até obtenção de peso constante entre duas pesagens sucessivas. A perda de água é quantificada pela diferença entre os pesos antes e após a secagem. O resultado da análise é dado em porcentagem de umidade na amostra.

6.2 - Acidez

É definida como a quantidade de álcali em miligramas necessária para neutralizar os ácidos graxos livres de 1g de amostra. A acidez revela o estado de conservação da gordura, sob o ponto de vista de rancidez hidrolítica.

Os ácidos graxos livres são formados a partir da hidrólise das gorduras, em função das enzimas lípases liberadas por bactérias lipolíticas. Portanto a acidez é muitas vezes associada a contaminação bacteriana, podendo ser acelerada também por outros fatores como oxidação, umidade, temperatura e oxigênio (ZANOTTO e BELLAVER, 2006).

Técnica: A gordura é extraída da farinha através do uso de álcool etílico neutralizado. O extrato é titulado com solução padronizada de NaOH 0,1N, usando solução de fenoftaleína a 1% como indicador. O resultado é calculado

com base no volume da solução gasta na titulação e é dado em mg de NaOH/g da amostra.

O valor não deve exceder 2 a 3mg NaOH/g.

6.3 - Análise de peróxido

A formação de peróxidos na farinha ocorre pela reação do oxigênio atmosférico com as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados. A reação de oxidação produz peróxidos e hidroperóxidos que através de uma série de reações na presença de luz e metais, podem sofrer rupturas dando origem a aldeídos e cetonas, responsáveis pelo odor de ranço das farinhas (MORETTO e FETT,1998).

Técnica: A partir de uma amostra da farinha, dissolve-se a gordura da mesma com o uso de éter de petróleo. O éter é volatilizado e a gordura é redissolvida em solução de ácido acético e clorofórmio. Após utiliza-se Iodeto de potássio o qual será oxidado pelos peróxidos, liberando iodo que é titulado com solução padronizada de tiosulfato de sódio, usando solução de amido como indicador.

O valor de peróxido é calculado a partir do volume de solução de tiosulfato gasto na titulação e o resultado é dado em meq/1000g. O valor de peróxido deve ser abaixo de 10 meq/1000g.

7 – CONCLUSÃO

O crescente advento da indústria de alimentos, juntamente com a sua modernização, influencia diretamente na produção de alimentos que atendam as necessidades de consumidores cada vez mais exigentes.

Atualmente, a segurança alimentar é assunto de grande importância, uma vez que a partir de um adequado programa de qualidade pode-se evitar inúmeras doenças veiculadas por alimentos.

Os seguimentos industriais, que representam o ponto inicial para segurança alimentar, estão hoje mais conscientizados da importância de se produzir alimentos que não venham representar perigos a saúde do consumidor. Amparados pela legislação e programas de qualidade, além de equipes de profissionais capacitados para monitorar de forma abrangente a produção, são capazes de garantir um produto de qualidade.

Ainda, de responsabilidade dos seguimentos industriais, está a preocupação com o meio ambiente, uma vez que os resíduos industriais se não tratados de forma adequada, se transformam em fonte poluidora, o que de forma indireta, estará afetando a segurança e a saúde dos consumidores.

Além do acompanhamento direto da produção, ainda existem outras formas para se garantir ou atestar a qualidade, sendo baseados em métodos analíticos, tanto microbiológicos quanto físico-químicos.

Os estágios curriculares realizados propiciaram uma visão ampla dos dois lados do controle de qualidade, os quais se dividem no acompanhamento da produção, avaliando-se e monitorando-se na prática todo o processamento, e também, a partir de análises em laboratório, avaliando o padrão higiênico-sanitário até a obtenção do produto final.

Além disso, foi possível ter uma visão mais ampla da preocupação com o meio ambiente, uma vez que as indústrias de alimentos têm papel fundamental na preservação, no tocante ao tratamento adequado dos efluentes oriundos dos processos industriais.

Por fim, foi possível acompanhar também, a utilização de forma racional dos subprodutos obtidos na indústria de abate de animais, os quais são transformados em farinha para alimentação animal. Os métodos analíticos utilizados, realizados como forma de controle da qualidade, foram vistos e entendidos de forma clara, sendo indispensável a sua utilização na indústria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEHMER, M. L. A., **Tecnologia do leite**. 13^o edição, São Paulo: Nobel, 1999, 320p.

BERNI, M. D.; BAJAY, S. V. Geração de energia e a digestão anaeróbica no tratamento de efluentes: estudo de caso na indústria de papel. **Encontro de energia no meio rural, 3.**, Campinas: anais eletrônicos, 2000. Disponível em: http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC000000022000000100003&lng=pt&nrm=abn. Acesso em 07 Nov. 2006.

BRASIL, Instrução normativa nº. 11 de 20 de outubro de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel**. Ministério da Agricultura. Brasília, 2000.

BRASIL, Leis, decretos. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Aprovado pelo decreto nº. 30.691 de 28/03/52, alterado pelo decreto 1.255 de 25/06/62. Ministério da Agricultura. Brasília, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Instrução normativa nº. 51 de 18 Set. 2002**.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e Seus ingredientes**. Brasília, 1981.

CALEGARE, A. J. A. **Técnicas de garantia da qualidade**. Rio de Janeiro: livros técnicos e científicos, 1985.

CAMPOS, G.; DELLA MODESTA, R. C. Diferenças sensoriais entre mel floral e mel melato. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.59, nº. 1-2, p. 7-14, 2000.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. São Paulo: unicamp, 1999.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Variáveis de qualidade das águas**. São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp#niquel>. Acesso em 07 Nov. 2006.

CHAVES, J. B. P. **Contaminação de alimentos: o melhor é preveni-la**. Viçosa: Departamento de tecnologia de alimentos. 2006. Disponível em: <http://www.dta.ufv.br/artigos/contal.htm> . Acesso em 07 Nov. 2006.

COLOMBO, J. C. **Material didático - Análise de contaminantes ambientais**. Departamento de química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: <http://www.daqbi.cefetpr.br/professores/colombo/> . Acesso em 07 Nov. 2006.

COUTO, R. H. N.; COUTO. L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. 2ed, Jaboticabal: funep, 2002, 191p.

FAGUNDES, C. M., **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: UFPEL, 1997, 128p.

FEEMA. DZ-205. R-5, aprovada pela deliberação CECA nº. 2491, de 05 de outubro de 1991. **Diretriz de controle de carga orgânica em efluentes líquidos de origem industrial**. Diário Oficial, Rio de Janeiro: 24 de outubro de 1991.

FORSYTHE, S. J., **Microbiologia da segurança alimentar**. 1ed, Porto Alegre: Artmed, 2002, 424p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002, 182p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância Sanitária de alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 2001, 655p.

GIL, J. I. **Manual de inspeção sanitária de carnes**, V.1, 2ed, Portugal: fundação calouste gulbenkian,2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ: Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Métodos Químicos e Físicos para Análises de Alimentos**, 3ed. v.1, São Paulo, 1985.

JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

LIGHTFOOT, N. F.; MAYER, E. A. **Análise microbiológica de alimentos e água**. 1 ed. Lisboa: Fundação Calouste Guibenkian, 2003.

MACHADO, J. **A qualidade como requisito de competitividade**. 2º conferência virtual sobre qualidade da carne suína. Santa Catarina: 2001. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais01cv2_pt.pdf . Acesso em: 10 Out. 2006.

MARQUES, M. R. H. et. al. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em leite e queijo: identificação, perfil enzimático e biotipagem. **Revista higiene alimentar**, v.20, nº. 140, p. 86-94, 2006.

MELO FILHO, A. B. et. al. **Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife.** Ciência e tecnologia dos alimentos. São Paulo: 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/> . Acesso em: 09 Out. 2006.

MORETTO, E.; FETT, R. **Óleos e gorduras vegetais – na indústria de alimentos.** São Paulo: 1998.

NBR 10357. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas.: **Determinação da demanda química de oxigênio (DQO): método de ensaio.** Jul. 1988.

NBR 10559. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Determinação de oxigênio dissolvido – método iodométrico de Winkler – método de ensaio.** Dez. 1988.

NBR 10561. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Determinação de resíduo sedimentável – método do cone de Imhoff: método de ensaio.** Dez. 1988.

NBR 10664. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Determinação de resíduos sólidos – método gravimétrico: método de ensaio.** Abr. 1989.

NBR 10738. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Determinação de surfactantes aniônicos - método espectrofotômetro do azul de metileno – método de ensaio.** Set. 1989.

NBR 12614. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) – método de incubação: método de ensaio.** Mai. 1992.

NBR 13348. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Banho residual e efluente líquido: determinação do teor de óleos e graxas.** 1995.

NBR 9896. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas: **Glossário de poluição das águas: terminologia.** 1993.

ORDOÑEZ, J. A. et. al. **Tecnologia dos alimentos – Vol. 2,** Porto Alegre: Artmed, 2005, 280p.

PARDI, M. C. et. al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne.** V.1, 2 ed. Goiânia: ed. da UFG, 2001, 623p.

PARDI, M. C. et. al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne.** V.2, 2ed. Goiânia: ed. da UFG, 2001, 510p.

QUEIROZ, Y. G. C. et. al. **Materiais poliméricos para tratamento de água oleosa: utilização, saturação e regeneração**. Laboratório de Macromoléculas e Colóides na indústria de Petróleo. Rio de Janeiro: 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010414282006000300012&lng=e&nrm=iso. Acesso em 07 Nov. 2006.

RABELO, R. N. **mel e derivados: inspeção industrial, sanitária e tecnológica**. Jaboticabal, 2006, 50p.

RICHTER, A. C.; NETTO, J. M. A. **Tratamento de água – tecnologia atualizada**. São Paulo: Edgard Blucher, 1998, 344p.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. 3ed. São Paulo: Atheneu, 2005, 455p.

SANTOS, E. O. et. al. **Estudo estatístico dos resultados da determinação de demanda bioquímica de oxigênio pelas técnicas de diluição e manométrica**. Pernambuco: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2003. Disponível em: http://www.metrologia2003.org.br/anais_congresso/MA0223.pdf . Acesso em 07 Nov. 2006.

SILVA JR., E. A. **Manual de Controle higiênico-sanitário em alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 1995, 385p.

SILVA, N. et. al. Manual Técnico, ITAL: **Métodos de análise microbiológica de alimentos**. Campinas, 1995, 229p.

TACHIZAWA, T. **Gestão ambiental e responsabilidade social corporativa**. São Paulo: Atlas, 2002, 381 p.

THORNTON, H. **Compêndio de Inspeção de carnes**. 5ed. Inglaterra: editora inglesa tindal and cassel, 1969.

YOKOYA, F. **Controle de qualidade nas fábricas de alimentos**. São Paulo: secretaria da indústria, comércio, ciência e tecnologia, 1983.

ZANOTTO, L. D.; BELLAVER, C. **Qualidade das farinhas via análises laboratoriais**. Palestra apresentada no V workshop da Sincobesp. São Paulo: 2006. Disponível em: <http://www.sincobesp.com.br/ppt/4a.%20APRESEN%20ZANOTTO.pdf> . Acesso em: 07 Nov. 2006.