INSTITUTO FEDERAL
Mato Grosso
Campus Cuiabá - Bela Vista

QUALIDADE DA SALADA E DO REFRESCO SERVIDOS EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ - MATO GROSSO

MELISSA SCHIRMER

CUIABÁ-MT
AGOSTO DE 2015

MELISSA SCHIRMER

Orientadora: Profa. Dra. Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria.

QUALIDADE DA SALADA E DO REFRESCO SERVIDOS EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ - MATO GROSSO

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos área de concentração em Qualidade de Alimentos para obtenção do título de mestre.

.

CUIABÁ, MT
2015

Divisão de Serviços Técnicos. Catalogação da Publicação na Fonte. IFMT Campus Cuiabá Bela Vista
Biblioteca Francisco de Aquino Bezerra

S337q

Schirmer, Melissa
Qualidade da salada e do refresco servidos em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso. / Melissa Schirmer._ Cuiabá, 2015.
103f.

Orientadora: Profª. Drª Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tenologia de Alimentos)_. Programa de Pós-graduação. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso.

1. Qualidade microbiológica – Dissertação. 2. Qualidade físico-química – Dissertação. 3. Alimentação escolar - Dissertação. I. Faria, Rozilaine Aparecida Pelegrine Campos de. II. Título.

IFMT CAMPUS CUIABÁ BELA VISTA CDU 579.67
CDD 664

MELISSA SCHIRMER

QUALIDADE DA SALADA E DO REFRESCO SERVIDOS EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ - MATO GROSSO

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos área de concentração em Qualidade de Alimentos para obtenção do título de mestre.

Data de defesa pública: 26 de agosto de 2015.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profa. Dra. Nágela Farias Magave Picanço Siqueira - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profa. Dra. Cássia Aldrin de Mello – Universidade Federal de Mato Grosso

ATESTADO

Atesto terem sido feitas todas as correções sugeridas pela Comissão Examinadora.

Profa. Dra. Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria
Orientadora e Presidente da Comissão Examinadora

CUIABÁ, MT
2015

Dedico este trabalho à minha família,
pelo amor incondicional, pelo carinho e pelo apoio.
Meu grande presente.
Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, tão presente em minha caminhada.

Ao meu marido, Maurilio, a quem não tenho palavras para agradecer. Você é uma luz na minha vida, obrigada, te amo.

Aos meus filhos, Pedro e Gabriel, pela compreensão, pelo carinho que somente os meninos conseguem dar. Mesmo com a correria consegui deixar tudo pronto pra vocês: arroz no armário, bife no congelador, uniforme no guarda-roupa....

Aos meus pais, que como sempre, souberam me incentivar e ver a grandiosidade das oportunidades que recebo. Vocês não imaginam a força que vocês têm.

À Professora Dra. Rozilaine, pela paciência, compromisso, humildade, competência. Faço parte da sua lista de admiradores.

À Professora Dra. Nágela, pelas oportunidades que enriqueceram meu trabalho.

Às Cunhadas da Fraternidade Moral e Progresso. O apoio, a compreensão e a amizade de vocês foram fundamentais. Obrigada pela oportunidade de fazer parte dessa grande família.

Aos meus queridos alunos, que estiveram arduamente presentes nos laboratórios, sem vocês este trabalho não seria possível. Obrigada aos alunos de nutrição Sheedy, Elizabeth, Marina, Leticia, Patricia Anny, Dani Mendes e aos alunos de Farmácia Jallisson, Bianca, Janaina, Reinaldo, entre tantos outros que passaram pelos laboratórios, prepararam meios, lavaram vidrarias, coletaram amostras e participaram das análises.

Aos alunos do IFMT que participaram da pesquisa: Livia, Kelly, Tabata, Jéssica, Ananda, Andreza e Nathalia.

Agradeço imensamente a contribuição especial da Vanda e de todos os técnicos de laboratório.

Ao professor Marcio Lima, que independentemente da hora, estava sempre disponível para ajudar.

Ao Adelino, tão gentil, obrigada pelas valiosas contribuições.

Aos professores do curso de nutrição da UNIC, verdadeiros companheiros, que conseguiram sobreviver junto comigo (fiquei bem “mais” chata!).

À professora Márcia Maria de S. Americano, pela presença constante e paciência nos ensinamentos.

À amiga Ana Luiza Trovo, pelo ombro, pelos braços, pelo carro, pela amizade, *feedback*, pelos ensinamentos, carinho e apoio incondicional.

Aos alunos do curso de Nutrição, pela compreensão da ausência e apoio na caminhada.

À Universidade de Cuiabá, pela disponibilidade de tempo e do espaço para a realização pesquisa, esse apoio foi fundamental.

Ao professor Fabio Mioto, pelo apoio na utilização dos laboratórios e serenidade na hora de resolver os imprevistos.

A Ligia e sua equipe pela paciência durante esse longo tempo, quantos choros.

À colega Cássia Aldrin de Melio, cuja ajuda foi fundamental.

A todos do Colégio Ibero Americano: à diretora Lenize, aos professores e alunos, à equipe da secretaria e em especial à equipe do refeitório e cantina, D. Clara, Joceli, Laodiceia, Marines, Rosana e Suzane, pela certeza de que tudo daria certo, por compreender as ausências e pelo compromisso de vocês com o resultado. Obrigada pelo apoio.

Aos coordenadores e diretores de curso da UNIC, o apoio de vocês e aquele cafezinho “não têm preço”.

Ao IFMT, pelo financiamento da pesquisa e pela oportunidade única de ingressar no mestrado. Espero retribuir e contribuir com a instituição por essa e outras oportunidades que virão em minha vida.

Ao CNPq com apoio bolsa PIBITI.

Aos colegas e amigos do mestrado, vou sentir saudades do vínculo, do apoio, da troca de experiências, das conversas, dos encontros.

Aos professores do mestrado por partilharem o que têm de melhor, por fazerem parte desse momento tão especial.

A todos que, de alguma forma, contribuíram e não estão aqui declarados. Sabem da gratidão que tenho por cada um.

Meus sinceros agradecimentos a todos vocês.

RESUMO

Schirmer, M. Qualidade da salada e refresco servidos em creches municipais de Cuiabá - Mato Grosso. Dissertação (Mestrado). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, 2015. 100p.

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade físico-química e microbiológica da salada de alface e do refresco servido em oito creches públicas do município de Cuiabá - Mato Grosso. A salada de alface foi avaliada em dois momentos distintos, antes e após a capacitação das técnicas em nutrição escolar. Foram coletadas 30 amostras de alface *in natura* e 240 amostras de salada de alface para a pesquisa de *Salmonella* spp. e de contagem de coliformes termotolerantes somente para as saladas. Para análise do refresco, foram coletadas cinco amostras de polpas de caju e maracujá do lote que originou os refrescos e cinco amostras de refresco de caju e de maracujá, por creche, com três repetições, totalizando 240 amostras para a pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de coliformes termotolerantes e contagem total de bolores e leveduras. As análises físico-químicas foram feitas em delineamento em blocos casualizados, pela coleta de uma amostra de 200 mL de refresco de caju e de maracujá nos oito tratamentos (creches) com três blocos (repetições) para cada refresco, totalizando 24 amostras de cada. Foi coletada uma amostra das polpas de caju e maracujá que originaram os refrescos utilizados na pesquisa. As análises físico-químicas constaram de teor de vitamina C em mg/100g, quantidade de açúcar total em g/100g, pH, acidez em ácido cítrico em 100g e sólidos solúveis em ºBRIX a 20º C. Os resultados físico-químicos foram analisados com o Assistat versão 7.7, e, quando verificada diferença estatisticamente significativa pelo uso da ANOVA foi aplicado o teste de Scott-Knott. Não foi evidenciada *Salmonella* nas alfaces. Na análise de coliformes termotolerantes, antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar, houve contaminação em 54% dos lotes de salada de alface e, após a capacitação 100% dos lotes foram considerados sanitariamente satisfatórios, comprovando que a capacitação e a correção dos procedimentos operacionais foram capazes de reduzir a contaminação. As polpas de caju e maracujá estavam sanitariamente satisfatórias para *Salmonella,* coliformes termotolerantes e contagem total de bolores e leveduras. *Salmonella* não foi evidenciada em nenhuma das amostras de refresco. 12,5% das amostras de refresco de caju estavam em condições sanitárias insatisfatórias por apresentarem contagem superior ao padrão de coliformes termotolerantes, 4,2% dos refrescos de maracujá e 45,8% dos refrescos de caju estavam sanitariamente insatisfatórios em relação a bolores e leveduras, sugerindo indícios de higienização inadequada de manipuladores e utensílios nas creches, uma vez que as polpas estavam isentas de contaminação. Houve aumento da concentração de vitamina C entre os blocos de ambos os refrescos, aumento significativo do açúcar total no refresco de caju e diferença em ºBRIX nos refrescos de maracujá. A acidez total foi diferente nos tratamentos do refresco de caju, o mesmo não acontecendo com o pH desses tratamentos, provavelmente devido à capacidade tampão das polpas dessas frutas. A ausência de padronização no preparo dos refrescos, provavelmente foi a responsável pelas alterações dos atributos físico-químicos dos mesmos. Recomenda-se a padronização no preparo dos refrescos para garantir a segurança alimentar e nutricional das crianças atendidas nestas creches.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, qualidade físico-química, alimentação escolar.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the physicochemical and microbiological quality of lettuce salad and refreshments served in eight public daycare centers in the Cuiabá Municipal- State of Mato Grosso, Brazil. The lettuce salad was evaluated at two different times, before and after the training of the technical staff of the school nutrition team. Thirty (30) fresh samples of lettuce were collected and 240 of lettuce salad for the detection of *Salmonella* spp. and thermotolerant coliform count only in the salads. For the analysis of the refreshments, 5 samples of cashew and passion fruit pulps of the batch from which the refreshments were prepared and five samples of each of the cashew and passion fruit refreshments were obtained, per each daycare centers, with three repetitions, in order to assay for the presence of *Salmonella* spp., thermotolerant coliform coliforms and total of molds and yeasts' counts, all of which resulted in 240 samples. The physicochemical analyses were made in randomized blocks design, by collecting a sample of 200 mL of refreshments made from cashew and passion fruit in eight treatments (daycare) with three blocks (repetitions) for each drink and resulting in 24 samples each. A sample of cashew pulp and passion fruit used for making the drinks used in the research was collected. The physicochemical analysis consisted of vitamin C content in mg/100 g, the total amount of sugar in g / 100g, pH, acidity in citric acid in 100g and soluble solids in Brix 20º C. The physicochemical data were analyzed with the Assistat version 7.7, and when a statistically significant difference was found with ANOVA, Scott-Knott post-hoc test was applied. There was no evidence of *Salmonella* in the lettuce. In the analysis of thermotolerant coliform, before the training of the kitchen staff in the school nutrition section, contamination was observed in 54% of the lots of lettuce salad, but after training 100% of the lots were considered sanitarily satisfactory, demonstrating training of the personnel and correction of operational procedures were able to curtail the contamination. The cashew and passion fruit pulps were sanitarily satisfactory for *salmonella,* thermotolerant coliform and total count of molds and yeasts. *Salmonella* was not detected in any of the refreshment samples. 12.5% of cashew juice samples were in unsatisfactory sanitary conditions, for presenting high content of thermotolerant coliform; 4.2% of the passion fruit refreshments and 45.8% of the cashew refreshments did not pass the sanitary test with regard to molds and yeast presence, suggesting inadequate cleaning by the handlers and utensils in the daycares, since the pulps were free from contamination. There was an increase in the concentration of vitamin C between blocks of both refreshments, a significant increase in the total sugar cashew juice and difference in ºBRIX passion fruit refreshments. The total acidity was different in the cashew juice treatments, but the same was not observed in the pH of these treatments, probably due to the buffering capacity of the pulps of these fruits. The lack of standardization in the preparation of refreshments was probably responsible for the changes in the physio-chemical attributes of the same. It is recommended to standardize preparation of the refreshments to ensure food security and nutrition of the children being attended to by these daycare centers.

Keywords: microbiological quality, physicochemical quality, school feeding.

LISTA DE QUADROS

Quadro1. Valores de referência para refeições do público beneficiário do PNAE, de acordo com o percentual das necessidades diárias a ser oferecido pela creche para crianças de um a três anos, com permanência em tempo integral.....13

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1. Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá, antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes.....54
Tabela 2. Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá, após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes.....58
Tabela 3. Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação à Pesquisa de *Salmonella* spp.....61

CAPITULO 3

Tabela 1. Condições sanitárias de refrescos de caju consumidos em creches municipais de Cuiabá, nos meses de abril e maio de 2015, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes.....72
Tabela 2. Contagem de bolores e leveduras a 25°C em UFC/mL de refrescos de caju e maracujá servidos em creches municipais de Cuiabá, nos meses de abril e maio de 2015.....74
Tabela 3. Valores médios dos atributos físico-químicos das polpas de caju e maracujá utilizadas no preparo de refrescos servidos para escolares de creches municipais de Cuiabá, Mato Grosso.....76
Tabela 4. Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) dos atributos físico-químicos dos refrescos de caju servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.....77
Tabela 5. Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) dos atributos físico-químicos dos refrescos de maracujá servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.....78
Tabela 6. Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) da quantidade de açúcar total e não redutor dos refrescos de caju e maracujá servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.....80

LISTA DE ABREVIAÇÕES

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CONSEA – Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional
CSI– Condições Sanitárias Insatisfatórias
CSS – Condições Sanitárias Satisfatórias
DBC - Delineamento em Blocos ao Acaso
DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos
FNDE – Fundo Nacional de Desenvolvimento Estudantil
INC – Informação Nutricional Complementar
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS – Ministério da Saúde
NMP – Número Mais Provável
OMS – Organização Mundial de Saúde
pH – Potencial Hidrogeniônico
PIQ - Padrão de Identidade e Qualidade
PNAE – Programa Nacional de Alimentação Escolar
POF – Pesquisa de Orçamento Familiar
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
SAN – Segurança Alimentar e Nutricional
SBP – Sociedade Brasileira de Pediatria
SS – Sólidos Solúveis
UAN – Unidade de Alimentação e Nutrição

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS 10
1. Introdução 10
2. REVISÃO DE LITERATURA 12
2.1 Alimentação escolar e Segurança Alimentar e Nutricional 12
2.2 Saladas: inclusão de fibras, antioxidantes, vitaminas e minerais 14
2.3 Sucos: hidratação e vitaminas nos seus nutrientes 16
2.4 Qualidade microbiológica e manipulação de alimentos em creches 18
2.6 Padrão físico-químico para refresco 33
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS 38
CAPITULO 2: ARTIGO CIENTIFICO 51
QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DA SALADA DE ALFACE SERVIDA EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ - MATO GROSSO, BRASIL 51
Resumo 51
Abstract 51
1. Introdução 52
2. Material e Métodos 54
3. Resultados e Discussão 56
4. Conclusão 62
5.Agradecimentos 62
6. Referências 63
CAPITULO 3: ARTIGO CIENTÍFICO 67
QUALIDADE DE REFRESCOS DE CAJU E MARACUJÁ SERVIDOS EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ – MATO GROSSO 67
RESUMO 67
INTRODUÇÃO 68
MATERIAL E MÉTODOS 70
RESULTADOS E DISCUSSÃO 71
CONCLUSÕES 81
AGRADECIMENTOS 82
REFERÊNCIAS 82
APÊNDICES 88

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

Alimento é toda substância que, incorporada ou não ao organismo, exerce a função de nutrição, sendo essencial para o crescimento e manutenção da vida (EVANGELISTA, 2005), portanto, a criança que recebe uma alimentação adequada pode se desenvolver com saúde intelectual e física, reduzindo ou evitando distúrbios e deficiências nutricionais (BRASIL, 2013; OLIVEIRA, 2008; SBP, 2012).

O Ministério da Saúde (MS) preconiza que uma alimentação saudável deve conter todos os grupos de alimentos na dieta diária, a qual deve fornecer água, carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas, fibras e minerais, que são insubstituíveis e indispensáveis para o bom funcionamento do organismo (BRASIL, 2005).

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) é um dos maiores programas mundiais na área de alimentação escolar e o único com atendimento universalizado, que garante por meio de transferência de recursos financeiros a alimentação dos alunos de toda a educação básica (educação infantil, ensino fundamental, ensino médio e educação de jovens e adultos) matriculados em escolas e creches públicas e filantrópicas (BRASIL, 2009).

Em 2014, cerca de 42 milhões de alunos tiveram suas necessidades nutricionais atendidas pelo PNAE durante todo o período letivo, contribuindo para o crescimento, desenvolvimento biopsicossocial, aprendizagem e rendimento escolar dos estudantes e ainda com a promoção de hábitos alimentares saudáveis (BRASIL, 2009; BRASIL, 2013; FNDE, 2014).

De acordo com o relatório de alunado atendido pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento Estudantil (FNDE, 2015), a Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá, capital de Mato Grosso, recebeu neste ano recursos para atender 51.587 alunos, sendo 7.987 alunos de creches da rede municipal ou creches filantrópicas e entidades comunitárias conveniadas com a prefeitura que recebem ajuda por meio da transferência de recursos financeiros.

Ainda que o PNAE seja relevante sob o ponto de vista nutricional, muitas das Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) onde a alimentação escolar é preparada e distribuída, não apresentam condições adequadas para a realização das atividades de produção de refeições. Portanto, a qualidade da alimentação escolar deve envolver

não apenas os aspectos nutricionais, mas também a inocuidade, ou seja, o atendimento aos requisitos sanitários para proteção e promoção da saúde dos escolares (CARDOSO, 2010).

Os alimentos consumidos nas escolas e creches podem veicular Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), originárias da matéria-prima e do alimento preparado, por este motivo é fundamental a capacitação dos manipuladores de alimentos em Boas Práticas de manipulação que asseguram a qualidade e a inocuidade dos alimentos preparados (CARDOSO, 2010; OLIVEIRA, 2013; OLIVEIRA, 2008).

No Brasil, no período de 2000 a 2012 foram notificados 8.862 surtos de origem alimentar, dos quais 53% ocorreram em serviços de alimentação (restaurantes, padarias e similares), 39% nas residências e 724 casos (8%) notificados em creches (BRASIL, 2013). Uma das principais características de surtos alimentares é a diarreia, com maior gravidade em crianças menores de cinco anos (PEDRAZA, 2014). Por isso, todas as ações que buscam assegurar uma alimentação segura do ponto de vista higiênico-sanitário e nutricional devem ser estimuladas e podem contribuir com a saúde, manutenção e crescimento dos escolares.

O controle da qualidade da alimentação servida aos escolares pode ser feito através de análises microbiológicas de equipamentos, instalações, utensílios, matérias-primas e alimentos preparados, servindo como suporte para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos procedimentos e manipuladores (CUNHA, 2012; OLIVEIRA, 2013). Além disso, podemos utilizar a análise físico-química para definir o padrão de identidade e qualidade das matérias-primas e a qualidade nutricional da alimentação servida aos escolares (BRASIL, 2005, 2009, 2013; NASCIMENTO, 2012).

Considerando a importância da qualidade da alimentação oferecida às crianças, esse trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade físico-química e microbiológica da alimentação servida em oito creches públicas do município de Cuiabá - Mato Grosso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentação escolar e Segurança Alimentar e Nutricional

A educação infantil é a primeira etapa da educação básica e objetiva o desenvolvimento integral da criança até os seis anos de idade em seus aspectos físico, psicológico, intelectual e social, complementando as ações da família e da comunidade. É oferecida em creches ou entidades equivalentes para crianças de até três anos de idade e em pré-escolas para as crianças de quatro a seis anos de idade (BRASIL, 1996).

Uma das grandes responsabilidades da creche é a alimentação, sendo essa uma estratégia para o alcance da Segurança Alimentar e Nutricional (SAN). Segundo o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA) a SAN consiste no direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras da saúde que respeitem a diversidade cultural e que seja ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentável (BRASIL, 2006).

A alimentação fornecida à criança deve ter qualidade sanitária e nutricional, por ser comprovado que aquela que recebe uma alimentação adequada pode se desenvolver com saúde intelectual e física, com menor risco de aparecimento de distúrbios e deficiências nutricionais (OLIVEIRA, 2008).

A Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) afirma que o ambiente escolar influencia na formação dos valores, estilo de vida e hábitos alimentares, uma vez que a criança permanece no local durante um ou dois períodos do dia, convivendo com educadores, cuidadores e com outras crianças (SBP, 2012).

Barbosa (2007) compararam o consumo alimentar de 20 crianças de uma creche filantrópica, durante a semana com o final de semana e observaram que no final de semana é maior a inadequação da dieta das crianças, reafirmando a importância da creche na oferta de alimentação segura do ponto de vista sanitário e nutricional.

Neste contexto o responsável pelo cardápio anual tem fundamental importância, sendo o responsável pela elaboração e implantação dos cardápios oferecidos na alimentação escolar, respeitando a cultura alimentar da localidade, os

hábitos alimentares, a sustentabilidade e diversidade da região, sempre buscando oferecer alimentação saudável e adequada (VASCONCELOS, 2012).

O PNAE (BRASIL, 2013) determina valores nutricionais de referência para a alimentação equilibrada de crianças com idade entre um e três anos que permanecem em tempo integral nas creches, devendo ser oferecidos alimentos isentos de contaminação microbiológica, toxinas e produtos químicos prejudiciais (Quadro 1).

Quadro 1. Valores de referência para refeições do público beneficiário do PNAE, de acordo com o percentual das necessidades diárias a ser oferecido pela creche para crianças de um a três anos, com permanência em tempo integral.

70% das Necessidades Nutricionais Diárias							
Categoria	**Idade**	**Energia (Kcal)**	**Carboidratos (g)**	**Proteínas (g)**	**Lipídios (g)**	**Fibras (g)**	**Vitamina C (mg)**
Creche	1-3 anos	700	114,9	21,9	17,5	13,3	12

Fonte: BRASIL (2013a)

Oferecer cardápios ricos em vitaminas, minerais e fibras alimentares é essencial para o desenvolvimento infantil. Suas principais fontes são frutas e vegetais e seu consumo é um fator protetor contra o desenvolvimento da obesidade, devido a menor densidade energética desses alimentos e a sua capacidade de gerar sensação de saciedade, em decorrência da atuação das fibras alimentares. As fibras têm ação hipocolesterolêmica e, quando associadas ao consumo de água, previnem a constipação. Além da baixa densidade calórica desse grupo de alimentos, eles são fontes de antioxidantes que podem prevenir doenças como o câncer (BRASIL, 2014; SBP, 2012).

A Organização Mundial de Saúde – OMS (OMS, 2012) cita que o baixo consumo de frutas e verduras está entre os principais problemas que levam ao aparecimento de doenças no mundo e faz menção ao aumento do consumo de frutas e vegetais para a redução dos riscos de doença isquêmica do coração, acidente vascular cerebral, colo-retal, gástrico, pulmonar e ainda câncer do esôfago.

Os cardápios escolares devem oferecer no mínimo, três porções de frutas e hortaliças por semana (200 g/aluno/semana) nas refeições ofertadas (BRASIL, 2013).

Menegazzo (2011) avaliaram qualitativamente os aspectos nutricionais e sensoriais das preparações de um cardápio mensal oferecido aos Centros de

Educação Infantil de um município de Florianópolis, Santa Catarina e observaram que a alimentação dos pré-escolares no almoço e no jantar apresentava pouca oferta de frutas, legumes e verduras, e monotonia de cores nos lanches. Em apenas um dia do mês foi oferecida mais de uma porção de fruta (4%), em quatro dias foi servida salada de folhosos (16%) e, em apenas doze dias, (48%) foram oferecidas duas porções de verduras e legumes. Os autores concluíram ser fundamental estimular o consumo de diferentes tipos de alimentos e tentar aumentar o interesse da criança por novos alimentos e/ou preparações e sugeriram a reformulação do cardápio e atividades práticas que envolvam a criança com os alimentos.

Para melhorar o desempenho do PNAE é necessário ressignificar a alimentação escolar como prática pedagógica na escola e se necessário, implantar ações de intervenção para melhorar os índices de eficácia do programa. A adesão ao consumo de alimentos é maior na rede municipal se comparada com a estadual, o que pode estar associado à maior variedade de cardápio com oferta de frutas e verduras, exposição de materiais educativos, atividades de educação alimentar e nutricional por um nutricionista, menor presença de cantinas e maior de refeitórios (TEO, 2009).

Momm e Hofelmann (2014) realizaram uma pesquisa em uma instituição de ensino fundamental da rede municipal de Itajaí, em Santa Catarina e das 523 crianças avaliadas, 52,6% tiveram sua dieta classificada como inadequada. Identificaram que o consumo de verdura crua (0 a 4 vezes por semana) foi de 48,4 % e de suco de fruta natural (0 a 6 vezes por semana) foi 89,7%, mostrando um baixo consumo desses alimentos, o que os levou a concluir que os esforços para melhorar a qualidade da dieta dos escolares devem envolver além da escola, as crianças e seus cuidadores.

Pode-se perceber que um dos grandes desafios da alimentação no Brasil e no mundo é estimular o aumento de frutas e hortaliças, bem como campanhas para aumentar seu consumo e de acordo com a OMS (2012), esta iniciativa pode ter o mesmo custo x benefício que campanhas contra o álcool e o fumo.

2.2 Saladas: inclusão de fibras, antioxidantes, vitaminas e minerais

As saladas são preparações culinárias compostas por vários alimentos diferentes, muitas vezes com cores contrastantes e geralmente servidas frias. A palavra salada vem do latim “salgado”, referindo como ingrediente principal do tempero o sal de cozinha, que pode ser o único elemento extra desta combinação, embora normalmente seja mais elaborado (MARTINS, 2003).

Existem inúmeras variedades de saladas, principalmente à base de vegetais crus, normalmente com folhas verdes, por exemplo, de alface, agrião, chicória, ou outras e tomate, rabanetes, pepino. No Brasil, a alface é a folhosa mais popular consumida nas saladas, tem variados cultivares e é produzida em todas as regiões (HENZ; SUINAGA, 2009; SAUERESSIG, 2008).

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça utilizada na alimentação humana desde cerca de 500 a.C. Originária do Leste do Mediterrâneo é mundialmente cultivada para o consumo em saladas, com inúmeras variedades de folhas, cores, formas, tamanhos e texturas. Devido ao seu baixo valor calórico, qualifica-se para diversas dietas, favorecendo o seu consumo de uma maneira geral como componente imprescindível das saladas dos brasileiros (FERNANDES , 2002).

As folhas da alface têm baixa quantidade de calorias, quantidades importantes de acido fólico, betacaroteno, vitamina C, potássio e atividades antioxidantes. Suas fibras também contribuem para as necessidades de ingesta diárias recomendadas (MELO, 2006; TACO, 2006).

A atividade metabólica normal do organismo produz constantemente radicais livres, promotores de danos que podem contribuir para o envelhecimento e a instalação de doenças degenerativas como câncer, aterosclerose, artrite reumática. Nesse sentido a capacidade antioxidante da alface tem um importante papel preventivo, pois seus extratos metabólicos apresentaram resultados superiores a 70% de eficácia no sequestro desses radicais livres (MELO, 2006).

Conforme a Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009, o consumo de vegetais no Brasil é inferior ao recomendado, com consumo *per capita* em média 3,6 g de alface/dia, sendo maior a média da região Centro-Oeste, com 4,6g/dia de alface (FNDE, 2011). O consumo de alface aumenta proporcionalmente com o aumento da renda da família, por isso a importância de oferecer esse alimento em creches, uma vez que seus usuários pertencem, em maior parte, a famílias de baixa renda (NESTI; GOLDBAUM, 2007; PEDRAZA, 2014).

Outro benefício do consumo de folhosos é a oferta de fibras. A fibra dietética traz importantes benefícios à saúde infantil, especialmente na promoção do funcionamento regular do intestino, prevenindo a constipação e impedindo a diverticulite e diverticulose, além de prevenir doenças crônicas. Uma refeição rica em fibras é processada mais lentamente, o que promove a saciedade, sendo frequentemente menos calórica (MARLETT, 2002).

O consumo regular de frutas, verduras e cereais é uma forma de aumentar a oferta de fibras na dieta, sendo recomendado para adultos saudáveis o consumo de 25-30 g fibras/dia e para crianças pode-se considerar para cálculo a idade da criança mais 5 gramas (WILLIAMS, 1995).

Bosschera et al. (2002) calcularam a ingestão de fibras alimentares diárias de crianças na Bélgica e identificaram que o pão foi o alimento que mais contribuiu para o consumo total de fibra dietética, representando 1/3 do consumo. A contribuição de outros grupos alimentares foi de 15,1% para frutas, 14,5% para alimentos ricos em amido e 13,9% para os produtos hortícolas, o que levou os autores a indicarem um aumento na ingestão de frutas e vegetais como fonte de fibras, e não apenas do pão.

O consumo de alguns vegetais tem sido associado com a redução do risco de câncer de mama em mulheres na pré-menopausa, devendo ser consumidos diariamente. (AMBROSONE, 2004). Vegetais como brócolis são nutricionalmente importantes devido aos elevados teores de vitamina C, minerais e fibras encontrados nas inflorescências e folhas dessas hortaliças (SANTOS, 2000).

2.3 Sucos: hidratação e vitaminas nos seus nutrientes

Suco de fruta é a bebida produzida através da extração de líquido de quase todas as frutas, opcionalmente coado antes do consumo. É uma bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta sã e madura, ou parte do vegetal de origem, por processo tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o consumo. Pode-se adicionar açúcar na quantidade máxima fixada para cada tipo, obedecendo ao percentual máximo de 10% calculado em g de açúcar em 100 g de suco (BRASIL, 2009).

Considera-se como refresco ou bebida de fruta ou de vegetal a bebida não fermentada obtida pela diluição em água potável do suco de fruta, polpa ou extrato vegetal de sua origem, com ou sem adição de açúcares. Os refrescos de maracujá e de caju deverão conter, no mínimo, 6% em volume de suco de maracujá e 10 % em volume de suco de caju, respectivamente. (BRASIL, 2009).

O Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (INC) considera que alimentos com baixos teores de açúcares são aqueles que contêm, no máximo, 5 g de açúcar em 100 g ou 100 mL para alimentos embalados na ausência do consumidor (BRASIL, 2012). Essas recomendações são reforçadas no

“Guia Alimentar para a População Brasileira” com o intuito de promover alimentação saudável e reverter tendências desfavoráveis de aumento da obesidade e de outras doenças crônicas relacionadas à alimentação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Sucos e refrescos de fruta oferecem considerável quantidade de vitaminas, essencialmente a C presente nas frutas cítricas, caroteno, nas frutas vermelhas e alaranjadas, flavonóides, responsáveis por reforçar o sistema imunológico, e sais minerais, indispensáveis para o bom estado do organismo, sendo recomendável tomar ao menos um copo ao dia. São ideais para perda de peso, pois dependendo do suco, possui baixa quantidade calórica. Contribui para a saúde cardiovascular, redução da pressão arterial, maior energia e hidratação (PINHEIRO, 2006).

Segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2008-2009, os sucos e refrescos foram os alimentos que mais contribuíram para atender às necessidades de vitamina C na dieta do brasileiro neste Biênio, com média de 145 mL *per capita*, em maior volume na região Centro-Oeste. Em estudo realizado pelo FNDE (2011) para avaliar os cardápios oferecidos nas escolas de educação infantil em tempo integral, 88,9% ofereceram vitamina C acima das recomendações e apenas 5,9% não atenderam à recomendação de consumo diário da vitamina na alimentação escolar. Na oferta de fibras, 81,5% ofereceram fibras abaixo das recomendações diárias, 14,8% atenderam às recomendações e 3,7% oferecem fibras acima da quantidade recomendada.

Para a alimentação das crianças que permanecem nas escolas em período integral é recomendado que nas pequenas refeições, como os lanches matinais e vespertinos, sejam servidos alimentos líquidos, entre eles o refresco ou suco de fruta, acompanhado de alimentos sólidos para atender às necessidades nutricionais das crianças (VASCONCELOS , 2012).

Cabe ressaltar que apesar da importância dos sucos e refrescos na oferta de nutrientes e vitaminas, bebidas à base de frutas não substituem a obrigatoriedade de oferta de frutas *in natura*, as quais garantem também a oferta de fibras que são perdidas no processamento do suco ou refresco e limitam a quantidade de açúcar de adição. Nas preparações servidas nas creches, é recomendado que apenas 10% da energia total diária sejam provenientes do açúcar simples adicionado aos sucos ou refrescos (BRASIL, 2013).

Na visão de Carvalho (2005), a educação nutricional das crianças que frequentam a creche extrapola a função de fornecimento de refeições em horários precisos e em porções nutricionalmente planejadas, e compreende um projeto

institucional mais amplo, que não prescinde da participação de todos os funcionários da creche e cujo objetivo é a mudança de hábitos alimentares, acompanhada da socialização de informações ligadas a uma vida mais saudável. Nesse sentido, os cuidados com hidratação da criança se ampara na oferta de sucos e frutas, com variedade e frequência necessárias para permitir à criança a formação de hábitos alimentares adequados.

Segundo Silva e Sturion (1998) o acesso e a permanência na creche promovem impacto positivo sobre o crescimento infantil avaliado através do escore-z de altura para idade, o que protege a criança principalmente contra a desnutrição crônica. Em Cuiabá – Mato Grosso, um estudo feito por Brunken et al. (2002) com crianças de 36 meses frequentadoras de creches públicas mostrou uma prevalência estatisticamente menor de anêmicos no grupo de crianças que havia ingressado na creche há mais de quatro meses, em consequência da alimentação adequada oferecida neste ambiente.

2.4 Qualidade microbiológica e manipulação de alimentos em creches

Na maioria dos países, incluindo os de elevado padrão de vida, existe um grande número de relatos sobre Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). A situação tende a ser mais grave nos países em desenvolvimento, como o Brasil, onde as condições precárias de infraestrutura e educação sanitária contribuem para elevar o número de casos (FRAZIER; WESTHOFF, 1993).

Os alimentos de origem vegetal apresentam alto risco de contaminação microbiológica e parasitária, oriundas do plantio até a manipulação antes do consumo, por isso o consumo de verduras cruas (SOARES; CANTOS, 2006) e sucos (CASTRO, 2007) e refrescos (BRUM, 2014) podem também constituir importantes meios de transmissão de várias doenças infecciosas. Coelho et al. (2001) associaram ao aspecto microbiológico dos alimentos a incorreta manipulação nas etapas de produção, colheita, transporte, armazenamento, bem como a qualidade da água utilizada na irrigação e no preparo, resultando em perdas quantitativas e qualitativas.

Os alimentos consumidos nas escolas/creches podem ser veículos de DTA originadas tanto na matéria-prima como no alimento preparado, por este motivo é de fundamental importância a capacitação dos manipuladores de alimentos nos programas de autocontrole que assegurem a qualidade e a inocuidade dos alimentos (CARDOSO, 2010; OLIVEIRA, 2008; SANTANA, 2004; SILVA, 2003).

Outro fator concorrente para surtos de DTA em creches é o grande número de refeições e a densidade populacional nas salas de aula (CARDOSO, 2010; NESTI; GOLDBAUM, 2007; OLIVEIRA, 2008; SILVA., 2003).

A refrigeração antes da manipulação desacelera o processo de deterioração e de multiplicação de organismos nocivos à saúde. Vegetais para serem consumidos *in natura* devem ser corretamente lavados, pois é sabido que a lavagem ou imersão em água e até a utilização de uma escova pode remover grande número de organismos e parasitas (GERMANO; GERMANO, 2002).

Muitas pesquisas têm avaliado a contaminação de alimentos servidos em escolas e creches (CARDOSO, 2010; COSTA., 2008; FAÇANHA, 2002; LIMA, 2013).

Façanha et al (2002) e Costa et al (2008) avaliaram polpa e suco de frutas servidos em creches e escolas e encontraram em condições inadequadas de consumo tanto a matéria-prima (polpa) como o suco produzido, mostrando que ambos estavam contaminados.

Cardoso et al. (2010) avaliaram a qualidade microbiológica de alimentos prontos para o consumo em 87 escolas atendidas pelo PNAE e identificaram contagens de micro-organismos aeróbicos mesófilos superiores a 100 UFC/g (10,8%), 20,4% de amostras com coliformes termotolerantes acima do permitido, presença de *Escherichia coli* em 2,4% e *Staphylococcus aures* em 26,5% das amostras.

Lima et al. (2013) identificaram que 36,7% das Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) de escolas da Baixada Santista estiveram inadequadas, principalmente no quesito relacionado a manipuladores de alimentos (53,3%), seguidos de armazenamento de materiais de limpeza (46,7%), higienização ambiental (33,3%) e lixo (26,7%), o que ressalta a importância das Boas Práticas nas UAN escolares.

Com o intuito de monitorar as condições higiênico-sanitárias em cantinas de escolas públicas do Estado de Goiás, Gomes et al. (2012) realizaram uma pesquisa envolvendo três etapas. Na primeira, de 2004 a 2005, foram diagnosticadas as condições higiênico-sanitárias das cantinas das escolas através do uso de uma lista de verificação (*checklist*). Na segunda etapa, de 2005 a 2007, foram promovidas ações de intervenção nas escolas com capacitação de pessoal técnico e na terceira etapa, em 2010, foram monitoradas as condições higiênico-sanitárias das cantinas em dezoito escolas participantes da primeira etapa, utilizando-se os mesmos *checklist* para comparar a dimensão higiênico-sanitária da alimentação escolar nos dois momentos. Os resultados obtidos mostraram uma melhoria na higiene operacional, no

entanto, as maiores não-conformidades foram observadas no quesito higiene pessoal (lavagem das mãos e atos físicos passíveis de contaminar o alimento como espirrar, tossir, fumar ou manipular dinheiro). Os resultados levaram os autores a concluírem que os recursos humanos eram desqualificados e havia ausência de supervisão continuada, o que poderia comprometer a segurança dos alimentos produzidos.

Estudo realizado por Cunha et al. (2012) na Baixada Santista com 30 UAN de creches públicas atendidas pelo PNAE reforçou a importância de formações constantes e cuidadosamente elaboradas para os manipuladores de alimentos. Os pesquisadores detectaram melhoria da qualidade higiênico-sanitária, por sua avaliação em três momentos distintos: diagnóstico inicial, após a capacitação dos manipuladores nas Boas Práticas e após o acompanhamento dos manipuladores e gestores.

Carvalho et al. (2008) avaliaram a produção e distribuição da alimentação escolar em 41 escolas públicas municipais de João Pessoa, Paraíba, realizaram estudo com as merendeiras, evidenciando a estreita relação de afeto entre estas e escolares, onde pela proximidade e conhecimento das preferências dos alunos, podem servir como peças fundamentais para o trabalho de utilização da alimentação escolar como espaço permanente de aprendizado. Foram observadas a ausência de treinamentos sistemáticos, sendo citados cursos ou palestras esporádicas, sem a inclusão de todo o grupo, além de fragilidade no uso da alimentação escolar como veículo de hábitos alimentares saudáveis, o que levou os autores a concluírem haver naquelas UAN a necessidade de maior suporte técnico e psicológico às merendeiras no seu processo de trabalho.

Todas as pessoas envolvidas na produção de alimentos necessitam de conhecimentos relativos aos cuidados higiênicos, às condições operacionais e ao preparo da alimentação, por meio de programas eficazes e permanentes de treinamento. Os manipuladores devem ser cientes dos riscos mínimos aos alimentos, da conduta adequada durante as operações, do ideal estado de saúde para trabalho e fundamentalmente, devem ser supervisionados (BRASIL, 2004).

Oliveira (2013) aponta que os principais problemas das UAN estão relacionados a recursos humanos desqualificados, deficiência de treinamentos e de supervisão continuada. Investimentos na capacitação de recursos humanos, por meio de treinamento e supervisão, têm menor custo e maior facilidade de aplicação que reformas e melhorias da estrutura física, uma vez que estas dependem, com maior intensidade, do poder de decisão hierárquica superior e de investimentos financeiros.

Manipuladores e pessoas da gerência devem ter perfeito conhecimento e treinamento nas Boas Práticas de Manipulação, ou seja, nos procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação visando à garantia da qualidade higiênico-sanitária e à conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. No Brasil estas práticas aplicadas em serviços de alimentação são legisladas pela Resolução RDC n° 216 de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004).

As Boas Práticas de Manipulação introduzem mudanças nos métodos de produção, no projeto e uso de equipamentos e instalações, implicando mudanças comportamentais de todas as pessoas envolvidas na produção e distribuição de alimentos, além de alterações no sistema de gestão, já que passa a utilizar rotinas de inspeção e registro de controles documentados através do uso de *checlists* (ATHAYDE, 1999).

Todas as UAN devem ter um Manual de Boas Práticas e dos Procedimentos Operacionais Padronizados, acessíveis aos funcionários envolvidos,1 disponíveis à autoridade sanitária, quando requerido. O documento deverá descrever as operações realizadas pelo estabelecimento, incluindo, no mínimo, os requisitos higiênico-sanitários dos edifícios, a manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle da água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas urbanas, a capacitação profissional, o controle da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo de resíduos e o controle e garantia de qualidade do alimento preparado (BRASIL, 2004).

2.5 Padrão microbiológico para hortaliças e refrescos

As análises microbiológicas realizadas em alimentos objetivam conhecer as condições de higiene em que os mesmos foram obtidos e processados, fornecendo subsídios sobre os riscos que esses alimentos podem oferecer à saúde do consumidor e ainda, se o alimento terá ou não a vida útil pretendida. além disso, essas análises são indispensáveis para verificar se os padrões e especificações microbiológicas estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC n° 12 (BRASIL, 2001) determina os padrões microbiológicos para alimentos destinados ao consumo humano no Brasil. As bactérias sobre as quais esta legislação estabelece limites quase sempre não alteram a aparência do alimento, estando a

razão de suas limitações relacionada à sua patogenicidade ao homem e não à deterioração dos produtos (VIEIRA, 2004).

De acordo a RDC nº 12 (BRASIL, 2001) para hortaliças frescas *in natura,* inteiras, selecionadas ou não, será realizada a pesquisa de *Salmonella* spp. cuja tolerância para amostra indicativa é de “ausência” e para amostra representativa é de n=5 c=0 e m=ausência. Já para as hortaliças frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto preconiza-se além da pesquisa de *Salmonella* spp. (com tolerância para amostra indicativa de “ausência” e para amostra representativa de n=5 c=0 e m=ausência), a contagem de coliformes termotolerantes. com tolerância para amostra indicativa de 10^2 e para amostra representativa de n=5 c=2 m=10 e M=10^2.

Já para sucos e refrescos *in natura*, incluindo água de coco, caldo de cana, de açaí e similares, isolados ou em misturas a RDC nº 12 (BRASIL, 2001) determina a contagem de coliformes termotolerantes com tolerância para amostra indicativa de 10^2 e para amostra representativa de n=5 c=3 m=10 e M=10^2, e ainda a pesquisa de *Salmonella* spp. cuja tolerância para amostra indicativa é de “ausência” e para a amostra representativa é de n=5 c=0 e m=ausência. (BRASIL, 2001). Esta resolução não determina padrão para bolores e leveduras para estes produtos.

Para fins de aplicação de plano de amostragem **m** significa o limite máximo que separa a classe das amostras aceitáveis das amostras com qualidade marginal, e **M** é o limite máximo que separa a classe dos marginais dos inaceitáveis.

De acordo com a RDC nº 12 (BRASIL, 2001) a interpretação dos resultados das análises microbiológicas das amostras representativas nos possibilita classificá-las em amostras em condições sanitárias satisfatórias (são aquelas cujos resultados analíticos estão abaixo ou igual aos estabelecidos) e amostras em condições sanitárias insatisfatórias (são aquelas cujos resultados analíticos estão acima dos limites estabelecidos, ou demonstrem a presença ou a quantificação de outros micro-organismos patogênicos ou toxinas que representem risco à saúde do consumidor).

2.5.1 Coliformes

Os Coliformes são bastonetes Gram-negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* não esporulados, que fermentam a lactose com produção de gás,

dentro de 24 a 48 horas a 35°C, sendo esta única característica suficiente para determinações presuntivas (JAY, 2005).

Este grupo, também designado por coliformes totais, inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto as bactérias originárias do trato gastrintestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também bactérias não entéricas, que estão em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal Por essa razão, sua enumeração em água e alimentos não indica necessariamente a contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Silva et al. (2001) afirmam que a detecção de coliformes totais em alimentos processados é considerada um indicativo útil de contaminação do produto pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos, ou seja, insatisfatórias.

Coliformes termotolerantes ou fecais são assim chamadas bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás, quando incubadas em 24 horas, entre 44,5 e 45,5°C (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Esta classificação em coliformes fecais objetivou, em princípio, selecionar apenas os coliformes originados do trato gastrintestinal. No entanto, hoje é sabido que o grupo dos coliformes fecais inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia, Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem cepas de origem não fecal. Por esta razão, a presença de coliformes fecais em alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração direta de *E. coli*, porém mais significante que a presença de coliformes totais, devido à alta incidência de *E. coli* dentro do grupo fecal (SILVA., 2001).

O *habitat* natural dos coliformes termotolerantes e *E. coli* são os intestinos do homem e animais de sangue quente e quando existem normalmente na água, ocorrem em menor número (VIEIRA, 2004).

A maioria dos pesquisadores concorda que a *E. coli* é o principal micro-organismo indicador de contaminação fecal do alimento, presumindo-se a possibilidade de germes patogênicos estarem no produto, em razão de suas más condições higiênicas (BRASIL, 2001; ORDOÑEZ, 2005; VIEIRA, 2004), o que segundo Jay (2005) se deve ao fato de período de sobrevivência da *E. coli* ser semelhante ao de bactérias intestinais patogênicas.

O grupo coliforme pode ser pesquisado por meio da técnica de tubos múltiplos que expressa uma estimativa estatística do número de microrganismos presentes na amostra, conhecida como Número Mais Provável (NMP), que indiretamente informa sobre a provável presença de patógenos entéricos (SILVA, 2001).

Os coliformes totais e termotolerantes foram utilizados como indicadores da qualidade higiênico-sanitária de hortaliças e frutas por vários autores, tais como Takayanagui et al. (2000), Santana et al. (2006), Takayanagui et al. (2006), Arbos et al. (2010), dentre outros.

No Brasil, o conhecimento da poluição fecal em hortaliças, especialmente alfaces, data da década de 40, quando alguns pesquisadores encontraram *Escherichia coli* em 29,3% de 252 amostras de diversas hortaliças pesquisadas No final da década de 70, estudos já apontavam alta contaminação fecal em 54% das amostras de hortaliças coletadas em São Paulo (BERBARI, 2001).

Hortaliças frescas, em especial alface, têm sido identificadas como veículos importantes de patógenos relevantes em saúde pública, incluindo a *Escherichia coli* O157:H7 (SOLOMON, 2002). Nestes vegetais a presença de tal patógeno está associada não apenas à contaminação fecal da água utilizada no cultivo das mesmas, mas também ao transporte e manuseio, processamento e utensílios que, ocasionalmente contaminados, tenham entrado em contato com material fecal (TAKAYANAGUI, 2006).

Passos (2010) investigou um surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa do município do Guarujá, São Paulo e identificou coliformes totais na amostra de água e coliformes termotolerantes na amostra de salada de alface com queijo servida no restaurante (NMP 1,1 x 103/g) e concluiu que a origem do surto provavelmente ocorreu durante a manipulação inadequada das hortaliças pelos funcionários.

Sucos de frutas, como laranja e maçã, também já foram responsabilizados por surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, como fonte de patógenos de significância em saúde pública como *Escherichia coli* O 157:H7*, Salmonella* spp*., Listeria* spp, e *Shigella* spp, bem como de agentes causais da hepatite A e parasitas (BERBARI, 2001; SANTOS, 2008).

Vale ressaltar que a contaminação nos refrescos e sucos de frutas pode estar relacionada não apenas à polpa e/ou à fruta, mas também à água adicionada durante seu preparo e ainda à sua manipulação (BRUM, 2014; CARDOSO, 2009).

Brum et al. (2014) fizeram uma pesquisa microbiológica no município de Barra Mansa, Rio de Janeiro com cinco amostras de refresco de caju e duas de refresco de laranja, em embalagens esterilizadas de 250 mL comercializadas em lanchonetes e padarias e das sete amostras analisadas, duas estavam em desacordo com os padrões estabelecidos pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001) quanto à presença de coliformes termotolerantes.

A contagem de coliformes termotolerantes em refrescos também foi feita por Oliveira et al. (2005) em Fortaleza em sete diferentes amostras de refrescos (abacaxi, acerola, cajá, goiaba, manga, maracujá e tamarindo) comercializadas em estabelecimentos diferentes e preparadas em horários distintos. Os resultados indicaram que duas amostras de refresco (28,5%) de manga e de maracujá apresentaram contagens elevadas de coliformes a 35°C, e para coliformes termotolerantes três amostras (42,8%), de abacaxi, goiaba e maracujá estavam com contagem superior à preconizada pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

Piló (2010) avaliou a qualidade microbiológica de 620 amostras de refrescos comercializados em Belo Horizonte, Minas Gerais, onde coliformes termotolerantes estiveram acima do padrão em 27 amostras.

Em pesquisas que avaliaram a qualidade de suco de frutas, no tocante a existência de coliformes termotolerantes Garcia et al. (2012) encontraram 16% de contaminação em 12 amostras de sucos analisadas; Silveira e Bertagnolli (2012) 40% de contaminação em cinco amostras de suco de laranja; Hoffmann et al.(1998) 15% em 19 amostras analisadas de sucos frescos de laranja e Oliveira et al.(2006) 16% em 50 amostras analisadas de suco de laranja *in natura*.

2.5.2 *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, produtores de gás a partir de glicose (exceto *S.* Typhi) e capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S.* Pullorum e *S.* Gallinarum, que são imóveis (JAY, 2005).

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo os valores > 9,0 e < 4,0 bactericidas e, dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. Com relação à concentração de sal, as salmonelas não toleram valores >9%, enquanto o nitrito é inibitório e seu efeito é

acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal está na faixa 35 a 37°C, sendo a mínima 5°C e a máxima 47°C (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

O gênero *Salmonella* foi descrito pela primeira vez em 1884 por Graffky, como *Bacterium thyposum*, mas foi em 1886 que Salmon e Smith isolaram de suínos com sintomas gastroentéricos um agente causador denominado primeiramente de *Bacillus cholera suis,* que mais tarde recebeu o nome de *Salmonella choleraesuis* em homenagem a Salmon (JAY, 2005).

Desde seu primeiro isolamento, a classificação taxonômica das salmonelas tem sido muito complexa e objeto de muitas controvérsias. Existem vários esquemas de classificação, sendo os mesmos identificados pelos nomes dos seus autores: Kauffmann-White, Edwards e Ewing e Le Minor (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). Segundo o esquema de Kauffmann-White, o gênero *Salmonella* deve ser dividido nos sub-gêneros I, II, III e IV, ao passo que para Edwards e Ewing esta divisão deve ser feita em três espécies: *S. choleraesuis*, *S. thyphi,* e *S. enteritides;* sendo que esta última espécie abriga todas as demais salmonelas, que são consideradas sorotipos de uma mesma espécie (ex. *Salmonella enteritides* sorotipo Typhinurium). Finalmente, Le Minor propôs a inclusão de todas as *Salmonellas* em uma só espécie, a *S. enterica*, subdividida em sete sub-espécies: *S. cholerae-suis, S. salame, S. arizonae, S. diarizonae, S. houtenae, S. bongori* e *S. indica* (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Atualmente entre esses esquemas taxonômicos vem ganhando aceitação internacional o utilizado pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, USA), que divide o gênero *Salmonella* em duas espécies, a *S. bongori,* representada por uma única subespécie (identificada como V) e a *S. enterica*, esta sendo subdividida em seis subespécies, reconhecidas por algarismos romanos, descritas a seguir: (I) *enterica*, (II) *salamae*, (IIIa) *arizonae*, (IIIb) *diarizonae*, (IV) *houtenae* e (VI) *indica* (POPOFF, 2001 *apud* Mello, 2008).

As cepas das subespécies I e II são comumente isoladas de animais de sangue quente, inclusive o homem, enquanto as subespécies IIIa, IIIb, IV e VI e *S. bongori* predominam nos isolados de animais de sangue frio e meio ambiente. Nos processos entéricos e extra-intestinais do homem, ocorrem predominantemente os sorovares ou sorotipos da subespécie I, atingindo 98% dos isolados (VIEIRA, 2004).

Os sorotipos pertencentes à *S. enterica* subsp. *enterica* são designados por nomes usualmente relacionados ao local geográfico onde foram isolados pela primeira vez ou em homenagem a uma pessoa famosa, escrito em letras romanas não itálicas, com a primeira letra maiúscula. Nota-se que é muito comum grafar as salmonelas de

forma simplificada, citando-se apenas gênero e sorotipo (ex. *S.* Typhimurium). Os sorotipos pertencentes a outras subespécies são representados por suas fórmulas antigênicas, seguindo o nome das subespécies (BOPP, 1999).

A toxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Embora se reconheça a relevância dos diversos esquemas taxonômicos, é de grande importância epidemiológica a divisão do gênero em tipos sorológicos segundo o esquema proposto por Kauffmann e White, o qual tem por base a diferenciação antigênica das salmonelas, baseada na presença dos antígenos somáticos O e flagelares H. Os antígenos O ou somáticos são termolábeis, de estrutura polissacarídica localizado na membrana externa, sendo identificados por números arábicos; enquanto os antígenos H ou flagelares são de estrutura protéica associada aos flagelos, com duas fases distintas: fase 1 - específica, designadas por letras minúsculas e fase 2 - inespecífica, por números arábicos. A combinação dos antígenos O e H são determinantes do sorotipo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Existe também o antígeno capsular Vi ou K, antígenos de envelope ou capsulares, que estão presentes somente em alguns sorotipos de *Salmonella* e podem interferir com o O, não ocorrendo a aglutinação. A identificação sorológica é feita por aglutinação rápida. Esta identificação sorológica consiste em submeter as colônias com perfil característico de *Salmonella* a testes de soroaglutinação em lâmina, empregando-se o anti-soro polivalente flagelar e somático. Esta primeira orientação é obtida com a mistura dos soros anti-O e anti-H, antes de se utilizarem os soros monoespecíficos, que permitirão a identificação final (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e animais de sangue quente e de sangue frio (répteis e anfíbios), exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem contaminar-se após a pesca (KONEMAN, 2008; VIEIRA, 2004); e de acordo com Tessari et al. (2003) os principais reservatórios são suínos e aves.

Os animais domésticos ou domiciliados tais como cães, gatos e pássaros podem ser portadores de salmonelas representando risco, principalmente para as crianças (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Por ser primariamente uma bactéria intestinal e um grande número de animais serem reservatórios, inclusive o homem, a *Salmonella* pode ser encontrada com bastante frequência em efluentes de propriedades rurais, esgotos domésticos e

industriais (TESSARI., 2003), e em costas marítimas, em decorrência do aglomerado de pessoas e navegações que contaminam os mares com fezes (JAY, 2005).

Várias espécies de animais são suscetíveis, sendo jovens, idosos e gestantes os mais afetados, inclusive sem apresentar sintomas. As aves domésticas (principalmente galinhas e perus) são consideradas como os maiores reservatórios animais de salmonelas e podem ser portadores assintomáticos, excretando continuadamente salmonelas pelas fezes e, nestas condições podem causar contaminações cruzadas de grande importância em matadouros de aves (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os sorotipos de *Salmonella* podem estar estritamente adaptados a um hospedeiro particular ou podem ser ubiquitáros, ou seja, encontrados em grande número de espécies animais. Por exemplo, o homem é o único reservatório natural de S. Typhi e S. Paratiphi A, B e C. Alguns sorotipos são adaptados a uma determinada espécie animal, como S. Gallinarum (aves) enquanto outros podem infectar indiretamente o homem e uma grande variedade de animais, sendo estes os maiores responsáveis pelas infecções de origem alimentar, por exemplo S. Enteritidis e S. Typhimurium (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

O homem pode ser infectado por vários sorotipos de *Salmonella.* Nos EUA os sorotipos mais frequentemente isolados dos surtos de salmonelose humana são: *S.* Typhimurium*, S.* Enteritidis*, S.* Heidelberg *e S.* Newport (EKPEREGIN; NAGAJARA, 1998). No Brasil os sorotipos mais encontrados no homem são S. Typhimurium, S. Agona, S. Anatum, S. Oranienburg, *S.* Typhi, *S.* Enteritidis, *S.* Albany, *S.* Hadar, *S*. Indiana e *S*. Infantis (FUZIHARA, 2000).

Embora na maior parte dos surtos a dose infectante tenha sido alta, sabe-se hoje que, em alguns casos, foram necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* para causar sintomas clínicos no homem. Estudos revelaram que 10 a 10^2 UFC (unidades formadoras de colônias) foram responsáveis por surtos associados à carne moída (FONTAINE, 1980), barras de chocolate (GREENWOOD; HOOPER, 1983) e queijo cheddar (D'AOUST, 1991). Sabe-se ainda que é necessário menos que 10 UFC para causar infecção (KAPPERUD, 1990).

Em diversos países, como EUA, Inglaterra, Canadá, Japão, inclusive Brasil, a *Salmonella* tem sido reconhecida como agente causador de doenças há muitos anos, e atualmente é considerada a principal causa de doença entérica de origem bacteriana no homem, tendo sido responsável por grandes surtos, principalmente em

consequência da ingestão de produtos de origem alimentar (JAY, 2005), mas também já tendo sido isolada também de produtos de origem vegetal (OLIVEIRA, 2008).

Salmonella spp. tem sido frequentemente encontrada em águas poluída e potável (KINDE, 1997), portanto, águas utilizadas na irrigação poderão contaminar vegetais durante seu cultivo e lavagem, tornando o alimento não adequado ao consumo (STEPHENSON, 1997).

Pesquisas realizadas para detectar a presença do patógeno em refresco (BRUM, 2014), sucos de fruta (HOFFMANN, 1998) e polpas de frutas (SANTOS; BARROS, 2012; SEBASTIANY, 2009; SILVA BRASIL, 2014) têm sido feitas e apresentado resultados negativos.

Salmonella é uma bactéria que pode ter seu desenvolvimento inibido pela presença de outros micro-organismos como bolores, leveduras e coliformes, portanto a presença desta bactéria pode ser mascarada pela menor capacidade de competição desta espécie em relação aos demais. E ainda, um resultado falso negativo pode ser consequência de as cepas estarem numa fase não própria para cultura, sendo necessário o uso de técnicas especiais para sua detecção (VIEIRA, 2004). Resultados contrários (falso positivo) também podem ser identificados, como demonstrado na pesquisa de Souza et al. (2014) ao confirmarem pela técnica de PCR a ausência de *Salmonella* em carne de jacaré, em uma amostra considerada positiva pelo método convencional.

2.5.3 Bolores e leveduras

Bolores ou mofos são fungos multicelulares, filamentosos, cujo crescimento nos alimentos é conhecido imediatamente pelo seu aspecto semelhante ao algodão. São constituídos por filamentos ramificados (hifas) cujo conjunto origina o micélio, responsável pela fixação do bolor no substrato e pela reprodução por esporos. A sua reprodução pode ser tanto assexuada, sexuada ou ambas (GAVA, 1984).

Quanto à fisiologia, os bolores são em sua maioria aeróbios, razão pela qual seu crescimento em alimentos limita-se à superfície em contato com o ar. São menos exigentes que bactérias e leveduras em relação à umidade, pH, nutrientes e temperatura, sua presença, apesar de mais comum que as originadas por qualquer outro grupo de micro-organismos, é importante não apenas sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo fato de os bolores produzirem micotoxinas (algumas termo resistentes) com riscos à saúde do consumidor (JAY, 2005).

A produção de micotoxinas pode ocorrer em qualquer época do crescimento, colheita, ou estocagem do alimento. Contudo, o crescimento desse micro-organismo e a presença de toxinas não são sinônimos, visto que nem todos os bolores e leveduras produzem toxinas. Por outro lado, as micotoxinas podem permanecer no alimento mesmo após a destruição dos agentes que as produziram, portanto a grande problemática na disseminação de bolores é a produção de micotoxinas (IAMANAKA, 2010).

Leveduras são fungos não filamentosos, unicelulares e de variadas formas que se reproduz principalmente por brotamento (assexuada). Embora as leveduras se difiram muito entre si, as de importância em alimentos têm características comuns tais como: requerem menos umidade que a maioria das bactérias e mais que a maioria dos bolores, são mesofílicas (com raras exceções), têm crescimento favorecido em aerobiose (exceto as fermentativas que preferem a anaerobiose) e pH ácido, são ótimas consumidoras de açúcares como fonte de energia. Seu crescimento no alimento não é prejudicial à saúde do consumidor (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

As exigências nutricionais das leveduras são mínimas, sendo que muitas podem sintetizar uma ampla variedade de substâncias essenciais para o desenvolvimento, como vitaminas, aminoácidos e carboidratos, utilizam fontes simples de nitrogênio e são relativamente resistentes à inibição pelo CO_2 (UBOLDI EIROA, 1989).

Como todos os fungos, as leveduras se multiplicam mais lentamente que as bactérias, não competindo bem em ambientes que permitam o desenvolvimento bacteriano, ou seja, condições de alta Aa, pH próximo ao neutro e temperaturas ótimas de bactérias mesófilas (TANIWAKI; SILVA, 2001).

As leveduras integram a microbiota natural de frutas e vegetais, embora os números relativos da população variem de um *habitat* para outro, sendo deterioradores associados principalmente aos alimentos ácidos líquidos ou semissólidos, no interior dos quais a dispersão das células é facilitada e a disponibilidade de oxigênio é reduzida. (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Leveduras normalmente não são produtoras de gases e apresentam crescimento restrito às superfícies dos meios (formação de película), não se desenvolvendo em condições de anaerobiose. Sua ocorrência no alimento pode acarretar a elevação do pH, criando condições para o crescimento de outros micro-organismos, inclusive patógenos, desde que o pH atinja valores superiores a 4,5 (HOFFMANN, 1998).

A multiplicação de leveduras pode vir acompanhada da produção de CO_2 e etanol, mas a deterioração também pode manifestar-se pela formação de película, turvação, floculação e, em alguns casos, podem produzir pectinesterases que atacam a pectina e eliminam a turvação natural dos sucos além de acetaldeído que contribui para o odor fermentado (BRITO; ROSSI, 2005).

Os efeitos das leveduras nos alimentos podem ser benéficos (na elaboração de vinhos, cervejas, aguardentes, pães, na maturação de queijos, etc.) ou prejudiciais, quando são responsáveis por deteriorar os alimentos (GAVA, 1984).

Bolores e leveduras são resistentes a condições adversas, como o pH ácido e Aa baixa. A maioria das leveduras apresenta a Aa mínima para crescimento na faixa de 0,88 e a maioria dos bolores na faixa de 0,80, sendo que os capazes de crescer em Aa abaixo do limite de 0,85 são chamados de xerofílicos, e aqueles que crescem em altas concentrações de sal são chamados halofílicos (SILVA, 2003).

Há décadas é sabido que os bolores e leveduras são agentes de maior impacto na deterioração de frutas armazenadas, com perdas substanciais na indústria de processamento (SUGAR, 1994). E segundo Hoffmann et al. (1998) geralmente a presença de bolores e leveduras no produto final é indicativa de condições sanitárias deficientes durante o processamento ou, então, de matérias-primas excessivamente contaminadas.

Por conterem altos níveis de açúcares e outros nutrientes, atividade de água ideal para o crescimento microbiano, baixo pH, as frutas são particularmente suscetíveis à deterioração por bolores e leveduras, já que uma grande parte da competição bacteriana é eliminada, pela preferência desta a faixas de pH próximas da neutralidade. Alguns bolores e leveduras são fitopatógenos e podem começar a deterioração no campo, enquanto outros, embora possam contaminar os frutos no campo, começam a proliferar e causar deterioração substancial apenas após a colheita, quando as principais defesas das plantas são reduzidas ou eliminadas (TOURNAS; KATSUDAS, 2005).

As frutas com Aa maior que 0,98 são as mais susceptíveis à deterioração por bolores ou leveduras. O desenvolvimento e o metabolismo microbiano exigem a presença de água numa forma disponível e a Aa é um índice desta disponibilidade para utilização em reações químicas e multiplicação microbiana (ABREU; 2003).

As frutas e seus produtos são em geral alimentos ácidos ou que podem ser acidificados para sua melhor conservação, estando a maior parte de sua microbiota contaminante na parte externa, sendo o seu interior praticamente estéril, a menos que

haja alguma ruptura de continuidade por lesões em alguma parte da casca (JAY, 2005).

Devido à sua baixa resistência térmica, bolores e leveduras raramente estão associados a processos de deterioração de produtos ácidos que sofreram tratamento térmico, como a pasteurização, exceção é claro das espécies termo resistentes de fungos deterioradores (LEITÃO, 1991).

A microbiota que contamina os produtos derivados de frutas é proveniente das condições da matéria-prima e da lavagem a qual esta é submetida, além das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores, equipamentos e ambiente industrial em geral. O pH destes produtos não favorece, em geral a proliferação de micro-organismos, principalmente os patogênicos, podendo haver apenas desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes como bolores, leveduras, bactérias lácticas e outros micro-organismos ácido tolerantes como bactérias acéticas e algumas espécies de *Bacillus* (SIQUEIRA; BORGES, 1997).

Algumas pesquisas têm apontado para a contaminação de sucos de fruta e refrescos com bolores e leveduras, e as possíveis causas estão relacionadas com a limpeza das frutas antes do preparo ou higienização inadequada do maquinário das extratoras (HOFFMANN, 1998; OLIVEIRA, 2005; RUSCHEL., 2001; SANTOS; RIBEIRO, 2006; SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2012).

Ruschel et al. (2001) avaliaram sucos de laranja *in natura* de vias públicas de Porto Alegre e constataram que 44,23% das amostras apresentaram contagens de bolores e leveduras acima de 10^2UFC/mL; Silveira e Bertagnolli (2012) encontraram 80% das amostras de sucos com contaminações por bolores e leveduras acima de 10^2UFC/mL, resultado semelhante foi encontrado por Santos e Ribeiro (2006) que detectaram 60% de amostras de sucos de frutas com as mesmas contagens de bolores e leveduras.

Em pesquisa feita por Hoffmann et al. (1998), a contagem de bolores e leveduras em suco fresco de laranja integral variou de $5,8 \times 10^1$ a $9,1 \times 10^5$ UFC/mL onde oito (42,1%) das dezenove amostras analisadas apresentaram contagens de bolores e leveduras superiores a 10^4 UFC/mL.

A contagem de bolores e leveduras em refrescos foi feita por Oliveira et al. (2005) em Fortaleza, com sete diferentes amostras de refrescos (abacaxi, acerola, cajá, goiaba, manga, maracujá e tamarindo) comercializadas em diferentes estabelecimentos e preparadas em horários distintos. E todas elas apresentaram altas

contagens de bolores e leveduras, indicando uma possível redução da vida útil do produto.

Piló (2010) avaliou a qualidade microbiológica de 60 amostras de refrescos comercializadas em Belo Horizonte, Minas Gerais e observou altas contagens de leveduras que somaram 396 isolados e foram classificadas como deterioradores e patógenos oportunistas.

Apesar de micro-organismos como bolores e leveduras não constarem como parâmetros microbiológicos na legislação vigente (BRASIL, 2001), sua presença em sucos ou refrescos *in natura* é preocupante, uma vez que este tipo de produto é consumido sem nenhum tipo de tratamento térmico, que possa reduzir o número de micro-organismos capazes de deteriorar o produto e/ou mesmo ocasionar toxinfecções (HOFFMANN; 1998).

2.6 Padrão físico-químico para refresco

De acordo com o MAPA as bebidas devem atender ao seu Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ), ou seja, à especificação da sua composição, das características físicas e químicas, dos parâmetros físico-químicos e sensoriais, além de satisfatório estado sanitário (BRASIL, 2009).

O controle da qualidade dos produtos alimentícios tem por finalidade a obtenção de produtos padronizados e constantes, podendo ser obtido através das análises físico-químicas. (NASCIMENTO, 2012).Análises físico-químicas são procedimentos laboratoriais que realizados em amostras de bebidas, auxiliam na verificação da conformidade do produto com o seu PIQ, assim como podem ser úteis para detectar a ocorrência de alterações, adulterações, falsificações e fraudes, desde a produção até a comercialização (BRASIL, 2009).

Como já citado anteriormente, o teor do suco de fruta presente na bebida é o que diferencia o suco do **refresco**, aqueles são compostos por 100% de fruta *in natura* e não contêm conservantes, adoçantes e corantes artificiais e **estes apresentam diferentes concentrações da fruta *in natura* (variável com a fruta), sendo a bebida obtida pela diluição em água potável do suco de fruta**, conforme destaque do autor, com ou sem adição de açúcares (BRASIL, 2009).

O refresco ou bebida de fruta ou de vegetais atualmente está disposto na Lei nº 8.918de 14 de julho de 1994, regulamentada pelo Decreto nº 6.871 de 4 de junho de

2009 (BRASIL, 2009), que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, dentre outras providências.

O referido Decreto apenas define e classifica o refresco, faz menção à permissão do uso de açúcares e estipula o teor mínimo da fruta que dá origem ao nome do refresco (mínimo de 6% em volume de suco de maracujá e 10 % em volume de suco de caju, para refrescos que levam os nomes das frutas). No entanto, não determina os parâmetros físico-químicos e sensoriais que o mesmo deverá apresentar.

Parâmetros como % de suco (º BRIX) e acidez titulável em ácido cítrico anidro (g/100mL) têm sido utilizados em pesquisas de qualidade de refresco (BRUM, 2014) e já foram características definidas na portaria nº 544 de 16 de novembro de 1998 (BRASIL, 1998) que aprovou os PIQ para refresco e outros produtos, no entanto como a mesma já fora revogada, estas características não apresentam no momento parâmetros para comparação.

O PIQ da polpa de fruta e o PIQ de sucos tropicais também estão definidos através da Instrução Normativa nº 1 de 2000 (BRASIL, 2000) e da Instrução Normativa nº 12 de 2003 (BRASIL, 2003), respectivamente. No entanto, por se tratarem de produtos diferenciados, suas especificações não podem ser comparadas às do refresco.

Considerando que o refresco é uma diluição do suco de fruta em água, suas características variam de acordo com a fruta que, dependendo de sua composição, espécie, estágio de maturação, fatores climáticos, condições de cultivo e momento adequado da colheita, vai influenciar diretamente o suco (SOUZA, 2009). Frutos muito maduros podem apresentar textura mole e sabor insípido, e frutas colhidas muito cedo ou tardiamente são mais suscetíveis a desordens fisiológicas, alterando a qualidade do produto final (DANTAS, 2010).

Os principais componentes encontrados na fruta são água (mais de 80%), carboidratos (entre 2 a 4%), proteínas, lipídios, ácidos orgânicos, vitaminas e minerais, variando o teor de umidade durante o dia em função da temperatura ambiente (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

No caso dos sucos, os parâmetros físico-químicos utilizados na avaliação de sua qualidade são pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, açúcares totais e ácido ascórbico (BRASIL, 2003).

Apesar de o pH não ser um parâmetro para refresco exigido pela legislação, é importante avaliá-lo, pois está diretamente relacionado com a qualidade do produto. De acordo com Jay (2005) o pH neutro inibe a multiplicação dos principais patógenos de origem alimentar, no entanto alguns micro-organismos, como bolores e leveduras, podem desenvolver resistências ao abaixamento de pH e conseguir assim multiplicar-se em condições adversas.

O pH dos alimentos é um dos principais fatores que determinam o crescimento e a sobrevivência de micro-organismos, que são afetados pela presença do íon [H+] livre e pela concentração de ácido fraco não dissociado. Certos micro-organismos como bolores e leveduras, podem desenvolver resistências ao abaixamento de pH e conseguir assim, se multiplicar em condições adversas (UBOLDI EIROA, 1989).

A determinação do pH pode ser feita pelo uso do potenciômetro (peagametro), ou com o auxílio de papel indicador (CHITARRA; CHITARRA, 2005; IAL, 2008).

O pH (potencial hidrogeniônico) representa o inverso da concentração de íons hidrogênio e sua determinação é realizada com o auxílio de um papel indicador ou pHmetro. Os ácidos orgânicos presentes nos tecidos vegetais podem se encontrar na forma livre ou esterificada e os ácidos fracos livres, na presença de seus sais de potássio, apresentam pequena variação no pH em função do equilíbrio estabelecido no sistema. A capacidade tampão de alguns sucos permite que ocorram grandes variações na acidez titulável, sem variações apreciáveis no pH. Contudo, numa faixa de concentração de ácidos entre 2,5 e 0,5% o pH aumenta com a redução da acidez, sendo utilizado como indicativo dessa variação. Como os ácidos orgânicos encontram-se presentes em misturas complexas, a expressão mEq/100 mL é mais correta. No entanto, em trabalhos de rotina, utiliza-se a expressão dos resultados em % do ácido predominante (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A acidez também é uma variável importante, pois os ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade, sendo que alterações por hidrólise, fermentação ou oxidação geralmente alteram o pH e consequentemente a acidez do produto. A acidez total em relação ao conteúdo de açúcar é útil na determinação da maturação da fruta (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A acidez total titulável (ATT) é usualmente determinada por titulometria, com os resultados expressos em mEq/100mL ou em porcentagem do ácido cítrico principal (CHITARRA; CHITARRA, 2005; IAL, 2008).

Os sólidos solúveis (SS) são todas as substâncias sólidas dissolvidas no suco ou polpa das frutas, constituídos principalmente por açúcares que representam aproximadamente 90% dos sólidos solúveis, por vitaminas, ácidos, compostos fenólicos e pectinas. O teor de SS é expresso em grau Brix (ºB) ou quantidade em gramas de SS em 100 mL de solução (suco ou polpa de fruta) (IAL, 2008; OLIVEIRA, 1999).

Os carboidratos são os componentes mais abundantes e largamente distribuídos entre os alimentos. Sua determinação nos alimentos é importante, pois apresentam várias funções tais como nutricional, adoçantes naturais, matéria-prima para produtos fermentados, principal ingrediente dos cereais, propriedades reológicas dos alimentos de origem vegetal e é responsável pela reação de escurecimento em muitos alimentos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A vitamina C ou ácido ascórbico é um dos componentes nutricionais mais importantes, sendo também a mais facilmente degradável de todas as vitaminas. A estabilidade da vitamina C aumenta com a redução da temperatura e as maiores perdas ocorrem durante o aquecimento dos alimentos, é afetada também pela intensidade da luz e conteúdo de umidade. É avaliada por métodos químicos e enzimáticos (SEBASTIANY, 2009).

A dose diária média de vitamina C necessária para prevenir o escorbuto é de 46 mg (ARONSON, 2001) sendo de 60 mg a Ingestão Diária Recomendada (IDR) (ANVISA, 2005), e os valores de referência de Vitamina C para atender às crianças que frequentam creches em tempo integral deve ser de 70% da IDR, correspondendo a 12mg para crianças de um a três anos e 19 mg para crianças de quatro a cinco anos (FNDE, 2013), facilmente atingida com o consumo de frutas e vegetais frescos, mesmo porque no Brasil o consumo de vitamina C sob forma de concentrados vitamínicos ainda é bastante restrito devido aos altos preços, restando para a maioria da população o consumo via alimentos.

A pesquisa de caracteres físico-químicos em refresco é escassa e foi feita por Brum et al. (2014) no município de Barra Mansa, Rio de Janeiro com cinco amostras de refresco de caju e duas de refresco de laranja, em embalagens esterilizadas de 250 mL comercializadas em lanchonetes e padarias. Com relação à acidez titulável 100% dos sucos de caju estavam de acordo com a legislação, mas o mesmo não foi observado para a amostra de suco de laranja (50%). Os valores de pH das amostras de refrescos de caju variaram de 3,47 a 4,70; e as de refresco de laranja, de 3,45 a 4,00.

Oliveira et al. (2005) avaliaram o pH de sete diferentes amostras de refrescos (abacaxi, acerola, cajá, goiaba, manga, maracujá e tamarindo) comercializadas em estabelecimentos de Fortaleza, Ceará e observaram uma variação de 2,83 a 4,94 nas amostras de refrescos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os aspectos citados anteriormente, fica demonstrada a necessidade da realização do presente estudo, onde o tema foi tratado nos capítulos 2 e 3 da presente dissertação.

O Capítulo 2, denominado “Qualidade higiênico-sanitária da salada de alface servida em creches municipais de Cuiabá-Mato Grosso” se apresenta de acordo com as normas para publicação na **“Food Control**”. Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica da salada de alface servida para escolares em creches públicas do município de Cuiabá-Mato Grosso, comparando os resultados obtidos antes e após capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação para elaboração do alimento.

O Capítulo 3, denominado “Qualidade de refrescos de caju e maracujá servidos em creches municipais de Cuiabá-Mato Grosso” se apresenta de acordo com as normas para publicação na **“Caatinga**”. O Objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de refrescos de caju e maracujá servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá-Mato Grosso.

A metodologia utilizada nos capítulos 2 e 3 está detalhada nos apêndices 1 e 2,

.

REFERÊNCIAS

ABREU, M. C.; NUNES, I. F. S.; OLIVEIRA, M. M. A. Perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v.17, n.112, p. 78-81, 2003.

AMBROSONE, C. B.; et al. Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 1134-1138, 2004.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais**. Brasília, 2005.

ARBOS, K. A.; et al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciências e Tecnologia de Alimentos,** v.30, supl. 1, p. 215-220, 2010.

ARONSON, J. K. Forbidden fruit. **Nature Medicine**, v. 7, n. 1, p. 29-30, 2001.

ATHAYDE, A. Sistemas GMP e HACCP garantem produção de alimentos inócuos. **Engenharia de Alimentos,** ano V, n. 23, janeiro/fevereiro. 1999.

BARBOSA, R. M. S.; SOARES, E. A.; LANZILLOTT, H. S. Avaliação da ingestão de Nutrientes de Crianças de Uma creche Filantrópica : Aplicação do Consumo Dietético de referência . **Revista Brasileira de Saude Materno Infantil,** v.7, n.2, p. 159-166, 2007.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. S. A. Efeito do Cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, n.21, cap. 2, p.197-201, maio/agosto. 2001.

BOPP, C. A. et al. *Escherichia, Shigella* and *Salmonella*. In: MURRAY, P.R. et al. **Manual of clinical microbiology**. Washington: ASM, p. 459-474. 1999.

BOSSCHERA, D.; VAN CAILLIE-BERTRANDB, M.; DEELSTRAA, H. Daily dietary fibre intake of children, 2 to 3 years of age, living in Antwerp, Belgium. **Nutrition Research**, v.22, p. 1401-1411, 2002.

BRASIL. Ministério da Educação. Lei nº 9.394/ 1996 de 20 de dezembro de 1996. **Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Estabelece as diretrizes e bases da educação nacional**. Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 544 de 16 de novembro de 1998. **Aprovou os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo, em anexo**. Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01 de 7 de janeiro de 2000. **Aprovou os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa das seguintes frutas: acerola, cacau, cupuaçu, graviola, açaí, maracujá, caju, manga, goiaba, pitanga, uva, mamão, cajá, melão, mangaba, e para suco das seguintes frutas: maracujá, caju, caju alto teor de polpa, caju clarificado ou cajuína, abacaxi, uva, pêra, maçã, limão, lima ácida e laranja, conforme consta do Anexo II desta Instrução Normativa**. Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n° 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01 de 12 de setembro de 2003. **Aprovou o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais para Suco Tropical; os Padrões de Identidade e Qualidade dos Sucos Tropicais de Abacaxi, Acerola, Cajá, Caju, Goiaba, Graviola, Mamão, Manga, Mangaba, Maracujá e Pitanga; e os Padrões de Identidade e Qualidade dos Néctares de Abacaxi, Acerola, Cajá, Caju, Goiaba, Graviola, Mamão, Manga, Maracujá, Pêssego e Pitanga, constantes dos Anexos I, II e III, respectivamente, desta Instrução Normativa.** Brasília, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2005.

BRASIL. Presidência da República. Casa Civil. Lei nº 11.346 de 15 de setembro de 2006. **Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências.** Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.** Brasília, 2009a.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. – FNDE. Resolução/ CD/FNDE nº 38 de 16 de julho de 2009. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE**. Diário Oficial da União. Brasília, 2009b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. – FNDE. Resolução CD/FNDE nº 26 de 17 de junho de 2013. 2013a. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar-PNAE**. Disponível em <http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/item/4620-resolu%C3%A7%C3%A3ocd-fnde-n%C2%BA-26,-de-17-de-junho-de-2013>. Acessado em agosto de/2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 2000-2012.** Brasília: Ministério da Saúde. 2013b. Disponível em: URL: http://portal.saude.gov.br/portal/ arquivos/pdf/dados_dta_periodo_2000_2012_site.pdf

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Novo Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável.** Brasília, 2014. Disponível em http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/05/Guia-Alimentar-para-a-pop-brasiliera-Miolo-PDF-Internet.pdf. Acessado em fevereiro de 2015.

BRITO, C. S.; ROSSI, D. A. Bolores e leveduras, coliformes totais e fecais em sucos de laranja in natura e industrializados não pasteurizados comercializados na cidade de Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 1, p. 133-140, 2005.

BRUM, D. C. M.; et al. Qualidade microbiológica e físico-química de refrescos comercializados nos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda-RJ. **Demetra**; v.9, n.4, p. 943-953, 2014.

BRUNKEN, G. S.; GUIMARÃES, L. V.; FISBERG, M. Anemia em crianças menores de três anos que frequentavam creches públicas em período integral. **Jounal of Pediatry.** 2002; 78:50-6.

CARDOSO R. C. V.; SANTOS S. M. C.; SILVA E. O. Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento. **Ciências e Saúde Coletiva**, v.14, n.4, p. 1215-1224, 2009.

CARDOSO, R. C. V; et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz,** v.69, n.2, p. 208-13, 2010.

CARVALHO, S. P. As delicadas relações entre construção de hábitos e aprendizagem. **Revista Avisa**. 2005. (Edição especial).

CARVALHO, A. T.; MUNIZ, V. M.; SAMICO, I. Programa de alimentação escolar no município de João Pessoa, PB, Brasil: as merendeiras em foco. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, v.12, n.27, p.823-34, outubro/dezembro. 2008.

CASTRO, M. V. et al Análise química, físico-química e microbiológica de sucos de fruta industrializados. **Diálogos & Ciência**, ano v, n.12, dezembro. 2007.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: **fisiologia e manuseio**. 2ª ed. Revisada e Ampliada. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COELHO, L. P. S.; OLIVEIRA, S. M.; MILMAN, M. H. A. Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.5, p. 479-482, 2001.

COSTA, R. A. et al. Análise bacteriológica de merenda escolar servida em um colégio estadual de Sobral, Ceará. **Higiene Alimentar, v.22, n.** 166/167, p. 138-41, 2008.

CUNHA, D. T.; STEDEFELDT, E.; ROSSO, V. V. Perceived risk of foodborne disease by school food handlers and principals: the importance of frequent training. **Journal Food Safety,** v. 32, p. 219-225, 2012.

DANTAS, R. L.; et al. Perfil da qualidade de polpas de fruta comercializadas na cidade de Campina Grande/PB. **Revista Verde**, v.5, n.5, p. 61–66, 2010.

D'AOUST, J. Y. Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. **International Journal of Food Microbiology.**, v.12, n.1, p.17-40, 1991.

EKPERIGIM, H. E.; NAGAJARA, K. V. Microbial foodborne pathogens. *Salmonella*. The **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.14, n.1, p.17-29, 1998.

EVANGELISTA, J. E. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 664p.

FAÇANHA, S. H. F.; et al. Avaliação da garantia da qualidade higiênico-sanitária do programa de alimentação escolar da cidade de Sobral, CE. **Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p.54-58, 2002.

FERNANDES, A. A.; et al. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface em hidropônia, em função de fontes de nutrientes. **Revista Horticultura Brasileira**, v.20, n. 2, p. 195-200, 2002.

FNDE. Fundo Nacional do Desenvolvimento da Educação. Programa Nacional de Alimentação Escolar. 2011. **Composição nutricional da alimentação escolar no Brasil: uma análise a partir de uma amostra de cardápios. Disponível em <**http://www.fnde.gov.br/programas/alimentacao-escolar/alimentacao-escolar-material-de-divulgacao/pesquisas>. Acessado em março de 2015.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - FNDE. 2013a. Resolução CD/FNDE nº 26 de 17 de junho de 2013. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar - PNAE**. Disponível em <http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/item/4620-resolu%C3%A7%C3%A3ocd-fnde-n%C2%BA-26,-de-17-de-junho-de-2013>. Acessado em agosto de/2014.

FNDE. Fundo Nacional do Desenvolvimento da Educação. Programa Nacional de Alimentação Escolar. 2014. **Dados estatísticos de 2014**. Disponível em <http://www.fnde.gov.br/programas/alimentacao-escolar/alimentacao-escolar-consultas/alimentacao-escolar-dados-estatisticos> Acessado em maio de 2015.

FNDE. Fundo Nacional do Desenvolvimento da Educação. Programa Nacional de Alimentação Escolar. 2015. **Consultas: Alunado por ação do Programa Nacional de Alimentação Escolar.** Disponível em <https://www.fnde.gov.br/pnaeweb/publico/relatorioDelegacaoEstadual.do>. Acessado em maio de 2015.]

FONTAINE, R. E. ; et al. Epidemic salmonellosis from cheddar cheese: surveillance and prevention. **American Journal of Epidemiology**, v.111, p.247-253, 1980.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

FUZIHARA, T. O. et al. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughtering. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 12, p. 1749-1753, 2000.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. 284p.

GARCIA, R. C. G.; et al. Qualidade microbiológica de sucos in natura comercializados na cidade de Juazeiro do Norte-CE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.6, n.1, p. 665-670, 2012.
GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos.** 4ª ed. São Paulo: Varela, 2002. 629p.

GOMES N. A. A. A; CAMPOS, M. R. H; MONEGO, E. T. Aspectos higiênico-sanitários no processo produtivo dos alimentos em escolas públicas do Estado de Goiás, Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 25, n.4, p.473-485, julho/agosto. 2012.

GREENWOOD, M. H.; HOOPER, W. L. Chocolate bars contaminated with *Salmonella napoli*: an infective study**. British Journal of Medicine,** v.122, p.286-1394, 1983.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. **Tipos de alface cultivados no Brasil. Comunicado Técnico da Embrapa**. Brasília, Novembro, 2009. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2009/cot_75.pdf> Acessado em abril de 2015.

HOFFMANN, F. L.; et al. Qualidade microbiológica de diferentes marcas comerciais de suco fresco de laranja integral. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.16, n.1, 1998. Disponível em: <www.dx.doi.org/10.5380/cep.v16i1.13942> Acessado em maio de 2015.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4ª ed., 1ª ed. Digital. São Paulo: 2008. 1002 p.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 7, p.138-161, 2010.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

KAPPERUD, G.; et al. Outbreak of *Salmonella* Typhimurium infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60 megadalton virulence plasmid. **Journal of Clinical Microbioly,** v.28, n.12, p.2579-2601, 1990.

KINDE, H.; et al. Prevalence of *Salmonella* in municipal sewage treatment plant effluents in southern California. **Avian Diseases,** v. 41, n. 2, p. 392-398, 1997.

KONEMAN, W. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas colorido.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008. 1565 p.

LEITÃO, M. F. F**.** Microbiologia de sucos, polpas e produtos ácidos. In: SOLER, M. P. et al. **Industrialização de frutas.** (Manual Técnico n.8). Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1991. p. 3352.

LIMA, A. F. A; CUNHA, D. T; STEDEFELD, E. Avaliação do risco sanitário em unidades de alimentação e nutrição escolar da baixada santista, SP. **Higiene Alimentar,** v.27, n. 218-219, março/abril.2013.

MARLETT, J.; MCBURNEY, M.; SLAVIN, J. Position of the American Dietetic Association. Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics,** v.102, cap. 7, p. 993–1000, julho. 2002. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90228-2> Acessado em maio de 2015.

MARTINS, C. A. **Alimente-se bem 50 receitas nutritivas com cereais e leguminosos**. São Paulo: Ed. SESI/SENAI. 2003. 41 p.

MELO, E. A.; et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.3, p. 639-644, setembro. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000300024> Acessado em maio de 2015.

MELLO, C. A. **Qualidade microbiológica do Brycon microleps (Piraputanga) capturado na bacia do rio Cuiabá e do cultivo no Estado do Mato Grosso.** Dissertação (Doutorado). UFRPE. 2008. 113p.

MENEGAZZO, M.; et al. Avaliação qualitativa das preparações do cardápio de centros de educação infantil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.24, n.2, p. 243-251, março/abril. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília: Ministério da Saúde, 2ª ed., 2014. 156 p.

MOMM, N; HÖFELMANN, D. A. Qualidade da dieta e fatores associados em crianças matriculadas em uma escola municipal de Itajaí, Santa Catarina. **Caderno de Saúde Coletiva,** v. 22, n. 1, p. 32-39, 2014.

NASCIMENTO, C. R.; et al. Avaliação da qualidade de polpas de frutos industrializadas e comercializadas no município de Boa Vista, RR. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 6, n.3, p.263-267, setembro/dezembro. 2012.

NESTI, M. M. M.; GOLDBAUM, M. Infectious diseases and daycare and preschool education. **Jornal de Pediatria**, v.83, n.4, p. 299-312, 2007.

OLIVEIRA, A. B. A. Instrumento de avaliação das Boas Práticas em unidades de alimentação e nutrição escolar: da concepção à validação. **Ciência & Saúde Coletiva,** n.18, v.4, p, 947-953, 2013.

OLIVEIRA, M. A. **Avaliação da segurança microbiológica em hortaliças minimamente processadas, pela enumeração de micro-organismos indicadores, *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* por métodos convencionais e aplicação da PCR em tempo real na quantificação de *Listeria monocytogenes*.** 139 p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, 2008.

OLIVEIRA, J. C.; et al. Características microbiológicas do suco de laranja *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 241-245. 2006.

OLIVEIRA, K. P.; et al. Avaliação da qualidade sanitária de refrescos de frutas comercializados em lanchonetes de um *campus* universitário em Fortaleza/CE. **IN**: X Semana Universitária da UECE. 2005.

OLIVEIRA, M. E. B. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.3, Setembro/dezembro. 1999.

OLIVEIRA, M. N.; BRASIL, A. L. D.; TADDEI, J. A. A. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.13, n.3, p.1051-1060, junho. 2008.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE**. Estadisticas sanitárias mundiales.** 2012**.** 178 p. Disponível em: **<**http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/> Acessado em maio de 2015.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos – volume 1: componentes dos alimentos e processos.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.

PASSOS, E. C. Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.1,p.136-140, 2010.

PEDRAZA, D. F.; QUEIROZ, D.; SALES, M. C. Doenças infecciosas em crianças pré-escolares brasileiras assistidas em creches. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.19, n.2, p. 511-528, 2014. Disponível em < http://www.scielosp.org/pdf/csc/v19n2/1413-8123-csc-19-02-00511.pdf> Acessado em maio de 2015.

PILÓ, F. B. **Caracterização microbiológica e físico-química de Refrescos comercializados em belo horizonte, Minas Gerais.** Dissertação apresentada ao

Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas – UFMG. 2010. Não paginado.

PINHEIRO, A. M. ; et al. Avaliação química, físico-química e microbiológica de suco de frutas integrais : abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.16, n.1, p.98-103, 2006.
RUSCHEL, C. K.; et al. Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre/RS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.21, n.1, p. 94-97, janeiro/abril. 2001.

SANTANA, N. G**. Avaliação do perfil higiênico-sanitário e adoção de Boas Práticas de Produção no preparo da merenda em escolas municipais de Salvador-Bahia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, 2004.

SANTANA, L. R. R.; et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 2, n. 26, p. 264-269, abril/junho. 2006.

SANTOS, M. A. T. **Caracterização química das folhas de brócoli e couve-flor (*Brassica oleracea L.*) para utilização na alimentação humana**. 2000. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.4, p.913-915, 2008.

SANTOS, D. P; BARROS, B. C. V. Perfil higiênico sanitário de polpas de frutas produzidas em comunidade rural e oferecidas à alimentação escolar. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 6, n. 2, p. 747-756, 2012.

SANTOS, J.; RIBEIRO, G. A. Avaliação microbiológica de sucos de laranja “in natura”, comercializados na cidade de Pelotas, RS. **Higiene Alimentar**, v. 20, n.138, p. 104-107, 2006.

SAURESSIG, D. Alface, a rainha da salada. **Revista Agranja.com**, 720 ed, n. 12, 2008. Disponível em: <http://www.edcentaurus.com.br/materias/granja.php?id=1850 ,> Acessado em maio de 2015.

SBP. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Obesidade na infância e adolescência – Manual de Orientação.** Departamento Científico de Nutrologia. São Paulo: SBP, 2ª. Ed., 2012. 142 p.

SEBASTIANY, E.; REGO, E R.; VITAL, M. J. S. Qualidade microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2 p. 224-231, 2009.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.317 p.

SILVA, C.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Condições higiênico-sanitárias dos locais de preparação da merenda escolar, da rede estadual de ensino em São Paulo**. Higiene Alimentar,** v.110, n.17, p.49-55, julho. 2003.

SILVA BRAIL, A. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Cuiabá-MT**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, 2014. 57 p.

SILVA, M. V.; STURION, G. L. Frequência a creche e outros condicionantes do estado nutricional infantil. **Revista de Nutrição**, v.11, n.1, p. 58-68, 1998.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Qualidade de suco de laranja *in natura*. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 461-466, julho/setembro de 2012.

SIQUEIRA, R. S., BORGES, M. F. **Microbiologia de frutas e produtos derivados.** In: TORREZAN, R. (Coord.). Curso de processamento de frutas. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA, 1997. p. 213.

SOARES, B. ; CANTOS, G. A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.3, julho/setembro. 2006.

SOLOMON, E B.; YARON, S.; MATTHEWS, K. R. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tssue and Its subsequent internalization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.1, p. 397-400, janeiro de 2002.

SOUZA, A. P. F.; MARTINS, C. M.; BADARÓ, A. C. L. Análise das características microbiológicas do suco de manga comercializado em Ipatinga- MG, em relação aos diferentes tipos de embalagens. **Nutrir Gerais:Revista Digital de Nutrição**, v.3,n.4, p.299-311, 2009.

SOUZA, A. L. T. M; CHITARRA, G. S.; NETO, J.V. **Análise físico-química e microbiológica de carne de jacaré do Pantanal (Caiman yacare), comercializada no município de Cuiabá-MT**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, 2014. 70p.

STEPHENSON, J. Public health experts take aim at a moving target: food borne infections. **Journal of the American Medical Association**, v. 277, n. 2, p. 97-98, 1997.

SUGAR, D. et al. Integration of cultural methods with yeast treatment for control of postharvest fruit decay in pear. **Plant Disease**, v.78, n.7, p.791-795, 1994.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. **T113 Versão II.** Campinas: NEPA-UNICAMP, 2ª ed., 2006. 113p. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf> Acessado em maio de 2015.

TAKAYANAGUI, O. M.; et al. Fiscalização de hortas produtoras de verduras no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, p.169-174, 2000.

TAKAYANAGUI, O. M.; et al. Analysis of the vegetable productive chain in Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** v.39, n. 2, p. 224-226, março/abril. 2006.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos - ocorrência e detecção**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001, 82 p.

TEO, C. R. P. A.; et al. Programa Nacional de Alimentação Escolar: adesão, aceitação e condições de distribuição de alimentação na escola. **Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 34, n. 3, p. 165-185, dezembro. 2009.

TESSARI, E. N. C. ; et al. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industriamente processadas. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 107, p.52-55, 2003.

TOURNAS, V. H.; KATSOUDAS, E. Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 11-17, 2005.

TRABULSI, L R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.

UBOLDI EIROA, M. N. Microrganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3/4, p. 141-160, 1989.

VASCONCELOS, F. A. G.; et al. **Manual de orientação para a alimentação escolar na educação infantil, ensino fundamental, ensino médio e na educação de jovens e adultos.** Brasília: PNAE/CECANE, 2ª ed., 2012a, 48 p.

VASCONCELOS, F. A. G.; et al. **O Papel do nutricionista no Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE)**. Brasília: PNAE/CECANE- SC, 2012b. 38 p.

VIEIRA, R. H. S. S. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. Teoria e prática.** São Paulo: Varela, 2004. 380 p.

WILLIAMS, C. L. Importance of dietary fiber in childhood. **Journal of the American Dietetic Association**, v.95, n.10, p.1140-1149, outubro. 1995.

CAPITULO 2: ARTIGO CIENTIFICO

Qualidade higiênico-sanitária da salada de alface servida em creches municipais de Cuiabá - Mato Grosso, Brasil

Melissa Schirmer[1], Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria[2], Nágela Farias Magave Picanço[3]

Resumo

A alimentação fornecida nas creches deve ter qualidade sanitária e nutricional a fim de promover a saúde intelectual e física da criança, portanto, a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação é fundamental para assegurar a inocuidade dos alimentos preparados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de saladas de alface consumidas pelos escolares de creches públicas do município de Cuiabá, Mato Grosso. O estudo foi realizado entre maio e agosto de 2014, com coletas feitas em duas fases distintas: antes e após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, realizada pelos nutricionistas da Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá, conforme rotina do calendário escolar. Foram coletadas 30 amostras *in natura* (aquelas que não passaram pelo processo de higienização, representando a amostra proveniente do fornecedor) para a Pesquisa de *Salmonella* spp. e 240 preparadas (saladas prontas para o consumo) para a Pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de coliformes termotolerantes. O gênero *Salmonella* não foi evidenciado e observou-se que, antes da capacitação, houve contaminação em 54% dos lotes de saladas de alface por coliformes termotolerantes, e após a capacitação 100% dos lotes foram considerados sanitariamente satisfatórios, comprovando que a capacitação e a correção na higienização e procedimentos operacionais das técnicas em nutrição escolar foram capazes de reduzir a contaminação.

Palavras-chave: qualidade microbiológica; alface; alimentação escolar; boas práticas

Sanitary conditions of lettuce salad served in day care centers in Cuiabá municipals - Mato Grosso, Brazil

Abstract

The meals offered in day care centers should have health and nutritional quality in order to promote intellectual and physical health of the child, therefore the capacitation of the technical school nutrition in the Good Handling Practices is essential to ensure the safety of prepared food.

This study aimed to evaluate the microbiological quality of lettuce salads consumed by children attending public daycare centers in the municipality of Cuiabá, Mato Grosso. The study was conducted between May and August 2014, with collections made in two

phases: before and after the training of the technical staff of the school nutrition team on Good Handling Practices, conducted by nutritionists from Coordination Office of the School Nutrition of Cuiabá Municipal according to the routine school calendar. Thirty (30) samples were collected in natura (those that have not gone through the process of sanitization, representing the sample from the supplier) for detection of *Salmonella* spp. and 240 (prepared salads ready for consumption) also for detection of *Salmonella* spp. and total count of thermotolerant coliforms. *Salmonella* genus was not detected, but contamination by thermotolerant coliforms was observed in 54% of the lettuce salads before the capacitation, but 100% of the lots were considered sanitarily satisfactory, thus showing that the training and correction on hygiene and operational procedures of the technical team of the school nutrition were able to reduce contamination

Keywords: microbial quality; lettuce; school meals; good practices

Autor para correspondência.

[1] Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. IFMT *campus* Cuiabá-Bela Vista, Mato Grosso, Brasil., nutrição.melissa@gmail.com

[2] Doutora em Agricultura Tropical, Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, IFMT *campus* Cuiabá-Bela Vista, CEP 78050-560, Mato Grosso, Brasil., rozilaine.faria@blv.ifmt.edu.br

[3] Doutora em Agronomia, Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, IFMT, CEP 78050-560, Mato Grosso, Brasil., nagela.picanco@blv.ifmt.edu.br

1. Introdução

No Brasil, a educação infantil é a primeira etapa da educação básica e visa ao desenvolvimento integral da criança até os seis anos de idade em seus aspectos físico, psicológico, intelectual e social, complementando as ações da família e da comunidade. É oferecida em creches ou entidades equivalentes para crianças de até três anos de idade e em pré-escolas para as crianças de quatro a seis anos de idade (Brasil, 1996).

Uma das responsabilidades da creche é a alimentação da criança, considerada uma estratégia para o alcance da Segurança Alimentar e Nutricional, definida como o direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras da saúde que respeitem a diversidade cultural e que seja ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentável (Brasil, 2006).

A alimentação fornecida à criança deve ter qualidade sanitária e nutricional, para que a mesma possa se desenvolver com saúde intelectual e física, com menor risco de aparecimento de distúrbios e deficiências nutricionais (Oliveira, 2008).

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) é considerado um dos maiores programas na área de alimentação escolar no mundo e é o único com

atendimento universalizado, tendo como intuito atender às necessidades nutricionais dos escolares durante o período letivo, contribuindo para o crescimento e o desenvolvimento biopsicossocial, para a aprendizagem e o rendimento escolar dos estudantes, bem como promover a formação de hábitos alimentares saudáveis (Brasil, 2009; Brasil, 2013a; FNDE, 2014).

De acordo com o relatório de alunado atendido pelo FNDE (2015), a Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá, capital de Mato Grosso, recebeu neste ano recursos para atender 51.587 alunos, sendo 7.987 alunos de creches da rede municipal ou creches filantrópicas e entidades comunitárias conveniadas com a prefeitura que recebem ajuda por meio da transferência de recursos financeiros.

Ainda que os objetivos do PNAE sejam relevantes sob o ponto de vista nutricional, muitas das Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) onde a alimentação escolar é preparada e distribuída não apresentam condições adequadas para a realização das atividades de produção de refeições. Portanto, a qualidade da alimentação escolar deve envolver não apenas os aspectos nutricionais, mas também a inocuidade, ou seja, o atendimento aos requisitos sanitários para proteção e promoção da saúde dos escolares. Cardoso et al., 2010; Brasil, 2006).

Os alimentos consumidos nas escolas e creches podem veicular Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), originárias da matéria-prima e do alimento preparado, por este motivo é fundamental a capacitação dos manipuladores de alimentos nas Boas Práticas que asseguram a qualidade e a inocuidade dos alimentos preparados (Cardoso et al., 2010; Oliveira, 2013; Oliveira et al., 2008).

No Brasil, no período de 2000 a 2012 foram notificados 8.862 surtos, e destes 53% ocorreram em serviços de alimentação (restaurantes, padarias e similares), 39% nas residências e 724 casos (8%) notificados em creches, sendo os alimentos mais envolvidos os de preparação mista, ovos e produtos à base de ovos, água, doces e sobremesas (BRASIL, 2013b). No entanto, as hortaliças frescas, em especial alface, também têm sido identificadas como veículos importantes de patógenos relevantes em saúde pública, incluindo a *Escherichia coli* O157:H7 (Solomon et al., 2002).

O controle da qualidade e da inocuidade da alimentação servida aos escolares pode ser feito através de analises microbiológicas de equipamentos, instalações,

utensílios, matérias-primas e alimentos preparados, servindo como suporte para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos procedimentos e manipuladores (Cunha et al, 2012; Oliveira.,2013).

Os cardápios da alimentação infantil devem ser ricos em vitaminas, minerais e fibras alimentares, sendo suas principais fontes as saladas de vegetais, cujo consumo é um fator protetor contra o desenvolvimento da obesidade, devido à menor densidade energética desses alimentos e à sua capacidade de gerar sensação de saciedade, em decorrência da atuação das fibras alimentares. (Brasil, 2014; SBP, 2012).

Existem inúmeras variedades de saladas, principalmente à base de vegetais crus, normalmente com folhas verdes, por exemplo, de alface, agrião, chicória, ou outras e tomate, rabanetes, pepino. No Brasil, a alface (*Lactuca sativa*) é a folhosa mais popular consumida nas saladas, tem variados cultivares e é produzida em todas as regiões (Henz & Suinaga, 2009; Saueressig, 2008); e seu baixo valor calórico a qualifica para diversas dietas, o que favorece o seu consumo sob a forma crua, possibilitando a ocorrência de enfermidades intestinais (Santana et al., 2006).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica da salada de alface servida para escolares em creches públicas do município de Cuiabá - Mato Grosso, comparando os resultados apresentados antes e após capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas para elaboração do alimento.

2. Material e Métodos

O estudo foi realizado entre os meses de maio e agosto de 2014 em oito creches (denominadas C1 a C8) municipais de Cuiabá, Mato Grosso, atendidas pelo PNAE e localizadas na região urbana da cidade.

O período do estudo abrangeu duas fases distintas: antes e depois da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas para elaboração do alimento, realizada pelos nutricionistas da Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá, conforme rotina do calendário escolar. A capacitação abordou a adequada conduta a ser adotada em todas as fases de preparo da alimentação, incluindo a recepção da matéria-prima; lavagem e desinfecção de alimentos, instalações e utensílios;

acondicionamento, refrigeração, manipulação e oferta dos alimentos aos escolares; incluindo ainda a paramentação e hábitos higiênicos durante o trabalho.

As creches que participaram do estudo estão localizadas na Região Leste que ocupa a área urbana central do município de Cuiabá, e comportam o maior número de alunos no município – 33% (Cuiabá, 2010; FNDE, 2015).

As creches escolhidas foram aquelas sem lactário, localizadas na área urbana da cidade e com sede própria. A fim de garantir a confiabilidade dos dados, para o cálculo amostral do número de creches participantes da pesquisa levou-se em consideração o valor oito como grau de liberdade do resíduo.

As amostras foram classificadas em amostras *in natura* (alfaces que não passaram pelo processo de higienização, representando a amostra proveniente do fornecedor) e amostras preparadas (10 folhas grandes com aproximadamente 25 g da alface de saladas prontas para o consumo das crianças nas creches).

Foram coletadas, aleatoriamente, cinco amostras *in natura* de “pé” ou “toceira” da alface do mesmo lote distribuído para as creches para a produção da salada, com três repetições antes e três repetições após a capacitação das técnicas em nutrição escolar, totalizando 30 amostras *in natura*. A coleta ocorreu conforme a programação de entrega do fornecedor para atender à programação do cardápio, semanalmente, às segundas-feiras no período da manhã, no Centro de Distribuição da Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá.

Do mesmo lote das amostras *in natura* foram coletadas cinco amostras preparadas de cada uma das oito creches, com três repetições antes e três repetições após a capacitação, totalizando 240 amostras preparadas.

A coleta das amostras preparadas foi feita após a rotina de lavagem individual das folhas para preparo da salada para os escolares. As folhas lavadas foram acondicionadas temporariamente em um vasilhame e, após misturadas, foram separadas e coletadas 10 folhas sem tempero e sem sal. Após acondicionadas individualmente em embalagem de polietileno de primeiro uso, foram identificadas e, a seguir, enviadas em caixas isotérmicas com gelo em gel ao laboratório para as análises microbiológicas.

Os resultados foram apresentados segundo plano de amostragem e padrões especificados na legislação RDC nº 12 da ANVISA (Brasil, 2001), e os lotes classificados em Condições Sanitárias Satisfatórias (CSS) e Condições Sanitárias

Insatisfatórias (CSI), comparando-os entre as creches e as duas fases: antes e após a capacitação das técnicas em nutrição escolar.

Para fins de entendimento do plano de amostragem entende-se: **n:** número de unidades de amostras a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote para serem analisadas individualmente, **m:** padrão microbiológico estabelecido para um dado microrganismo, num dado alimento, **M:** é um limite tolerável, acima do padrão, que pode ser atingido por algumas (c) unidades de amostra, mas não pode ser ultrapassado por nenhuma e **c:** é o número máximo de unidades que podem ser aceitas com contagens acima do padrão m, desde que não acima do limite **M**.

3. Resultados e Discussão

Com relação ao NMP de coliformes termotolerantes das amostras preparadas, podemos observar que antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação (Tabela 1) 54% dos lotes apresentaram contagem superior à tolerância na amostra representativa que é de n=5 c=2 m=10 e $M=10^2$ (Brasil, 2001) e foram classificados como lotes em Condições Sanitárias Insatisfatórias (CSI), e apenas 12,5% apresentaram todas as repetições em Condições Sanitárias Satisfatórias (CSS). Das creches, 25% apresentaram contaminação em 100% das amostras de salada de alface; 25% apresentaram contaminação em 67% das amostras; e 37,5% apresentaram contaminação em apenas 33% das amostras.

Tabela 1 - Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá, antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes.

CRECHE	REP 1		REP 2		REP 3		TOTAL	
	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)
C1	100	-	100	-	-	100	67	33
C2	100	-	-	100	-	100	33	67
C3	-	100	-	100	-	100	-	100
C4	-	100	-	100	-	100	-	100
C5	-	100	100	-	-	100	33	67
C6	-	100	100	-	100	-	67	33
C7	100	-	-	100	100	-	67	33
C8	100	-	100	-	100	-	100	-
TOTAL	**50**	**50**	**50**	**50**	**37,5**	**62,5**	**46**	**54**

Legenda: REP (Repetição), CSS (Condições Sanitárias Satisfatórias), CSI (Condições Sanitárias Insatisfatórias)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC n° 12 (Brasil, 2001) determina os padrões microbiológicos para alimentos destinados ao consumo humano no Brasil. As bactérias sobre as quais esta legislação estabelece limites, quase sempre não alteram a aparência do alimento, estando a razão de suas limitações relacionada à sua patogenicidade ao homem e não à deterioração dos produtos (Vieira, 2004).

De acordo com esta Resolução (Brasil, 2001) para hortaliças frescas *in natura*, inteiras, selecionadas ou não, deve ser realizada somente a pesquisa de *Salmonella* spp., cuja tolerância para amostra indicativa é de "ausência" e para amostra representativa é de n=5 c=0 e m=ausência.

Já para as hortaliças frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto preconiza-se além da pesquisa de *Salmonella* spp. (com tolerância para amostra indicativa de "ausência" e para amostra representativa de n=5 c=0 e m=ausência), a contagem de coliformes termotolerantes. com tolerância para amostra indicativa de 10^2 e para amostra representativa de n=5 c=2 m=10 e M=10^2.

Com relação à contagem de coliformes termotolerantes, após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, todas as amostras de

salada coletadas nas creches estiveram em CSS (Tabela 2), ou seja, isentas de contaminação por estes micro-organismos conforme Brasil (2001).

Tabela 2 - Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá, após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes

CRECHE	REP 1		REP 2		REP 3		TOTAL	
	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI N(%)
C1	100	-	100	-	100	-	100	-
C2	100	-	100	-	100	-	100	-
C3	100	-	100	-	100	-	100	-
C4	100	-	100	-	100	-	100	-
C5	100	-	100	-	100	-	100	-
C6	100	-	100	-	100	-	100	-
C7	100	-	100	-	100	-	100	-
C8	100	-	100	-	100	-	100	-
TOTAL	100	-	100	-	100	-	100	-

Legenda: REP (Repetição), CSS (Condições Sanitárias Satisfatórias), CSI (Condições Sanitárias Insatisfatórias)

Segundo Silva et al. (2001) alguns gêneros do grupo coliformes termotolerantes não são de origem fecal, no entanto, pela alta prevalência de *Escherichia coli* neste grupo, a análise é utilizada como indicadora da presença de enteropatógenos nas amostras, já que segundo Brasil (2001) *E. coli* é um micro-organismo que tem como *habitat* exclusivamente as fezes humanas e de animais de sangue quente.

A presença de coliformes termotolerantes em 54% dos lotes antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação assegura que as condições de higiene destas creches estiveram deficientes nesta fase do estudo, já que estes são facilmente inativados pelos sanitizantes (Berbari et al., 2001; Brasil, 2004).

Pode-se associar a presença de coliformes termotolerantes nestes vegetais não apenas à contaminação fecal da água utilizada no cultivo das mesmas, mas também ao transporte e manuseio, processamento e utensílios que, ocasionalmente contaminados, tenham entrado em contato com material fecal (Takayanagui et al., 2006).

Todas as pessoas envolvidas na produção de alimentos necessitam de conhecimentos relativos aos cuidados higiênicos, às condições operacionais e ao preparo da alimentação, por meio de programas eficazes e permanentes de treinamento.

Os manipuladores devem ser cientes dos riscos mínimos aos alimentos, da conduta adequada durante as operações, do ideal estado de saúde para trabalho e fundamentalmente, devem ser supervisionados (Brasil, 2004).

Oliveira, A. (2013) aponta que os principais problemas das UAN estão relacionados a recursos humanos desqualificados, deficiência de treinamentos e de supervisão continuada. Investimentos na capacitação de recursos humanos, por meio de treinamento e supervisão, têm menor custo e maior facilidade de aplicação que reformas e melhorias da estrutura física, uma vez que estas dependem, com maior intensidade, do poder de decisão hierárquica superior e de investimentos financeiros.

Manipuladores e pessoas da gerência devem ter perfeito treinamento nas Boas Práticas e conhecimentos dos procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação visando à garantia da qualidade higiênico-sanitária e à conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. No Brasil estas práticas aplicadas em serviços de alimentação são legisladas pela Resolução RDC n° 216 de 15 de setembro de 2004 (Brasil, 2004).

Hortaliças frescas, em especial alface, têm sido identificadas como veículos importantes de patógenos relevantes em saúde pública, incluindo a *Escherichia coli* O157:H7 (Solomon, 2002), o que torna fundamental as Boas Práticas de Manipulação no preparo destes alimentos.

No Brasil o conhecimento da poluição fecal em hortaliças, especialmente alfaces, data da década de 40, quando alguns pesquisadores encontraram *Escherichia coli* em 29,3% de 252 amostras de diversas hortaliças pesquisadas. No final da década de 70 estudos já apontavam alta contaminação fecal em 54% das amostras de hortaliças, coletadas em São Paulo (Berbari et al., 2001).

Algumas espécies de coliformes termotolerantes podem ser altamente patogênicas, desta forma, os escolares que consumiram as saladas de alface em CSI foram expostos ao risco de toxiinfecção alimentar (Passos, 2010; Paula et al., 2003), semelhante ao surto investigado por Passos et al. (2010) onde funcionários de uma empresa foram acometidos após consumirem salada de alface com queijo servida no restaurante com alta contagem de coliformes termotolerantes originada da manipulação inadequada das hortaliças pelos funcionários.

Os resultados encontrados corroboram a afirmativa de Cardoso et al. (2010), Oliveira (2013) e Oliveira et al. (2008) de que os alimentos consumidos nas escolas e creches podem ser capazes de veicular patógenos causadores de DTA, sendo fundamental a capacitação dos manipuladores de alimentos em Boas Práticas de Manipulação, a fim de assegurarem a qualidade e a inocuidade dos alimentos preparados.

Todos os manipuladores envolvidos na produção de alimentos necessitam de conhecimentos relativos aos cuidados higiênicos, às condições operacionais e ao preparo da alimentação, por meio de programas eficazes e permanentes de treinamento que os tornem cientes dos riscos mínimos aos alimentos, da conduta adequada durante as operações, do ideal estado de saúde para trabalho e fundamentalmente, devem ser supervisionados (Brasil, 2004). Esta afirmativa fica explícita quando comparada à contagem de coliformes termotolerantes antes e após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, comprovando que o treinamento e a correção dos hábitos higiênicos e dos procedimentos operacionais das técnicas em nutrição escolar foram capazes de reduzir a contaminação das saladas de alface (Brasil, 2004; Cardoso et al., 2010; Lima et al., 2013; Oliveira et al., 2008; Oliveira.,2013).

Diante dos fatos, pode-se concordar que ações que visam assegurar uma alimentação segura do ponto de vista higiênico-sanitário e nutricional foram estimuladas com o presente estudo e contribuíram com a saúde, manutenção e crescimento dos escolares, conforme orienta o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (Brasil, 2006).

A lavagem dos vegetais é a prática mais comum para a obtenção de um produto mais seguro, desde que seja feita com água de boa qualidade, caso contrário, a água passa a ser fonte de contaminação primária no preparo do alimento. A eficácia da operação de lavagem, entretanto, pode ser aumentada com a inclusão de antimicrobianos ou desinfetantes nessa água de lavagem, reduzindo a carga microbiana inicial naturalmente presente nesse tipo de produto (Berbari et al., 2001).

Considerando-se que a lavagem e a desinfecção da alface fizeram parte da capacitação (Brasil, 2004) e sendo as mesmas um ponto crítico de controle em uma UAN (Berbari et al., 2001), pode-se associá-la à eliminação da contaminação das amostras após a capacitação das Técnicas em Nutrição Escolar.

Para as amostras *in natura*, sem higienização, foi feita apenas a pesquisa de *Salmonella* spp. de acordo com a Resolução nº 12 (Brasil, 2001), e todas as amostras estiveram em CSS, ou seja, nenhuma das amostras avaliadas foi positiva para *Salmonella* spp. antes e também após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação.

Os resultados da Pesquisa de *Salmonella* spp. das amostras preparadas antes e após a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação estão discriminados na Tabela 3, e pode-se observar que todas as amostras analisadas apresentaram ausência de *Salmonella* spp. em 25 g da amostra, portanto, com relação a este micro-organismo, as amostras se classificaram em CSS (Brasil, 2001).

Tabela 3 - Condições sanitárias de amostras preparadas (salada de alface) consumidas em creches municipais de Cuiabá antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação, com relação à Pesquisa de *Salmonella* spp.

CRECHE	**ANTES DA CAPACITAÇÃO**			**APÓS CAPACITAÇÃO**		
	REP 1	REP 2	REP 3	REP 1	REP 2	REP 3
C1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C4	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C6	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C7	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C8	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Legenda: REP (Repetição); Ausente (ausência em 25g).

Em diversos países, inclusive Brasil, a *Salmonella* é reconhecida como agente causador de doenças há muitos anos, e é considerada a principal causa de doença entérica de origem bacteriana no homem, sendo responsável por grandes surtos, principalmente em consequência da ingestão de produtos de origem alimentar (Jay, 2005), mas também já tendo sido isolada de produtos de origem vegetal (Oliveira, 2008).

Pelo fato de *Salmonella* spp. se originarem do trato gastrintestinal de animais de sangue quente e frio e desta forma virem a contaminar a água e os alimentos, pode-se

presumir que não houve o risco de infecção pelo agente pela sua ausência nas amostras de alface (Koneman, 2008; Oliveira, 2008).

A *Salmonella* é uma bactéria que pode ter seu desenvolvimento inibido pela presença de outros micro-organismos como bolores, leveduras e coliformes, portanto a presença desta bactéria pode ser mascarada pela menor capacidade de competição desta espécie em relação aos demais. E ainda, um resultado falso negativo pode ser consequência de as cepas estarem numa fase não própria para cultura, sendo necessário o uso de técnicas especiais para sua detecção (Vieira, 2004). Resultado contrário foi identificado por Souza et al. (2014) ao pesquisarem a presença de *Salmonella* em carne de jacaré pela técnica de PCR encontraram resultado negativo em uma das amostras consideradas positivas pelo método convencional.

4. Conclusão

A qualidade microbiológica das saladas de alface servida nas creches foi considerada em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias antes da capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação. No entanto, após a capacitação não houve contaminação, comprovando que o treinamento e a correção na higienização e procedimentos operacionais foram capazes de garantir oferta de alimentação de qualidade para crianças atendidas pelas creches. Sugere-se o monitoramento constante da qualidade dos alimentos e da aplicação de Boas Práticas nas UAN escolares.

Ações que visam assegurar uma alimentação segura do ponto de vista higiênico-sanitário e nutricional foram estimuladas e contribuíram com a saúde, manutenção e crescimento dos escolares.

5.Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) campus Cuiabá - Bela Vista, pelo auxílio à pesquisa; ao CNPq com apoio bolsa PIBITI, aos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Bromatologia da Universidade de Cuiabá (UNIC), pela parceria nas análises microbiológicas e físico-químicas da pesquisa; à Coordenadoria de Alimentação Escolar da Prefeitura Municipal de Cuiabá, por ceder o espaço para a pesquisa e contribuir com a doação dos produtos para as análises e aos acadêmicos de Nutrição e Farmácia da Universidade de Cuiabá e alunos

de Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso, pelo voluntariado na pesquisa.

6. Referências

Berbari, S. A. G.; Paschoalino, J. E. & Silveira, N. S. A. (2001). Efeito do Cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. *Ciência e Tecnologia Alimentos*, n.21, cap. 2, p.197-201.

Brasil. Ministério da Educação. (1996). Lei nº 9.394/ de 20 de dezembro de 1996. *Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Estabelece as diretrizes e bases da educação nacional*. Diário Oficial da União. Brasília.

Brasil. Ministério da Saúde. (2001). Resolução RDC n° 12 de 2 de janeiro de 2001. *Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.* Brasília.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2004). Resolução RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. *Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.* Brasília.

Brasil. Presidência da República. Casa Civil**.** (2006). Lei nº 11.346 de 15 de setembro de 2006. *Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências.* Brasília.

Brasil. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação – FNDE. (2009). Resolução/ CD/FNDE nº 38 de 16 de julho de 2009. *Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE.* Diário Oficial da União. Brasília.

Brasil. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - FNDE. (2013a). Resolução CD/FNDE nº 26 de 17 de junho de 2013. *Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar - PNAE.* Disponível em <http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/item/4620-resolu%C3%A7%C3%A3ocd-fnde-n%C2%BA-26,-de-17-de-junho-de-2013>. Acessado em agosto de/2014.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2013b). Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 2000-2012. Disponível em: URL: http://portal.saude.gov.br/portal/ arquivos/pdf/dados_dta_periodo_2000_2012_site.pdf. Acessado em agosto de 2014

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. (2014). *Novo Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável.* Brasília. Disponível em http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/05/Guia-Alimentar-para-a-pop-brasiliera-Miolo-PDF-Internet.pdf. Acessado em fevereiro de 2015.

Cardoso, R. C. V.; Almeida, R. C. C.; Guimaraes, A.G.; Goes, J.A.W.; Santana, A.A.C.; Silva, S.A.; Vidal Junior, P.O.; Huttner, L.B. & Figueiredo, K.V.N.A. (2010). Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. *Revista do Instituto Adolfo Lutz,* v.69, n.2, p. 208-13.

Cunha, D. T.; Stedefeldt, E. & Rosso. (2012). V. V. Perceived risk of foodborne disease by school food handlers and principals: the importance of frequent training. *Journal Food Safety,* v. 32, p. 219-225.

FNDE (Fundo Nacional do Desenvolvimento da Educação). Programa Nacional de Alimentação Escolar. (2014). *Dados estatísticos de 2014.* Disponível em <http://www.fnde.gov.br/programas/alimentacao-escolar/alimentacao-escolar-consultas/alimentacao-escolar-dados-estatisticos> Acessado em maio de 2015.

FNDE (Fundo Nacional do Desenvolvimento da Educação). Programa Nacional de Alimentação Escolar. (2015). *Consultas: Alunado por ação do Programa Nacional de Alimentação Escolar.* Disponível em <https://www.fnde.gov.br/pnaeweb/publico/relatorioDelegacaoEstadual.do>. Acessado em maio de 2015.

Henz, G. P. & Suinaga, F. (2009). *Tipos de alface cultivados no Brasil. Comunicado Técnico da Embrapa.* Disponível em <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2009/cot_75.pdf> Acessado em abril de 2015.

Jay, J. M. (2005). *Microbiologia de alimentos***.** Porto Alegre: Artmed,. 711 p.

Kinde, H.; Adelson, M.; Ardans, A.; Little, E. H.; Willoughby, D.; Berchtold, D.; Read, D.H.; Breitmeyer, R.; Kerr, D.; Tarbell, R. & Hughes, E. (1997). Prevalence of *Salmonella* in municipal sewage treatment plant effluents in southern California. *Avian Diseases***,** v. 41, n. 2, p. 392-398.

Koneman, E.; Janda, W.; Schreckenberger, P.;Winn, W. J.; Allen, S.; Procop, G. & Woods, G. **(**2008). *Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas colorido***.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1565 p.

Lima, A. F. A; Cunha, D. T. & Stedefeld, E. (2013). Avaliação do risco sanitário em unidades de alimentação e nutrição escolar da baixada santista, SP. *Higiene Alimentar***,** v.27, n. 218-219.

Oliveira, A. B. A. (2013). Instrumento de avaliação das Boas Práticas em unidades de alimentação e nutrição escolar: da concepção à validação. *Ciência & Saúde Coletiva,* n.18, v.4, p, 947-953,.

Oliveira, M. A. (2008). *Avaliação da segurança microbiológica em hortaliças minimamente processadas, pela enumeração de micro-organismos indicadores, Salmonella sp. e Listeria monocytogenes por métodos convencionais e aplicação da PCR em tempo real na quantificação de Listeria monocytogenes.* 139 p.. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas/- USP.

Oliveira, M. N.; Brasil, A. L. D. & Taddei, J. A. A. C. (2008). Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. *Ciência e Saúde Coletiva,* v.13, n.3, p.1051-1060.

Paula, P. Rodrigues, P. S. S.; Tortora, J. C. O.; Uchoa, C. M. A. & Farage, S. (2003). Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes *self-service*, de Niterói, RJ. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.36, n.4, p. 535-537.

Passos, E. C. (2010). Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz,* v.69, n.1, p.136-140.

Santana, L. R. R. Carvalho, R.D.S.; Leite, C.C.; Alcantara, L.M.; Oliveira, T.W.S. & Rodrigues, B.M. (2006).Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos,* Campinas, v. 2, n. 26, p. 264-269.

Sauressig, D. (2008). Alface, a rainha da salada. *Revista Agranja.com*. (720ª ed,). n. 12. Disponível em: <http://www.edcentaurus.com.br/materias/granja.php?id=1850 ,> Acessado em maio de 2015.

SBP (Sociedade Brasileira de Pediatria). (2012). *Obesidade na infância e adolescência – Manual de Orientação.* **(**2ª. ed.). Departamento Científico de Nutrologia. São Paulo: SBP, 142 p.

Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. A; Taniwaki, M. H.; Santos, R. F. S. & Gomes, R. A. R. (2001). *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.* São Paulo: Varela,.317 p.

Souza, A. L. T. M; Chitarra, G. S. & Neto, J. V. (2014). *Análise físico-química e microbiológica de carne de jacaré do Pantanal (Caiman yacare), comercializada no município de Cuiabá - MT.* Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação. 70p.

Solomon, E. B.; Yaron, S. & Matthews, K. R. (2002). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tssue and Its subsequent internalization. *Applied and Environmental Microbiology*, v.68, n.1, p. 397-400.

Stephenson, J. (1997). Public health experts take aim at a moving target: food borne infections. *Journal of the American Medical Association*, v. 277, n. 2, p. 97-98.

Takayanagui, O. M.; Capuano, D.M.; Oliveira, C. A. D.; Bergamini, A. M. M.; Okino, M. H. T.; Castro e Silva, A. A. M. C.; Oliveira, M. A.; Ribeiro, E. G. A. & Takayanagui, A. M. M. (2006). Analysis of the vegetable productive chain in Ribeirão Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.39, n. 2, p. 224-226.

Tessari, E. N. C.; Cardoso, E. L. S. P; Castro, A.G.M & Zanatta, G.F. (2003). Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. *Higiene Alimentar*, v. 17, n. 107, p.52-55.

Vieira, R. H. S. S. (2004). *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. Teoria e prática.* São Paulo: Varela. 380 p.

CAPITULO 3: ARTIGO CIENTÍFICO

QUALIDADE DE REFRESCOS DE CAJU E MARACUJÁ SERVIDOS EM CRECHES MUNICIPAIS DE CUIABÁ – MATO GROSSO

MELISSA SCHIRMER[1*], ROZILAINE APARECIDA PELEGRINE GOMES DE FARIA[1], NÁGELA FARIAS MAGAVE PICANÇO[1]

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de refrescos de caju e maracujá servidos em creches do município de Cuiabá - Mato Grosso. Foram feitas análises microbiológicas e físico-químicas em refrescos de caju e maracujá servidos em oito creches. Para as análises microbiológicas foram coletadas amostras das polpas e do refresco para pesquisa de *Salmonella*, contagem de coliformes termotolerantes e bolores e leveduras. As análises físico-químicas das polpas e refrescos foram feitas em delineamento em blocos casualizados, considerando a creche o tratamento e o bloco o dia da semana em que o refresco foi servido. Foram avaliados teor de vitamina C, açúcar total, pH, acidez em ácido cítrico e sólidos solúveis. As polpas apresentaram Condições Sanitárias Satisfatórias para *Salmonella*, coliformes termotolerantes e contagem de bolores e leveduras. *Salmonella* não foi evidenciada em nenhuma das amostras de refresco. A qualidade microbiológica dos refrescos de caju foi considerada inferior à do maracujá, onde 12,5% dos refrescos de caju apresentaram Condições Sanitárias Insatisfatórias para coliformes termotolerantes e 45,8% contagem de bolores e leveduras acima do preconizado, sugerindo indícios de higienização inadequada de manipuladores e utensílios nas creches, uma vez que as polpas estiveram isentas de contaminação. Houve aumento da concentração de vitamina C entre os blocos de ambos os refrescos; entre os blocos houve aumento significativo do açúcar total no refresco de caju e ainda diferença em ºBRIX dos refrescos de maracujá. A acidez total foi diferente nos tratamentos do refresco de caju, o mesmo não acontecendo com o pH desses tratamentos, provavelmente devido à capacidade tampão das polpas das frutas. A ausência de padronização no preparo dos refrescos provavelmente foi a responsável pelas alterações dos atributos físico-químicos dos mesmos. Recomenda-se a padronização no preparo dos refrescos para garantir a segurança alimentar e nutricional das crianças atendidas nestas creches.

Palavras-chave: Microbiologia. Físico-química. Alimentação escolar.

QUALITY OF CASHEW AND PASSION FRUIT REFRESHMENTS SERVED IN DAYCARE CENTERS IN THE CITY OF CUIABA – MATO GROSSO

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the microbiological and physicochemical qualities of cashew and passion fruit refreshments served at daycare Centers in the municipal of Cuiabá - Mato Grosso. Microbiological and physicochemical analyses were performed on the cashew and passion fruit refreshments served at eight public daycare centers. For microbiological analyses, samples of pulps and refreshments were collected for analysis *Salmonella*, thermo- tolerant coliforms, molds and yeasts.

The physicochemical analysis of the pulp and refreshments were made according to Adolf Lutz Institute. To compare the physicochemical quality of the refreshments served at the day cares, a randomized block design was employed, by considering each daycare as the treatment and the day of the week that the refreshments were served, as the block. The content of Vitamin C, total sugar, pH, acidity (citric acid and soluble solids) were evaluated. The pulps showed satisfactory sanitary conditions for *Salmonella*, thermotolerant coliform and total count of molds and yeasts within the standard established by legislation. The microbiological quality of cashew refreshments was considered inferior to that of passion, where 12.5% of cashew refreshments presented sanitary unsatisfactory conditions for thermotolerant coliforms and 45.8% of molds and yeast counts above the recommended, suggesting inadequate cleaning of evidence by handlers and utensils used in daycare centers, since the pulps were free of contamination. There was an increase in the concentration of vitamin C between blocks of both refreshments; there was a significant increase in the total sugar of cashew refreshment and even there was difference in Brix of passion fruit refreshments between the blocks. The total acidity was different in the treatment of cashew refreshment, the same did not occur in the case of pH of these treatments, probably due to the buffering capacity of the pulps of fruits.

The lack of standardization in the preparation of the refreshments was probably responsible for the changes in the physicochemical attributes of the same. Standardization of the preparation processes of the refreshments is recommended to ensure food security and nutrition of the children being served by these daycare centers.

Key-words: Microbiology, physicochemical, school meals.

[*]Autor para correspondência.

[1]Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Alimentos, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso, Campus Cuiabá - Bela Vista.

INTRODUÇÃO

O refresco ou bebida de fruta ou de vegetal é a bebida não fermentada obtida pela diluição em água potável do suco de fruta, polpa ou extrato vegetal de sua origem, com ou sem adição de açúcares (BRASIL, 2009).

Por combinarem água e fruta, os refrescos hidratam e nutrem por fornecerem variados nutrientes, em especial as vitaminas e sais minerais, indispensáveis para o bom estado do organismo (PINHEIRO et al., 2006).

Para a alimentação das crianças que permanecem nas escolas em período integral é recomendado que nas pequenas refeições, como os lanches matinais e vespertinos, sejam servidos alimentos líquidos, entre eles o refresco ou suco de fruta, acompanhado de alimentos sólidos para atender às necessidades nutricionais das crianças (VASCONCELOS et al., 2012). Esta alimentação deve ter qualidade nutricional e sanitária para que a criança se desenvolva com saúde intelectual e física, com menor risco de aparecimento de distúrbios e deficiências nutricionais (OLIVEIRA, 2008).

Os refrescos apresentam variedade de sabores e boa aceitabilidade (BRUM et al., 2014, mas podem oferecer riscos para o consumidor pela forma como são muitas vezes, armazenados e preparados, principalmente com relação à potabilidade da água adicionada (CARDOSO et al., 2009).

Em geral, as Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) que preparam e distribuem a alimentação escolar não apresentam condições adequadas para a realização das atividades de produção de refeições (CARDOSO et al., 2010), tornando os alimentos consumidos nas escolas e creches passíveis de veicularem Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (OLIVEIRA et al., 2008; OLIVEIRA, 2013), comprometendo a segurança do alimento servido aos escolares.

O controle e a garantia da qualidade e da inocuidade da alimentação servida aos escolares podem ser feitos através de análises microbiológicas de equipamentos, utensílios, matérias-primas e alimentos preparados, servindo como suporte para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos procedimentos e manipuladores (CUNHA et al, 2012; OLIVEIRA, 2013) e de análises físico-químicas que asseguram o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) das matérias-primas e a qualidade nutricional da alimentação (BRASIL, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Em 2015 o município de Cuiabá, Mato Grosso, recebeu recursos do Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) para atender a 51.587 alunos. Aproximadamente 15,5% desses alunos estudam em creches da rede municipal ou

creches filantrópicas e entidades comunitárias conveniadas com a prefeitura que recebem ajuda por meio da transferência de recursos financeiros (FNDE, 2015).

Considerando-se a demanda de refrescos para as creches e o número de escolares atendidos em Cuiabá, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de refrescos de caju e maracujá servidos para escolares em creches públicas do município de Cuiabá, Mato Grosso.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado entre os meses de abril e maio de 2015 em creches da rede municipal de Cuiabá atendidas pelo PNAE, localizadas na região leste da cidade, em virtude da maior (33%) representatividade de alunos do município. As oito creches escolhidas foram aquelas sem lactário, localizadas na área urbana da cidade e com sede própria.

Para avaliar a qualidade da polpa utilizada para produção dos refrescos foram coletadas cinco amostras de polpas de caju e de maracujá para a análise microbiológica. Para verificação da qualidade físico química da polpa foi coletada uma amostra da polpa de cada fruta as quais foram a seguir identificadas e transportadas em caixas isotérmicas para o Laboratório de Microbiologia e de Bromatologia da Universidade de Cuiabá (UNIC), mantidas congeladas em temperatura de -18ºC até o início das análises.

Para as análises microbiológicas dos refrescos foram coletadas aleatoriamente de cada creche cinco amostras de 200 mL de refresco de caju e de maracujá em três dias da semana, totalizando 240 amostras de refrescos.

O estudo em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) foi escolhido para as análises físico-químicas, considerando como tratamento as oito creches e os blocos o dia da semana em que o refresco de caju e maracujá foi servido. Participaram da pesquisa oito creches, denominadas C1 a C8, com três blocos em cada creche. Foi coletada uma amostra de 200 mL de refresco preparado de caju e de maracujá e todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para as polpas e refrescos foram feitas as pesquisas de *Salmonella* ssp., pesquisa de coliformes termotolerantes pela técnica do Número Mais Provável (NMP) e

contagem total de bolores e leveduras. Todas as análises foram realizadas de acordo com Silva et al. (2001) e os resultados foram apresentados considerando a amostra representativa de cada bloco, segundo plano de amostragem e padrões especificados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (BRASIL, 2001).

As análises físico-químicas teor de Vitamina C (mg/100g de amostra), quantidade de Açúcar Total (g/100g de amostra), pH, Acidez em Ácido Cítrico (g/100g de amostra) e Sólidos Solúveis (expresso em ºBRIX a 20º C) para polpas e refrescos foram feitas de acordo com Instituto Adolf Lutz (IAL, 2008). O teor de vitamina C foi determinado por titulação de oxidação redução com iodato de potássio. Os açúcares totais foram quantificados pelo método de Lane-Eynom. O pH foi determinado por potenciometria direta e acidez em ácido cítrico por titulometria de neutralização. O teor de sólidos solúveis foi determinado por refratometria direta.

Os dados físico-químicos das amostras dos refrescos foram analisados estatisticamente utilizando o software Assistat versão 7.7. Para verificar se houve diferença estatística significante entre as variáveis, foram aplicados a ANOVA e o teste de Scott-Knott quando verificada diferença estatisticamente significante.

Para diminuir a variância dos dados antes de aplicação da ANOVA todos os dados foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As polpas de maracujá e caju utilizadas para preparar os refrescos foram consideradas em Condições Sanitárias Satisfatórias (CSS) pela ausência de *Salmonela* spp. e coliformes termotolerantes dentro dos limites estabelecidos pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001), além da contagem de bolores e leveduras inferior a 10^4 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), conforme estabelece legislação vigente (BRASIL, 1997).

As amostras de refrescos de caju e maracujá estiveram em CSS para pesquisa de *Salmonella* spp. e isentas desse microrganismo conforme estabelece a RDC nº 12 (BRASIL, 2001), o que sugere controle higiênico-sanitário para esse microrganismo no refresco servido aos escolares não oferecendo risco de infecção. A pesquisa sobre análise de salmonela é necessária pois esse microrganismo é a principal causa de surtos

de doença entérica sendo investigado em outros trabalhos (BRUM et al., 2014; HOFFMANN et al., 1998; SEBASTIANY et al., 2009; SILVA BRASIL, 2014).

Entre as amostras de refresco de caju, 12,5% apresentaram contagem superior ao limite estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001) e foram classificados como amostras em Condições Sanitárias Insatisfatórias (CSI), 62,5% das creches apresentaram todas as amostras em CSS e 37,5% com contaminação em apenas 33% das amostras (Tabela 1).

Tabela 1 - Condições sanitárias de refrescos de caju consumidos em creches municipais de Cuiabá, nos meses de abril e maio de 2015, com relação ao NMP de coliformes termotolerantes

	AMOSTRA 1		AMOSTRA 2		AMOSTRA 3		TOTAL	
CRECHE	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)	CSS (%)	CSI (%)
C1	100	-	100	-	-	100	67	33
C2	100	-	100	-	100	-	100	-
C3	100	-	100	-	100	-	100	-
C4	100	-	100	-	100	-	100	-
C5	-	100	100	-	100	-	67	33
C6	100	-	100	-	100	-	100	-
C7	100	-	100	-	100	-	100	-
C8	-	100	100	-	100	-	67	33
TOTAL	**75**	**25**	**100**	**-**	**87,5**	**12,5**	**87,5**	**12,5**

CSS (Condições Sanitárias Satisfatórias), CSI (Condições Sanitárias Insatisfatórias), NMP (Número Mais Provável)

Com relação as amostras de refresco de maracujá todas foram classificadas em CSS, apresentando contagem de coliformes termotolerantes abaixo do limite estabelecido para esse microrganismos.

A contaminação dos refrescos por coliformes pode estar associada à qualidade da polpa e/ou à fruta utilizada no preparo, à água utilizada e à manipulação (BRUM et al., 2014; CARDOSO et al., 2009). Porém, como os resultados obtidos na análise da polpa utilizada no preparo dos refrescos indicaram-nas isentas de contaminação para este microrganismo pode-se afirmar que a polpa não foi a causa da contaminação de 12,5% das amostras de refresco de caju, a qual pode estar relacionada à manipulação nas creches ou à água utilizada no preparo.

Suco de fruta e refresco são recomendados para a alimentação das crianças que permanecem nas escolas em período integral, acompanhados de alimentos sólidos para atender as suas necessidades nutricionais (VASCONCELOS et al., 2012), o que de acordo com os resultados obtidos se torna preocupante. Surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial têm sido responsabilizados como significância em saúde pública, como patógeno o Coliforme *Escherichia coli* O:157:H7, (BERBARI et al., 2001; SANTOS et al., 2008).

Considerando o antigo padrão de 10^4 UFC/mL em refrescos (BRASIL, 1997) e demonstrado na Tabela 2, 4,2% das amostras de refresco de maracujá e 45,8% das amostras de refresco de caju estiveram acima do padrão, indicando condições sanitárias deficientes, matérias-primas excessivamente contaminadas ou higienização inadequada de manipuladores e utensílios. Apenas 25% das creches apresentaram 100% das amostras nas três repetições atendendo o padrão máximo de 10^4 UFC/mL.. Porém a contagem destes microrganismos não está disposta na RDC nº 12 (BRASIL, 2001) para amostras de sucos e refrescos *in natura*.

Tabela 2 - Contagem de bolores e leveduras a 25°C em UFC/mL de refrescos de caju e maracujá servidos em creches municipais de Cuiabá, nos meses de abril e maio de 2015

CRECHE	MARACUJÁ			CAJU		
	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
C 1	$8,5 \times 10^2$	2×10^3	$< 10^2$	3×10^4	2×10^3	$1,5 \times 10^4$
C 2	2×10^2	$< 10^2$	10^2	$1,9 \times 10^3$	2×10^3	7×10^3
C 3	2×10^2	10^2	$1,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$	$5,5 \times 10^4$
C 4	$2,5 \times 10^3$	3×10^3	2×10^3	3×10^3	$5,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$
C 5	10^2	8×10^2	2×10^3	$1,5 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$
C 6	6×10^3	$3,1 \times 10^3$	2×10^4	6×10^4	$2,5 \times 10^4$	6×10^3
C 7	10^3	3×10^2	$3,2 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	8×10^3	6×10^4
C 8	3×10^2	2×10^3	$6,2 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	10^4	3×10^4

A presença de bolores e leveduras em sucos ou refrescos *in natura* é preocupante, uma vez que este tipo de produto é consumido sem nenhum tipo de tratamento térmico que reduza o número de microrganismos capazes de deteriorar o produto e/até mesmo ocasionar intoxicações, no caso de alguns bolores que produzem micotoxinas, (HOFFMANN et al.; 1998). Já as leveduras podem elevar o pH dos refrescos, criando condições para o crescimento de outros micro-organismos, inclusive os enteropatogênicos, caso o pH atinja valores superiores a 4,5 (JAY, 2005).

Oliveira et al. (2005) em Fortaleza, observaram 100% de amostras de refrescos (abacaxi, acerola, cajá, goiaba, manga, maracujá e tamarindo) comercializadas em diferentes estabelecimentos contaminados por bolores e leveduras acima de 10^4 UFC/ mL, indicando uma possível redução do prazo de validade comercial do produto.

Nas análises físico-químicas, a quantidade de vitamina C da polpa de caju foi de 108,60 mg/100g de amostra, superior ao mínimo exigido em seu PIQ que é de 80 mg/100g amostra (BRASIL, 2000). E apesar de não estar prevista sua mensuração na polpa de maracujá, pelo valor nutricional relevante, a análise foi realizada e apresentou 23,48 mg/100g de amostra.

Muitas pessoas adquirem a polpa industrializada pela sua facilidade de consumo e também pelas vitaminas presentes. A vitamina C ou ácido ascórbico participa de inúmeras atividades fisiológicas e o homem não é capaz de sintetizá-la, é também a mais facilmente degradável de todas as vitaminas, sua estabilidade aumenta com a redução da temperatura e as maiores perdas ocorrem durante o aquecimento dos alimentos, é afetada também pela intensidade da luz, conteúdo de umidade, meios alcalinos, oxigênio, metais como Fe, Cu e Zn, e a enzima oxidase do ácido ascórbico. (SEBASTIANY et al.,2009).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitamina C para crianças que frequentam creches em tempo integral deve ser de 70% da IDR, 12 mg para crianças de um a três anos e 19 mg para crianças de quatro a cinco anos (BRASIL, 2013), facilmente atingida com o consumo de frutas e vegetais frescos, mesmo porque no Brasil o consumo de vitamina C sob forma de concentrados vitamínicos ainda é bastante restrito devido aos altos preços, restando para a maioria da população o consumo via alimentos.

Entre os parâmetros analisados para as polpas, somente sólidos solúveis em ºBrix das polpas não atendeu ao Padrão de Identidade e Qualidade estabelecido pela legislação sugerindo problemas com a qualidade da matéria-prima (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios dos atributos físico-químicos das polpas de caju e maracujá utilizadas no preparo de refrescos de escolares de creches municipais de Cuiabá, Mato Grosso.

Polpa da fruta	SS (em º BRIX a 20º C)	pH	Acidez Total Titulável expressa em ácido cítrico (g/100g)	Açúcares Totais naturais da fruta (g/100g)	Ácido Ascórbico (mg/100g)
Caju	8,27	4,38	0,30	9,44	108,60
PIQ	**Min. 10,00**	**Máx. 4,60**	**Min. 0,30**	**Máx. 15,00**	**Min. 80,00**
Maracujá	10,30	2,84	3,48	9,77	23,48
PIQ	**Min. 11,0**	**2,70-3,80**	**Min. 2,50**	**Máx. 18,00**	**NE**

Min. (mínimo), Máx. (máximo), NE (não estabelecido), PIQ (Padrão de Identidade e Qualidade .
Fonte: Instrução Normativa nº 01 de 7/01/2000(BRASIL, 2000)

Diferenças no teor de sólidos solúveis (°BRIX) na polpa da fruta podem estar associadas a fatores climáticos (quantidade de chuva durante a safra, tipos de solo, variedade entre as frutas, etc.) (LEAL et al., 2013) ou ainda à adição de água, prática de alguns produtores para facilitar o processamento (BATISTA et al., 2013).

A redução no teor de sólidos solúveis das polpas pode ter ocorrido devido ao tempo de armazenamento em freezer, pois de acordo com Ciabotti et al. (2000) há uma tendência de redução dos sólidos solúveis de sucos congelados ao longo de 180 dias de armazenamento em freezer, em média 1,73% ao mês até os 120 dias, quando então estabilizam até os seis meses (4,79% no total).

Sólidos solúveis são usados como índice dos açúcares totais em frutos, indicando o grau de maturidade. A sua medição não representa o teor exato dos açúcares, pois outras substâncias também se encontram dissolvidas na seiva como vitaminas, fenólicos, pectinas, ácidos orgânicos, no entanto, entre essas, os açúcares são as mais representativas, chegando a constituir até 85%-90% dos SS (ARAÚJO, 2010).

Não houve diferença para o refresco de caju quanto ao teor de vitamina C, pH e sólidos solúveis (SS) entre os tratamentos. Porém o teor de vitamina C foi maior no terceiro dia em que o refresco foi servido, mostrando diferença entre os blocos e sugerindo não padronização no preparo dos refrescos (Tabela 4). Foi observado *in loco* que os responsáveis em preparar os refrescos não seguem uma medida previamente estabelecida de proporção polpa:água:açúcar.

Tabela 4 - Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) dos atributos físico-químicos dos refrescos de caju servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.

Tratamento	Vit C (mg/100g de amostra)	pH	Acidez Total (g/100g de ácido cítrico)	SS (ºBrix)
1	16,05a±7,48	4,51a±0,16	0,039b±0,01	8,28a±2,02
2	21,33a±2,37	4,58a±0,08	0,058b±0,02	10,28a±2,66
3	18,98a±1,48	4,50a±0,09	0,049b±0,00	8,94a±3,07
4	18,79a±3,67	4,57a±0,07	0,050b±0,00	11,63a±2,10
5	22,31a±3,57	4,44a±0,18	0,068a±0,02	10,62a±2,90
6	19,37a±2,12	4,57a±0,02	0,051b±0,00	8,27a±1,00
7	16,83a±4,48	4,60a±0,04	0,047b±0,00	10,29a±1,02
8	27,59a±1,17	4,59a±0,21	0,074a±0,00	10,29a±1,75
Bloco	**Vit C (mg/100g)**	**pH**	**Acidez Total (g/100g de ácido cítrico)**	**SS (◦ Brix)**
1	19,91b±9,32	4,61a±0,19	0,051a±0,02	10,29a±4,85
2	19,59b±9,55	4,51a±0,24	0,058a±0,03	10,79a±3,34
3	22,97a±6,88	4,50a±0,27	0,055a±0,04	8,40b±4,33
%CV*	7,47	1,04	0,45	8,81

Na coluna, médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott Knott, ao nível 5% de probabilidade. *coeficiente de variação após transformação dos dados.

Não houve diferença para o refresco de maracujá quanto ao teor de vitamina C e pH entre os tratamentos. Porém o teor de vitamina C foi maior no terceiro dia em que o refresco foi servido sugerindo não padronização no preparo dos refrescos (Tabela 5) assim como observado para o refresco de caju (Tabela 4). Houve diferença entre sólidos solúveis provavelmente devido à particularidade da polpa utilizada no preparo do refresco.

Tabela 5 - Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) dos atributos físico-químicos dos refrescos de maracujá servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.

Tratamento	Vit C (mg/100g)	pH	Acidez Total (g/100g de ácido cítrico)	SS (ºBrix)
1	7,05a±2,56	3,05a±0,03	0,48a±0,05	9,61b±0,59
2	7,24a±1,69	3,07a±0,05	0,49a±0,35	12,63a±2,51
3	6,26a±1,22	3,01a±0,05	0,52a±0,10	9,28b±1,75
4	7,44a±2,77	3,02a±0,03	0,60a±0,20	10,97a±0,58
5	7,44a±1,79	2,99a±0,06	0,58a±0,07	11,97a±2,08
6	7,24a±2,44	3,04a±0,04	0,42a±0,05	8,28b±2,02
7	6,07a±1,89	3,09a±0,05	0,34a±0,05	13,30a±0
8	7,83a±1,89	3,08a±0,02	0,54a±0,01	12,63a±1,53
Bloco	Vit C (mg/100g)	pH	Acidez Total (g/100g de ácido cítrico)	SS (◦ Brix)
1	6,09b±2,22	3,02b±0,11	0,52a±0,36	11,80a±4,71
2	5,87b±1,24	3,04ab±0,07	0,48a±0,30	10,54a±5,35
3	9,25a±2,38	3,07a±0,07	0,48a±0,30	10,92a±3,70
%CV*	5,90	0,44	5,35	6,54

Na coluna, médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott Knott, ao nível 5% de probabilidade. *coeficiente de variação após transformação dos dados.

A ausência de PIQ para refrescos prontos para consumo limita a avaliação da qualidade nutricional devido à ausência de um parâmetro para comparação. No entanto, dado o volume de refresco consumido nas creches e seu valor nutricional é necessário acompanhamento da qualidade dos refrescos servidos para os escolares.

Não houve diferença estatisticamente significante entre as creches para os tratamentos açúcar total, açúcar não redutor para os refrescos de caju e maracujá. Porém observou-se diferença entre os dias da semana (bloco) para açúcar total e açúcar não redutor.

A ausência de um procedimento padrão durante o preparo dos refrescos de caju pode ter sido o principal motivo para o aumento significativo do teor de açúcar total. Observa-se que no segundo e terceiro dias houve maior teor de açúcar não redutor, representando principalmente o teor de sacarose (Tabela 6). É possível que a não padronização dos sólidos solúveis presentes na polpa de caju (Tabela 3) tenha corroborado para que o responsável pelo preparo de refresco de caju tenha adicionado maior teor de sacarose (açúcar não redutor) melhorando assim a aceitabilidade do refresco entre os escolares. Os sólidos solúveis estão presentes na polpa dos frutos e a polpa de caju está abaixo do valor mínimo exigido pela legislação (Tabela 3).

O teor de açúcar não redutor do refresco de maracujá foi estatisticamente igual nos dias (bloco) analisados. Provavelmente a característica de acidez da polpa corrobora com a adição de quantidade maior de açúcar no preparo dos refrescos.

Tabela 6 - Valores médios ± desvio padrão original e coeficiente de variação (%) da quantidade de açúcar total e não redutor dos refrescos de caju e maracujá servidos para escolares em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso, 2015.

	Refresco Caju		Refresco Maracujá	
Tratamento	Açúcar Total (g/100g) caju	Açúcar não Redutor (g/100g)	Açúcar Total (g/100g)	Açúcar não Redutor (g/100g)
1	18,01a±2,26	12,40a±4,20	14,11a±2,96	8,84a±2,47
2	16,47a±1,35	12,23a±8,08	14,33a±3,59	9,61a±3,87
3	17,26a±3,08	13,26a±3,72	14,84a±2,67	9,07a±3,29
4	21,21a±7,14	16,44a±7,48	17,47a±1,53	11,78a±2,11
5	19,13a±11,99	14,94a±5,13	18,16a±0,68	11,71a±0,85
6	18,58a±3,75	16,82a±6,84	15,49a±1,08	9,947a±2,34
7	18,43a±9,60	15,82a±0,78	15,65a±1,31	10,27a±2,75
8	19,37a±5,26	17,32a±4,36	20,11a±0,99	14,15a±1,45
	Refresco Caju		Refresco Maracujá	
Bloco	Açúcar Total (g/100g) caju	Açúcar não Redutor (g/100g)	Açúcar Total (g/100g)	Açúcar não Redutor (g/100g)
1	15,04b±3,85	10,01b±5,67	15,98a±8,26	10,99a±7,36
2	20,46a±9,15	16,90a±8,73	16,72a±6,34	11,48a±6,69
3	20,17a±6,31	17,80a±7,14	16,12a±4,84	9,55a±4,66
%CV*	7,71	8,23	6,78	11,71

Na coluna, médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott Knott, ao nível 5% de probabilidade. *coeficiente de variação após transformação dos dados.

Leal et al. (2013) ao avaliarem parâmetros físico-químicos de polpas congeladas de graviola comercializadas em supermercados de São Luís, MA obtiveram valores de açúcar abaixo e acima da legislação e justificaram que tal discrepância ocorre devido à época de colheita, maturação e armazenamento dos frutos, antes do processamento, além do acondicionamento das polpas nos supermercados.

A medida caseira de refrescos deve ser de um copo de 200 mL, com valor calórico médio de 70 kcal, no entanto, considerando que um grama de açúcar tem 4 calorias, a média de calorias em porções de 200 mL de refrescos de caju e maracujá é respectivamente é de 148 e 130 calorias, ou seja, o dobro do recomendado pela ANVISA (2003).

Nas preparações servidas em creches apenas 10% da energia total diária devem ser provenientes do açúcar simples adicionado aos sucos ou refrescos. Considerando que o valor energético necessário para atender às necessidades de uma criança de dois a três anos que permanece em tempo integral na creche deve ser de 700 a 900 calorias (BRASIL 2013), o valor proveniente de açúcar adicionado (açúcar não redutor) deveria ser de 70 a 90 kcal por dia. Portanto, os refrescos preparados nas creches do presente estudo contêm quantidade de calorias provenientes principalmente da quantidade de açúcar não redutor (sacarose) superior ao recomendado, um risco para tendências desfavoráveis de aumento da obesidade e de outras doenças crônicas relacionadas à alimentação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Se considerarmos que todos os tratamentos do refresco de maracujá foram originados da mesma polpa que apresentou baixo ºBRIX, e ainda, o caráter ácido destes refrescos e que a produção dos refrescos não foi padronizada, sendo dependente da subjetividade das técnicas em nutrição escolar ao adoçá-los, a diferença em ºBRIX destes refrescos deve estar relacionada ao excesso de açúcar adicionado em alguns tratamentos, já que o ºBRIX é inversamente proporcional à necessidade de adição de açúcar no processo.

CONCLUSÕES

A qualidade microbiológica dos refrescos de caju foi considerada inferior à do maracujá, ou seja, em condições higiênicas insatisfatórias que expuseram os refrescos a condições favoráveis à multiplicação de micro-organismos patogênicos, com riscos à saúde dos escolares. Medidas que visem à capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Fabricação dos refrescos a fim de prevenir o risco de DTA devem ser implantadas, visto que a contaminação dos refrescos não foi originária das polpas das frutas.

A ausência de um procedimento padrão no preparo dos refrescos de caju e maracujá foi a principal causa das alterações dos atributos físico-químicos dos mesmos. Recomenda-se a padronização no preparo dos refrescos, o que poderá facilitar o trabalho das técnicas em nutrição escolar e garantir a segurança nutricional e alimentar das crianças atendidas nestas creches.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) *campus* Cuiabá - Bela Vista, pelo auxílio à pesquisa; ao CNPq pelo apoio com a bolsa PIBITI, aos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Bromatologia da Universidade de Cuiabá (UNIC), pela parceria nas análises microbiológicas e físico-químicas da pesquisa; à Coordenadoria de Alimentação Escolar da Prefeitura Municipal de Cuiabá, por ceder o espaço para a pesquisa e contribuir com a doação dos produtos para as análises e aos acadêmicos de Nutrição e Farmácia do Universidade de Cuiabá e alunos de Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso pelo voluntariado na pesquisa.

REFERÊNCIAS

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 359 de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional**. Brasília, 2003.

ARAÚJO, J. L. **Propriedades termofísicas da polpa do cupuaçu**. 85 p. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Agrícola da Paraíba, 2010.

BATISTA, A. G. et al. Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas: uma abordagem para produção do agronegócio familiar no Alto Vale do Jequitinhonha. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.4, p.49-54, 2013.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. S. A. Efeito do Cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, n.21, cap. 2, p.197-201, maio-agosto, 2001.

BRASIL. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria n º 451 de 19 de setembro de 1997. **Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III.** Brasília, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 01 de 7 de janeiro de 2000. **Aprovou os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa das seguintes frutas: acerola, cacau, cupuaçu, graviola, açaí, maracujá, caju, manga, goiaba, pitanga, uva, mamão, cajá, melão, mangaba, e para suco das seguintes frutas: maracujá, caju, caju alto teor de polpa, caju clarificado ou cajuína, abacaxi, uva, pêra, maçã, limão, lima ácida e laranja, conforme consta do Anexo II desta Instrução Normativa**. Brasília, 2000

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC n° 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Brasília, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.** Brasília, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO - FNDE. Resolução CD/FNDE nº 26 de 17 de junho de 2013. 2013b. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar-PNAE**. Disponível em <http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/item/4620-resolu%C3%A7%C3%A3ocd-fnde-n%C2%BA-26,-de-17-de-junho-de-2013>. Acessado em agosto de/2014.

BRUM, D. C. M. et al. Qualidade microbiológica e físico-química de refrescos comercializados nos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda-RJ. **Demetra**; v.9, n.4, p. 943-953, 2014.

CARDOSO R. C. V.; SANTOS S. M. C.; SILVA E. O. Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento. **Ciências e Saúde Coletiva**, v.14, n.4, p. 1215-1224, 2009.

CARDOSO, R. C. V. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz,** v.69, n.2, p. 208-13, 2010.

CIABOTTI, E. D. et al. Alterações das características físico-químicas da polpa de maracujá amarelo submetido a diferentes técnicas de congelamento inicial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais,** Campina Grande, v.2, n.1, p.51-60, 2000.

CUNHA, D. T.; STEDEFELDT, E.; ROSSO, V. V. Perceived risk of foodborne disease by school food handlers and principals: the importance of frequent training. **Journal Food Safety,** v. 32, p. 219-225, 2012.

FNDE. FUNDO NACIONAL DO DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO. PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR. 2015. **Consultas: Alunado por ação do Programa Nacional de Alimentação Escolar.** Disponível em <https://www.fnde.gov.br/pnaeweb/publico/relatorioDelegacaoEstadual.do>. Acessado em maio de 2015.

HOFFMANN, F. L. et al. Qualidade microbiológica de diferentes marcas comerciais de suco fresco de laranja integral. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.16, n.1, 1998. Disponível em:

<www.dx.doi.org/10.5380/cep.v16i1.13942> Acessado em maio de 2015.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4ª ed., 1ª ed. Digital. São Paulo: 2008. 1002 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

LEAL, R. C.; REIS, V. B.; LUZ, D. A. Avaliação de parâmetros físico-químicos de polpas congeladas de graviola comercializada em supermercados de São Luís – MA. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, n. 2, p. 76-80, 2013

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília: Ministério da Saúde, 2ª ed., 2014. 156 p.

OLIVEIRA, A. B. A. Instrumento de avaliação das Boas Práticas em unidades de alimentação e nutrição escolar: da concepção à validação. **Ciência & Saúde Coletiva,** n.18, v.4, p, 947-953, 2013.

OLIVEIRA, K. P. et al. Avaliação da qualidade sanitária de refrescos de frutas comercializados em lanchonetes de um *campus* universitário em Fortaleza/CE. **IN**: X Semana Universitária da UECE. 2005.

OLIVEIRA, M. N.; BRASIL, A. L. D.; TADDEI, J. A. A. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.13, n.3, p.1051-1060, jun.2008.

PINHEIRO, A. M. et al. Avaliação química, físico-química e microbiológica de suco de frutas integrais : abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.16, n.1, p.98-103, 2006.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**., v.28, n.4, p.913-915, 2008.

SEBASTIANY, E. et al. Qualidade microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2 p. 224-231, 2009.

SILVA BRASIL, A. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Cuiabá-MT**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, 2014. 57 p.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo: Varela, 2010.632 p.

VASCONCELOS, F. A. G. et al. **Manual de orientação para a alimentação escolar na educação infantil, ensino fundamental, ensino médio e na educação de jovens e adultos.** Brasília: PNAE/CECANE, 2ª ed., 2012, 48 p.

IMPLICAÇÕES

Os resultados da pesquisa indicaram que a capacitação das técnicas em nutrição escolar nas Boas Práticas de Manipulação foi capaz de assegurar a qualidade microbiológica das saladas de alface servidas nas creches, comprovando que o treinamento e a correção no asseio e procedimentos operacionais reduzem a contaminação das saladas de alface e podem ser consideradas ferramentas eficazes para garantir que os alunos das creches recebam alimentos com qualidade microbiológica aceitável.

A eliminação da contaminação das amostras de alface na segunda fase do estudo pode estar relacionada à capacitação das técnicas de nutrição escolar nos procedimentos corretos de lavagem e desinfecção da alface.

Sugere-se o monitoramento constante da qualidade dos alimentos e da aplicação de Boas Práticas de Manipulação nas UAN escolares a fim de evitar a contaminação dos alimentos.

A padronização no preparo dos refrescos de caju e maracujá poderia ter impedido as alterações encontradas nos atributos físico-químicos dos mesmos e há indícios de higienização inadequada de manipuladores e utensílios nas creches, uma vez que as polpas estiveram isentas de contaminação, o mesmo não acontecendo com algumas amostras de refresco.

É preocupante o aumento significativo do açúcar total nos refrescos, que apresentaram o dobro do recomendado pela ANVISA, ou seja, os refrescos preparados nas creches do presente estudo contêm quantidade de calorias provenientes do açúcar que representam risco para tendências desfavoráveis de aumento da obesidade e de outras doenças crônicas relacionadas à alimentação.

Recomenda-se a padronização no preparo dos refrescos e as Boas Práticas de Manipulação, o que facilitará o trabalho das técnicas em nutrição escolar e garantirá a segurança nutricional e alimentar das crianças atendidas nestas creches.

APÊNDICES

Apêndice A. Descrição da metodologia capitulo 2 - Qualidade higiênico-sanitária da salada de alface servida em creches municipais de Cuiabá - Mato Grosso, Brasil

Local e Período de estudo

O estudo foi realizado no período de maio a agosto de 2014 em oito creches (denominadas C1 a C8) públicas do município de Cuiabá, Mato Grosso, atendidas pelo PNAE e localizadas na região urbana da cidade.

O período do estudo abrangeu duas fases distintas: antes e depois da capacitação das Técnicas em Nutrição Escolar (TNE) nas Boas Práticas para elaboração do alimento, realizada pelos nutricionistas da Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá, conforme rotina do calendário escolar. A capacitação abordou a adequada conduta a ser adotada pelas TNE em todas as fases de preparo da alimentação, incluindo a recepção da matéria-prima; lavagem e desinfecção de alimentos, instalações e utensílios; acondicionamento, refrigeração, manipulação e oferta dos alimentos aos escolares; incluindo ainda a paramentação e hábitos higiênicos durante o trabalho (RDC 216, 2004).

Cuiabá (-15º35’46” W e -56º 05’ 48” S) capital de Mato Grosso, é considerada o “centro geodésico da América do Sul” e se localiza na região centro-sul do Estado, com área total de 3.363 Km². O clima é predominantemente tropical quente sub-úmido, e está cercada por três grandes ecossistemas: a Amazônia, o Cerrado e o Pantanal. Está próximo ao Parque Nacional da Chapada dos Guimarães, tendo um rio, que leva o mesmo nome da cidade, um importante afluente do rio Paraguai. A “cidade verde” como é conhecida, tem funções político-administrativas, é pólo industrial, comercial e de serviços do Estado de Mato Grosso.

A prefeitura de Cuiabá conta com 54 creches próprias, sem considerar as filantrópicas e entidades comunitárias (creches conveniadas), sendo 50 creches urbanas e quatro rurais. As creches públicas municipais atendem a 6817 (85%) crianças com idade entre quatro meses e três anos e 11 meses e as creches filantrópicas que recebem recursos do PNAE pela prefeitura de Cuiabá atendem 1.170 crianças (15%).

As creches da rede municipal de Cuiabá estão distribuídas por Regionais, em quatro grandes regiões, conforme regras de abairramento da prefeitura (CUIABÁ, 2010) (Figuras 1a e 1b).

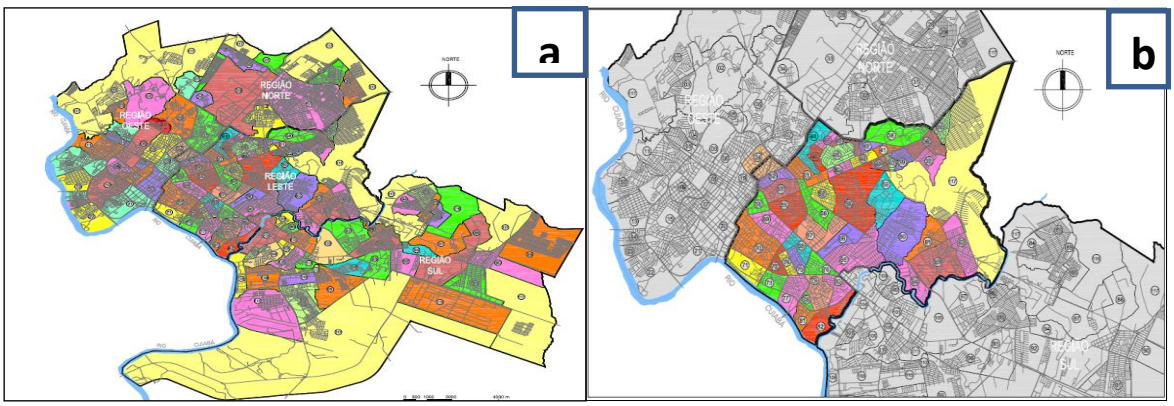

Figura 1. Mapa do abairramento de Cuiabá dividido por regiões (a) e destacando a regional Leste (b). Fonte: Cuiabá (2010)

As creches que participaram do estudo estão localizadas na Região Leste (Figura 1b) que ocupa a área urbana central do município de Cuiabá, é composta por 111 localidades (loteamentos regulares, loteamentos clandestinos, assentamentos informais, núcleos habitacionais, condomínios) distribuídas em 49 bairros, e uma grande área de expansão urbana. A região Leste tem 28% das creches urbanas da rede pública municipal e 26% dos alunos de creches, totalizando 1.767 alunos (CUIABÁ, 2010).

As creches escolhidas foram aquelas sem lactário, localizadas na área urbana da cidade e com sede própria. A fim de garantir a confiabilidade dos dados, para o cálculo amostral do número de creches participantes da pesquisa levou-se em consideração o valor oito como grau de liberdade do resíduo.

Amostras

As amostras foram classificadas em amostras *in natura* (alfaces que não passaram pelo processo de higienização, representando a amostra proveniente do fornecedor) e amostras preparadas (10 folhas grandes com aproximadamente 25 g da alface de saladas prontas para o consumo das crianças nas creches).

Foram coletadas, aleatoriamente, cinco amostras *in natura* de “pé” ou “toceira” da alface do mesmo lote distribuído para as creches para a produção da salada, com três repetições antes e três repetições após a capacitação das TNE, totalizando 30 amostras *in natura*. A coleta ocorreu conforme a programação de entrega do fornecedor para atender à programação do cardápio, semanalmente, às segundas-feiras no período da manha, no Centro de Distribuição da Coordenadoria de Alimentação Escolar do município de Cuiabá.

Do mesmo lote das amostras *in natura* foram coletadas cinco amostras preparadas de cada uma das oito creches, com três repetições antes e três repetições após a capacitação das TNE, totalizando 240 amostras preparadas.

A coleta das amostras preparadas foi feita após a rotina de lavagem individual das folhas para preparo da salada para os escolares. Após lavadas, as folhas foram acondicionadas temporariamente em um vasilhame de onde, após misturadas, foram separadas e coletadas 10 folhas sem tempero e sem sal, acondicionadas individualmente em embalagem de polietileno de primeiro uso, identificadas e, a seguir, enviadas em caixas isotérmicas com gelo em gel ao laboratório para as análises microbiológicas.(Figura 2)

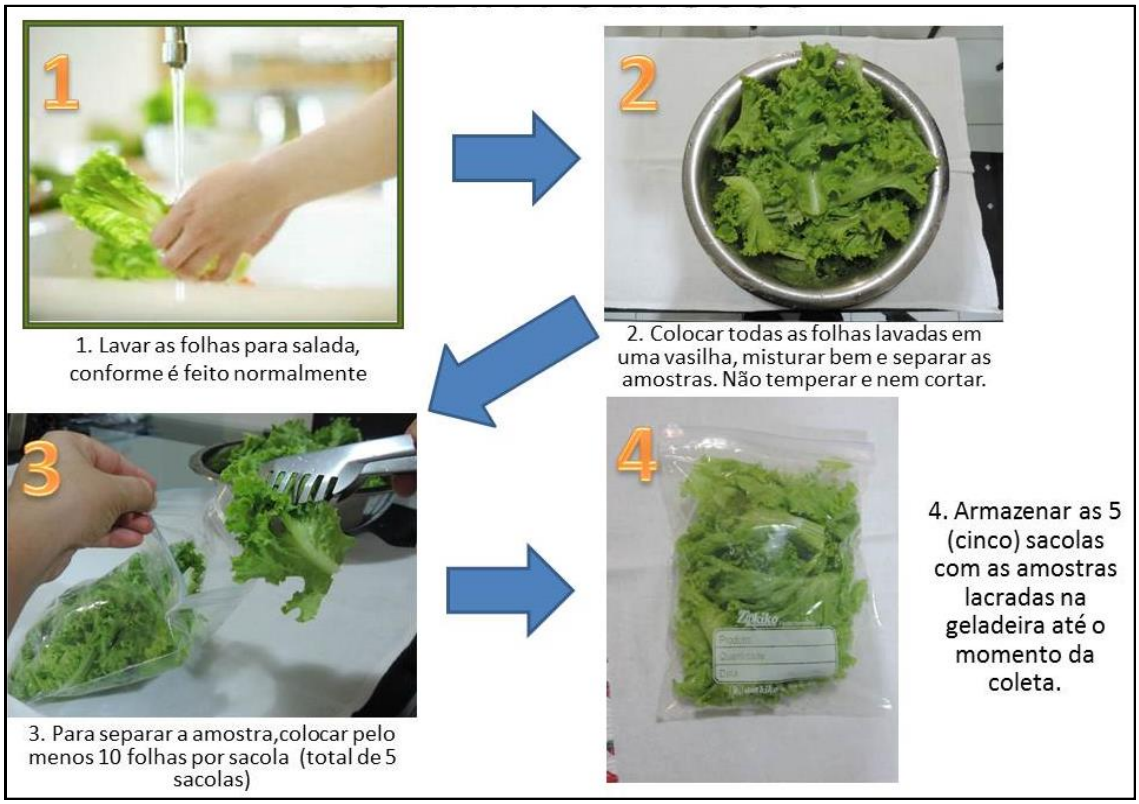

Figura 2. Metodologia de preparo e coleta da salada de alface

Processamento das Amostras

Foram retirados, assepticamente, 10 g da unidade analítica da amostra para a preparação de diluições decimais seriadas, que foram, a seguir, transferidos para frascos contendo 90 mL de água peptonada estéril e homogeneizados (10^{-1}). A seguir, 1 mL desta diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de água peptonada, obtendo-se a diluição de 10^{-2} e assim sucessivamente até a obtenção da diluição 10^{-3} as quais foram utilizadas para o NMP de coliformes termotolerantes. Para a Pesquisa de *Salmonella* spp. a diluição 10^{-1} foi obtida através de cinco unidades analíticas de 5 g retiradas assepticamente de cada uma das amostras de folhas de alface, totalizando 25 g que a seguir foram transferidos para um frasco contendo 225 mL de água peptonada tamponada a 1%.

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas constaram da contagem de Coliformes Termotolerantes pela técnica Número Mais Provável (NMP) e Pesquisa de *Salmonella* spp. (para amostras preparadas) e Pesquisa de *Salmonella* ssp. (para amostras *in natura*), e foram realizadas de acordo com Silva et al. (2001).

Contagem de coliformes termotolerantes

A determinação do NMP de coliformes termotolerantes consistiu de duas etapas distintas, teste presuntivo e confirmativo. Dos tubos positivos no Caldo Lauril Sulfato (LST) foram transferidas alçadas para confirmação de coliformes termotolerantes em tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 44,5±0,1° C por 24 horas, em banho-maria com agitação.

O número de tubos positivos (indicados pela presença de gás no interior) no Caldo EC foi anotado para determinar o NMP de coliformes termotolerantes por grama da amostra.

O esquema para análise de coliformes termotolerantes está descrito na Figura 3.

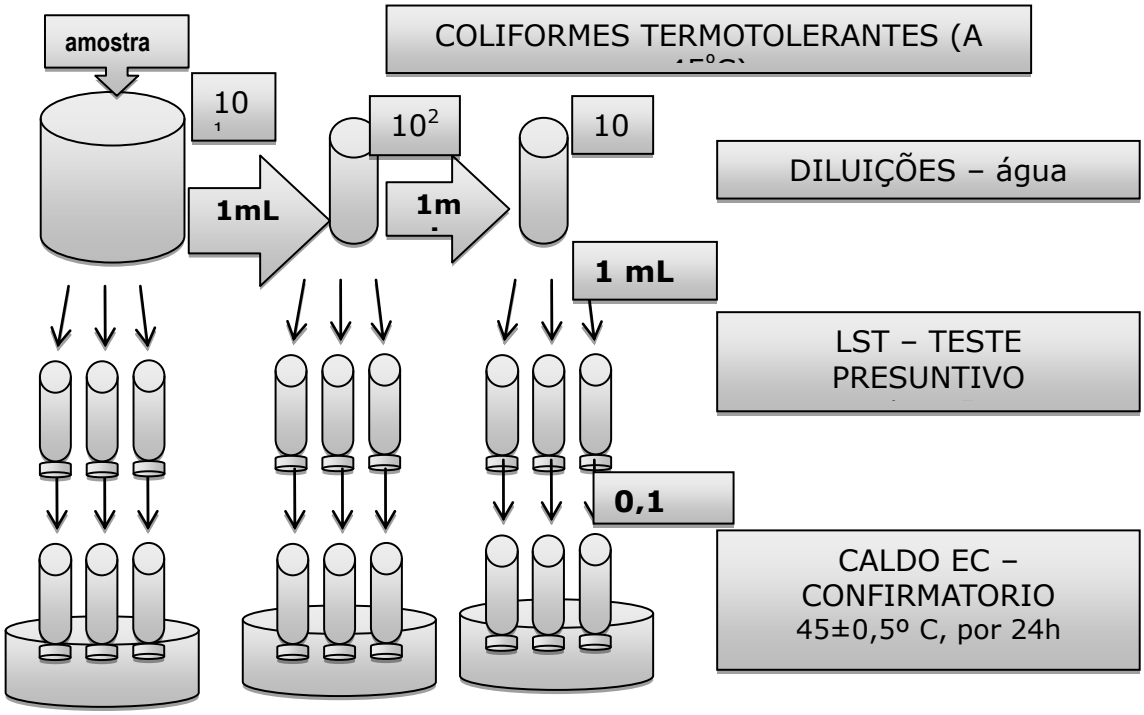

Figura 3. Esquema de análise de coliformes termotolerantes em alimentos pelo método APHA do NMP (SILVA, 2010).

Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada inoculando-se a mostra em meios de pré-enriquecimento (Caldo Lactosado) incubados a 35°C por 24 h. Posteriormente, para o enriquecimento seletivo foi inoculada uma alíquota de 0,1 mL para 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) e 1 mL para 10 mL de Caldo Tetrationato. O Caldo RVS foi incubado a 42±1ºC por 24h e o Caldo Tetrationato a 35±2º C por 24h. Posteriormente, foi efetuada a passagem para os meios seletivos de Ágar Verde Brilhante (BG), e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLDA). As colônias características foram repicadas para os meios de diferenciação TSI e Ágar Lisina-Ferro (LIA-Merck) e com incubação a 35°C por 24 h. Em seguida, as colônias características procedentes do Agar TSI e LIA-Merck foram submetidas aos testes sorológicos: antissoro somático (poli O) e flagelar (poli H).

O esquema geral para análise de *Salmonella* spp. está descrito na Figura 4.

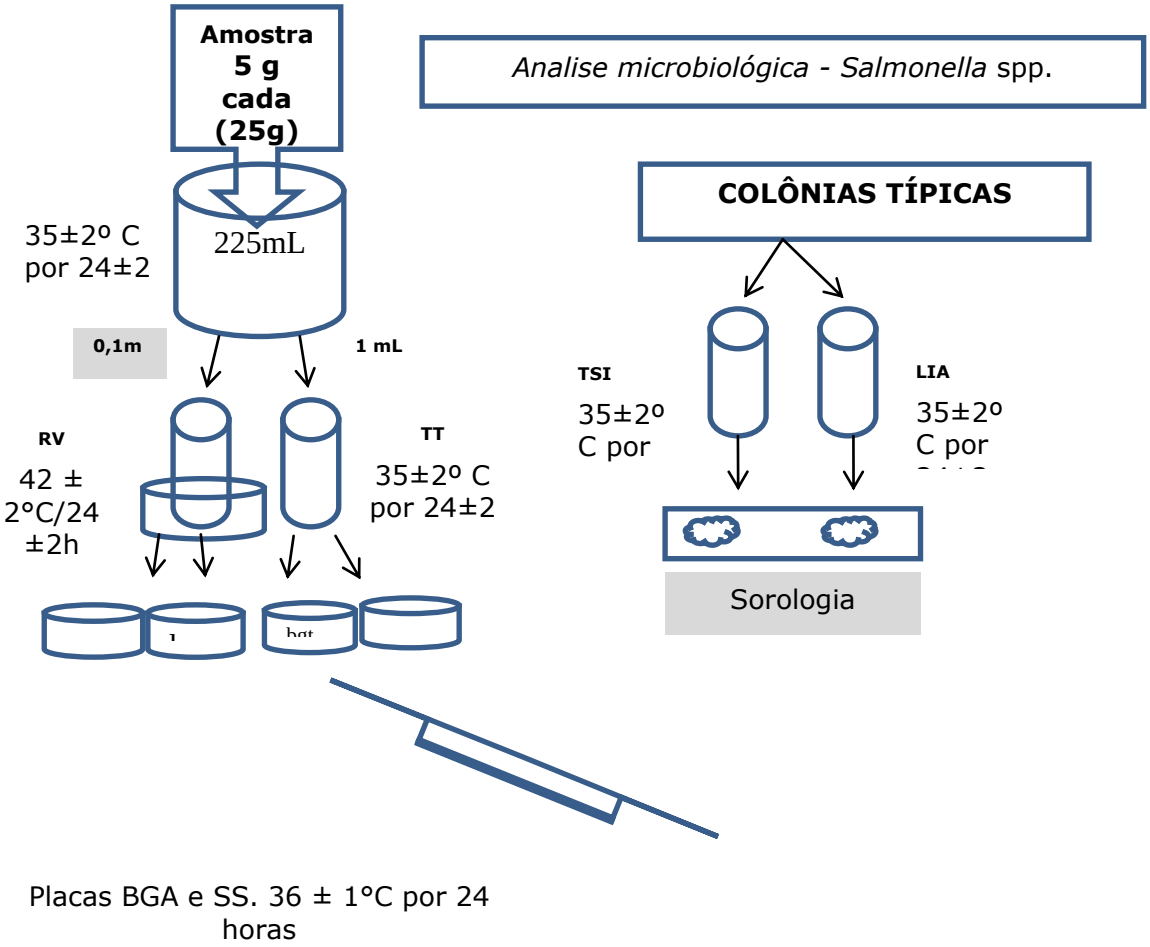

Figura 4: Esquema geral para análise de *Salmonella* spp. (SILVA, 2010)

Análise dos Dados

Os resultados foram apresentados considerando a amostra representativa dos lotes, segundo plano de amostragem e padrões especificados na legislação RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001), e os lotes classificados em Condições Sanitárias Satisfatórias (CSS) e Condições Sanitárias Insatisfatórias (CSI), comparando-os entre as creches e as duas fases: antes e após a capacitação das TNE.

Apêndice 2. Metodologia do capítulo 3 - Qualidade de refrescos de caju e maracujá servidos em creches municipais de Cuiabá – Mato Grosso

Local e Período de estudo

O estudo foi realizado entre os meses de abril e maio de 2015 em creches da rede municipal de Cuiabá, atendidas pelo PNAE e localizadas na região leste da cidade em virtude da maior (33%) representatividade de alunos no município.

As creches escolhidas foram aquelas sem lactário, localizadas na área urbana da cidade e com sede própria. O estudo foi desenvolvido em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), considerando o tratamento a creche e os blocos o dia da semana em que o suco foi servido. Participaram da pesquisa oito creches, denominadas C1 a C8, com três blocos em cada creche.

Cuiabá (-15º35'46" W e -56º 05' 48" S) capital de Mato Grosso, é considerada o "centro geodésico da América do Sul" e se localiza na região centro-sul do Estado, com área total de 3.363 Km². O clima é predominantemente tropical quente sub-úmido, e está cercada por três grandes ecossistemas: a Amazônia, o Cerrado e o Pantanal. Está próximo do Parque Nacional da Chapada dos Guimarães, tendo um rio, que leva o mesmo nome da cidade, um importante afluente do rio Paraguai. A "cidade verde" como é conhecida, tem funções político-administrativas, é polo industrial, comercial e de serviços do Estado de Mato Grosso.

A prefeitura de Cuiabá conta com 54 creches próprias, sem considerar as filantrópicas e entidades comunitárias (creches conveniadas), sendo 50 creches urbanas e quatro rurais. As creches públicas municipais atendem a 6817 (85%) crianças com idade entre quatro meses a três anos e 11 meses e as creches filantrópicas que recebem recursos do PNAE pela prefeitura de Cuiabá atendem 1.170 crianças (15%).

As creches da rede municipal de Cuiabá estão distribuídas em quatro grandes regiões, conforme regras de abairramento da prefeitura (CUIABÁ, 2010) (Figura 1a).

As creches utilizadas no estudo estão localizadas na Região Leste (Figura 1b) que ocupa a área urbana central do município de Cuiabá, é composta por 111 localidades (loteamentos regulares, loteamentos clandestinos, assentamentos informais, núcleos habitacionais, condomínios) distribuídas em 49 bairros, e uma

grande área de expansão urbana. Possui 28% das creches urbanas da rede pública municipal e 33% dos alunos de creches, totalizando 1.767 alunos (CUIABÁ, 2010).

Amostras

Para avaliar a qualidade da polpa utilizada para produção dos refrescos foram coletadas cinco amostras de polpas de caju e de maracujá para a análise microbiológica. Para verificação da qualidade físico-química da polpa foi coletada uma amostra da polpa de cada fruta que, a seguir, foram identificadas e transportadas em caixas isotérmicas para o Laboratório de Microbiologia e de Bromatologia da Universidade de Cuiabá (UNIC), mantidas congeladas em temperatura de -18ºC até o inicio das análises.

Para as análises microbiológicas dos refrescos foram coletadas, aleatoriamente, de cada creche cinco amostras de 200 mL de refresco de caju e de maracujá com três repetições, totalizando 240 amostras de refrescos.

Para as análises físico-químicas dos refrescos foi coletada uma amostra de refresco de caju e de maracujá em cada tratamento (denominados C1 a C8), em três blocos ou dia da semana em que o refresco foi servido, totalizando 48 amostras. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

As amostras de refresco foram identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo em gel e enviadas para o laboratório de microbiologia e laboratório de bromatologia da Universidade de Cuiabá – UNIC, mantidos refrigerados até o início das análises.

Análises microbiológicas

Para as amostras de polpas provenientes do fornecedor e que deram origem aos refrescos e para as amostras de refrescos de caju e maracujá provenientes das creches foi realizada a análise para determinação de *Salmonella/*25g*,* contagem de Coliformes Termotolerantes pela técnica do Número Mais Provável (NMP) conforme preconiza a RDC 12 (BRASIL, 2001) que regulamenta Padrões Microbiológicos para Alimentos. Apesar de não contemplada pela legislação atual, foi realizada a contagem total de bolores e leveduras pela importância na determinação da qualidade. A metodologia utilizada para a análise de Coliformes Termotolerantes e Contagem Total

de Bolores e Leveduras foi da American Public Health Association (APHA) e para a análise de *Salmonella sp* foi utilizado o método da *Food and Drug Administration* (FDA), do *Bacteriological Analytical Manual* (BAM). Todas as metodologias adotadas estão descritas em Silva (2010).

Preparo e diluição das amostras para análises de contagem de coliformes termotolerantes e contagem total de bolores e leveduras

Foram retirados, assepticamente, 10 mL de cada amostra, transferidos para frascos contendo 90 mL de água peptonada estéril que é rica em aminoácidos dos quais bactérias a serem identificadas se utilizam para formar as proteínas necessárias para seu metabolismo. Assim, esse meio foi utilizado para aumentar o número de possíveis bactérias presentes na amostra, ou mesmo para fazer com que as mesmas expressem completamente suas características metabólicas e, após homogeneização, a mesma foi considerada como a diluição inicial de 10^{-1}. A seguir, 1 mL desta primeira diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de água peptonada, obtendo-se assim a diluição de 10^{-2}, e sucessivamente foi obtida, pelo mesmo procedimento, a diluição 10^{-3}.

Contagem de Coliformes Termotolerantes

Para a análise de contagem Coliformes Termotolerantes foi utilizado o método de Número Mais Provável, através da Técnica dos tubos múltiplos. Essa técnica divide-se em duas etapas: teste presuntivo e teste confirmativo. Para o teste presuntivo, foram preparadas três séries de três tubos com 9 mL , para as diluições 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}, do meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo em seu interior, tubos de Durhan invertidos. O LST contém lactose e a positividade do teste se dá através do crescimento microbiano com produção de gás a partir da lactose, após 24-48h de incubação a 35±2°C. Essa etapa é considerada como suspeita/presuntiva da presença de coliformes na amostra analisada. Desta forma, alíquotas de 1,0 ml de cada diluição (10^{-1},10^{-2} e 10^{-3}) desta etapa foram transferidas para as séries de três tubos. Todos os tubos foram identificados e incubados por 24-48h a 35±2°C. Após esse período, os tubos em que houve a formação de gás, foram identificados e considerados presuntivos para Coliformes. Para o teste confirmativo, foram utilizados

tubos, contendo 10 mL Caldo *E. Coli* (EC), meio seletivo e que também contêm lactose. Todos os tubos preparados também continham tubos de Durhan invertidos. Para esta etapa foram utilizados os tubos positivos do teste presuntivo. Foi retirada uma alçada dos tubos suspeitos e transferidos para tubos contendo o meio EC. Os tubos com o meio EC, foram incubados em banho-maria a uma temperatura de 45±0,5º C, por 24h. Foi considerado positivo para Coliformes termotolerantes, os tubos com Meio EC com formação de gás. Os dados foram calculados e expressos em Número mais Provável (NMP/g) de coliformes totais, a partir do número de tubos positivos no meio EC.

O esquema para análise de coliformes termotolerantes está descrito na Figura 3.

Contagem Total de Bolores e Leveduras

O preparo das amostras e diluições foi o mesmo adotado para coliformes termotolerantes, considerando duas amostras por creche, nas diluições 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}. Depois de diluídas as amostras, foram inoculados 0,1mL de cada diluição em placas de petri previamente preparadas e secadas com o meio de cultura Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), específico para alimentos com atividade de água maior que 0,95% (SILVA, 2010).

O inóculo foi espalhado com uma alça de Drigalski, nas placas de maior para menor diluição, até o excesso do líquido ser absorvido. Assim que as placas secaram, foram incubadas a 22-25º C por 5 dias, sem inverter, em pilhas de não mais de 3 placas, no escuro (Figura 3). Para a contagem das colônias de bolores e leveduras foi considerada a media da soma das colônias das duas amostras, multiplicadas por dez e pelo inverso da diluição (Figura 5).

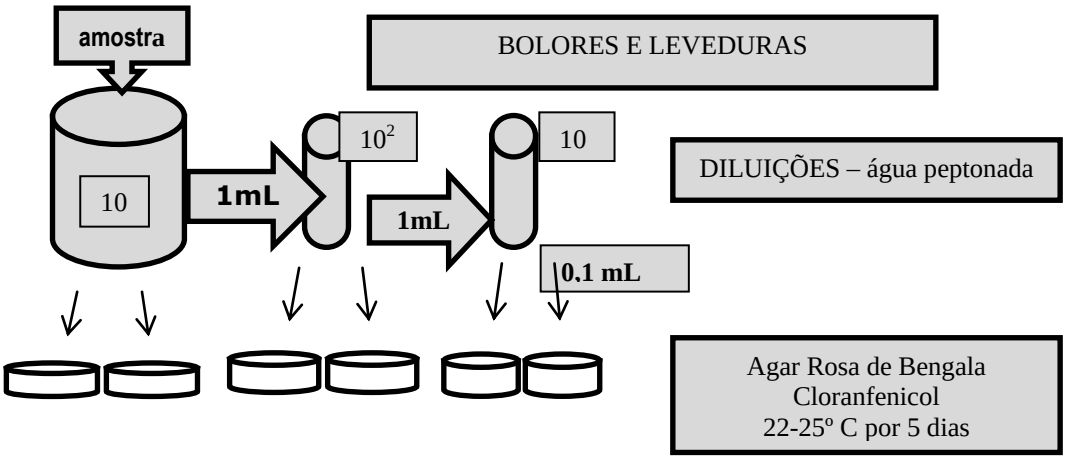

Figura 5. Esquema geral de análise para contagem de bolores e leveduras em placas. (SILVA, 2010).

Determinação de *Salmonella* spp.

Enriquecimento seletivo para *Salmonella* spp.

Para esta, foi realizada uma amostra composta das 5 amostras, retirando, assepticamente, 5 g de cada amostra (total de 25 g) e transferindo para frasco contendo 225 mL (diluição de 1:10) de caldo lactosado a 1%, com o intuito de aumentar a recuperação de espécies de *Salmonella sp.* danificadas no alimento. Feito isso, os frascos foram identificados e incubados a 35±2º C por 24±2 horas.

A partir do pré-enriquecimento, foi inoculado simultaneamente 0,1mL da amostra para tubos (esterilizado anteriormente em autoclave) contendo 10 mL dos caldos de enriquecimento seletivo: Rappaport-Vassiliadis, e Tetrationato-Novobiocina. A este último foi adicionado 0,2mL de solução de Iodo iodeto de potássio e 0,1 mL de solução de verde brilhante. Isso se faz necessário para restringir/inibir o crescimento excessivo de *Proteus spp* que também é capaz de produzir a enzima tetrationato-redutase como a *Salmonella sp.* Os tubos de Rappaport-Vassiliadis foram então incubados a 42 ± 2°C/24 ±2h, em banho-maria, e os tubos de Tetrationato-Novobiocina incubados em estufa a 35 ± 2°C/24 ±2h.

Isolamento para *Salmonella sp.*

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento foi transferida uma alçada sobre a superfície de placas de Petri com os meios seletivos, Ágar Verde Brilhante (BGA) e o Salmonella Shiguella (SS), estriando de forma descontínua. O primeiro foi

escolhido, pois a *Salmonella sp,* quando presente, fermenta a lactose e sacarose, presentes no meio sem a produção de H_2S. Já o SS foi escolhido por ser um meio sólido seletivo para *Salmonella sp* (fermenta lactose com produção de sulfeto de hidrogênio - H_2S) (BRASIL, 2001). Todas as placas foram incubadas invertidas a 36 ± 1°C por 24 horas. Destas foram selecionadas de 3 a 5 colônias por amostra que apresentarem características típicas de *Salmonella sp*., para a realização dos testes bioquímicos. Foram consideradas típicas as colônias a que no ágar SS apresentaram-se negras no centro (produção de sulfureto de hidrogênio) com halo transparente. Já no BGA, o extrato de levedura e duas peptonas fornecem os nutrientes; a lactose e a sacarose, juntamente com o vermelho de fenol, fornecem um sistema de diferenciação que exclui os fermentadores da lactose e/ou sacarose, enquanto que a *Salmonella sp*. não produz ácido a partir destes açúcares, sendo assim, as colônias apresentam-se róseas a lilás.

Provas bioquímicas e sorológicas para *Salmonella sp.*

As colônias típicas ou suspeitas de *Salmonella* já descritas, foram selecionadas para identificação de *Salmonella sp* utilizando as provas de Reação de TSI (ágar ferro-açúcar triplo) e Descarboxilação da lisina (ágar Lisina Ferro – LIA). Cada tubo contendo os meios em questão, invertidos tinham as colônias suspeitas repicadas através da técnica de semeadura em profundidade e incubadas por 24 horas a 37±2°C. Essas duas técnicas bioquímicas foram selecionadas, pois são utilizadas na diferenciação de bastonetes Gram negativos com base na fermentação e produção de gás dos carboidratos, glicose, lactose e sacarose, além da produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S). (Tabela 1)

Tabela 1: Interpretação das reações em Meios TSI e LIA

	TSI	**LIA**
Base	Amarela (fermentação da Glicose)	Púrpura (descaboxilização da lisina – alcalina)
Ápice/rampa	Amarela (fermentação da lactose e/ou sacarose)	Púrpura (desaminação da lisina)
H_2S	Com produção (bolhas e rachaduras com coloração negra)	Com produção (bolhas e rachaduras com coloração negra)

Fonte: BRASIL (2001)

Os tubos considerados positivos para *Salmonella* spp. foram então submetidos aos testes sorológicos: antissoro somático (poli O) e flagelar (poli H). Estes testes se baseiam na presença de antígenos específicos para a *Salmonella sp*. No caso antígeno Flagelar (poli H), o mesmo está presente nas enterobactérias móveis e sua composição é proteica (flagelina). Já o antígeno somático reage com a parede celular da bactéria. A positividade dos testes se dá pela aglutinação das células (grânulos finos não dissociáveis pela agitação). O esquema para análise para identificação da presença ou ausência de *Salmonella* spp. está descrito na Figura 4.

Análise dos dados

Os resultados das análises de *Salmonella* e coliformes a 45ºC foram apresentados considerando a amostra representativa dos lotes, segundo plano de amostragem e padrões especificados na legislação RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001), e os lotes classificados em Condições Sanitárias Satisfatórias (CSS) e Condições Sanitárias Insatisfatórias (CSI). Para as análises de contagem total de bolores e leveduras, os resultados foram apresentados considerando o antigo padrão de 10^4 UFC (BRASIL, 1997) e os achados na literatura.

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas das polpas e refrescos seguiram os Métodos Químicos e Físicos para a Análise de Alimentos do Instituto Adolf Lutz (IAL, 2008).

Para as amostras de polpas obtidas do fornecedor foram realizadas as seguintes análises: teor de vitamina C (mg/100 g), quantidade de açúcar total (g/100 g), pH, acidez em ácido cítrico em 100 g e sólidos solúveis totais (ºBRIX a 20º C). E para os refrescos, além destes, foi feita a determinação de açúcares não redutores (g/100 g).

Cada amostra foi analisada em triplicata, cujos resultados das análises físico-químicas compuseram a média aritmética e respectivo desvio padrão para a expressão do resultado final da amostra.

Determinação do teor de vitamina C

Para determinação da vitamina C foi utilizado o método de titulação com iodato de potássio. Foram medidos 5 mL da amostra e transferidos para um Erlenmeyer, adicionados de 50 mL de água destilada, 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% v/v, 1 mL de solução de iodeto de potássio a 10% m/v e 1 mL de solução de amido a 1% m/v. Após agitar para a homogeneização, foi titulado com solução de iodato de potássio 0,002 M até coloração azul.

Através da fórmula (100 x V x F)/P = mg de vitamina C % m/m procedeu-se ao cálculo do teor de vitamina C por cento m/m, onde:

V= volume em mililitros de iodato de potássio 0,002 M gastos na titulação;

F= 0,8806 (1 mL de iodato de potássio 0,002 M equivale a 0,8806 mg de ácido ascórbico);

P= massa em gramas ou volume em mililitros da amostra usada na titulação.

Determinação do açúcar total

Para esta determinação foi utilizado o método titulométrico de Lane-Eynon que se baseia na redução de um volume conhecido do reagente de cobre alcalino (Fehling) a óxido cuproso pelos grupos redutores dos açúcares, onde o ponto final é indicado pelo azul de metileno.

Foram pesados 5 g de amostra e transferidos para balão volumétrico de 250 mL, adicionado um pouco de água sob agitação até o volume ser completado com água destilada até a obtenção de um filtrado.

Foram transferidos 25 mL deste filtrado para um Erlenmeyer de 250 mL e adicionados 2 mL de ácido clorídrico (na capela). Ainda na capela foi colocado em uma chapa aquecedora até fervura seguida do resfriamento em temperatura ambiente, quando então foi neutralizado com hidróxido de sódio 10%, (acompanhando com pHmetro) e depois transferido para um balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com água destilada. A solução foi filtrada e transferida para uma bureta de 25 mL. Foram adicionados em um Erlenmeyer (250 mL) 5 mL de cada solução de Fehling (A e B), 40 mL de água destilada e algumas pérolas de vidro (ou peixinho) e aquecidos em chapa até fervura. A solução da bureta foi adicionada gota a gota, agitando sempre até ficar levemente desbotada. Mantendo a solução em ebulição, foi adicionada uma gota de azul de metileno a 0,5% para a titulação, até a descoloração do indicador

(resíduo vermelho no fundo do Erlenmeyer). A seguir procedeu-se ao cálculo através da fórmula $\frac{FC \times 250 \times 100 \times 100}{V \times P}$, onde:

FC = fator da solução de glicose = g de glicose correspondente a 10 mL de cada solução de Fehling (A+B)

V = mL da solução de amostra gasta na titulação

P = peso da amostra em g

Determinação do açúcar redutor

Para esta determinação foi utilizado o método titulométrico de Lane-Eynon que se baseia na redução de um volume conhecido do reagente de cobre alcalino (Fehling) a óxido cuproso pelos grupos redutores dos açúcares, onde o ponto final é indicado pelo azul de metileno.

Foram pesados 5 g de amostra e transferidos para balão volumétrico de 250 mL, adicionado um pouco de água sob agitação até o volume ser completado com água destilada até a obtenção de um filtrado.

Foram transferidos 25 mL deste filtrado para uma bureta. Foram adicionados em um Erlenmeyer (250 mL) 5 mL de cada solução de Fehling (A e B), 40 mL de água destilada e algumas pérolas de vidro (ou peixinho) e aquecidos em chapa até fervura. A solução da bureta foi adicionada gota a gota, agitando sempre até se apresentar levemente desbotada. Mantendo a solução em ebulição, foi adicionada uma gota de azul de metileno a 0,5% para a titulação, até a descoloração do indicador (resíduo vermelho no fundo do Erlenmeyer). Aplicou-se a fórmula $\frac{FC \times 250 \times 100}{V \times P}$, onde:

FC = fator da solução de glicose = g de glicose correspondente a 10 mL de cada solução de Fehling (A+B)

V = mL da solução de amostra gasta na titulação

P = peso da amostra em g

pH

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) foi realizada com auxílio do aparelho de pH, calibrado com soluções tampão 4 e 7, a cada verificação.

O pH da polpa foi avaliado em uma mistura de 100 mL de água destilada com 10 mL da polpa seguida de homogeneização, sendo este procedimento desnecessário para os refrescos que tiveram sua leitura diretamente nas amostras.

Determinação de acidez em ácido cítrico

Através da fórmula (V x f x M x PM)/(10 x P x n) = g de ácido cítrico % m/v, procedeu-se ao cálculo da acidez em ácido cítrico, onde:

V= volume em mililitros da solução de hidróxido de sódio 0,1M gasta na titulação;

f= fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M;

M= molaridade da solução de hidróxido de sódio;

PM= peso molecular do ácido cítrico (192 g);

P= volume em miligramas da amostra usada na titulação;

n= número de hidrogênios ionizáveis (3).

Sólidos solúveis em ºBRIX a 20º C

Os sólidos solúveis (SS) foram medidos diretamente em refratômetro de mesa, transferindo-se de uma a duas gotas para o prisma do aparelho. Os graus BRIX (°BRIX) foram lidos e corrigidos na escala com correção de temperatura a 20°C, conforme proposto por IAL (2008).

Análise dos dados

Os dados físico-químicos das amostras dos refrescos foram analisados estatisticamente, utilizando o software Assistat versão 7.7. Para verificar se houve diferença estatística significante entre as variáveis, foram aplicados a ANOVA e o teste de Scott-Knott, quando verificada diferença estatisticamente significante.

Para diminuir a variância dos dados antes da aplicação da ANOVA todos os dados foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$.