

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**HIGIENIZAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

**Joana Ozga Immig**

**PORTO ALEGRE**

**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**Higienização na Indústria de Alimentos**

**Autora: Joana Ozga Immig**

**Trabalho apresentado como requisito  
parcial para graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientadora: Andréa Troller Pinto  
Coorientador: Cláudio Estêvão Farias  
da Cruz**

**PORTO ALEGRE**

**2013**

## RESUMO

As condições higiênico-sanitárias em uma indústria de alimentos são fundamentais para a qualidade do produto final. A limpeza e a sanitização evitam a contaminação e aumentam a vida de prateleira do produto oferecido à população, evitando dessa forma, não só prejuízos financeiros para indústria e consumidores, como também problemas relacionados à saúde pública. Os nutrientes que compõem o leite, como as proteínas, gorduras, carboidratos e sais minerais, deixam resíduos nos equipamentos de processamento da indústria, os quais, se não forem bem removidos, poderão acarretar em problemas de qualidade. Esse trabalho tem como objetivo descrever as etapas da higienização, os agentes de limpeza e de sanitização que podem ser utilizados, as superfícies e algumas consequências que podem ocorrer com a má higienização.

**Palavras chave:** Resíduos.Higienização.Biofilme.Qualidade.

## ABSTRACT

*Adequate sanitary conditions in the food industry are fundamental to promote the quality of the final product. Cleaning and sanitization prevent contamination and increase the shelf life of the product offered to the population, thus avoiding not only financial loss to the industry and consumers, as well as problems related to public health. The milk nutrients, such as proteins, fats, carbohydrates and mineral salts, may left waste in the processing equipment industry which, if not properly removed, may lead to quality problems. This paper describes the stages of cleaning, cleaning and sanitizing-agents that can be used, surfaces and some consequences that can occur with poor hygiene.*

**Keywords:** *Waste. Sanitization. Biofilm. Quality.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Limpeza de equipamento com peróxido de hidrogênio.....	28
Figura 2-	Remoção de rodas dentadas internas de um equipamento durante uma operação COP e colocação de uma corrente transportadora em um tanque COP.....	34
Figura 3-	Exemplo de tanque COP usado para lavagem de pequenas peças.....	34
Figura 4-	Microcolônias de uma biofilme de <i>Staphylococcus sciuri</i> .....	35
Figura 5-	Representação da formação do biofilme.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Solubilidade em água, facilidade de remoção e o efeito do calor dos principais resíduos em equipamentos de processamento de laticínios.....	15
Tabela 2 - Condições de uso de sanitizantes químicos mais usados para controle de microrganismos em superfícies de processamento na indústria de alimentos.....	28
Tabela 3 - Eficiência sobre microrganismos de alguns sanitizantes químicos nas condições de uso para controle de microrganismos em superfícies de processamento na indústria de alimentos.....	29
Tabela 4 - Exemplos de etapas da lavagem CIP.....	32
Tabela 5 - Riscos de um procedimento higienização de um pasteurizador de leite.....	40

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>SUPERFÍCIES MAIS COMUNS EM PLANTAS DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Metais.....</b>	<b>10</b>
2.1.1	Aço-carbono.....	10
2.1.2	Aço inoxidável.....	10
<b>2.2</b>	<b>NÃO METAIS.....</b>	<b>11</b>
2.2.1	Madeira.....	11
2.2.2	Materiais poliméricos e elastômeros.....	11
2.2.3	Tinta.....	12
2.2.4	Vidro.....	12
<b>3</b>	<b>PRINCIPAIS RESÍDUOS.....</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>AGENTES DETERGENTES.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1</b>	<b>Ácidos.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2</b>	<b>Agentes sequestrantes.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3</b>	<b>Alcalinos.....</b>	<b>17</b>
<b>4.4</b>	<b>Enzimas.....</b>	<b>18</b>
<b>4.5</b>	<b>Fosfatos.....</b>	<b>18</b>
<b>4.6</b>	<b>Tensoativos.....</b>	<b>18</b>
<b>5</b>	<b>SANITIZANTES.....</b>	<b>20</b>
<b>5.1</b>	<b>Agentes físicos.....</b>	<b>20</b>
5.1.1	Calor.....	20
5.1.2	Radiação ultravioleta.....	20
<b>5.2</b>	<b>Agentes químicos.....</b>	<b>22</b>
5.2.1	Ácido peracético.....	22
5.2.2	Álcoois.....	22
5.2.3	Clorhexidina.....	23
5.2.4	Compostos clorados.....	23
5.2.5	Compostos de amônia quaternária (surfactantes catiônicos).....	25
5.2.6	Compostos fenólicos.....	25
5.2.7	Iodóforos.....	26

5.2.8	Ozônio.....	26
5.2.9	Peróxido de hidrogênio.....	27
<b>6</b>	<b>ETAPAS DA HIGIENIZAÇÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>6.1</b>	<b>Métodos: CIP (<i>Cleaning In Place</i>) COP (<i>Cleaning Open Place</i>) e manual.....</b>	<b>30</b>
<b>7</b>	<b>FORMAÇÃO DE BIOFILME.....</b>	<b>35</b>
<b>7.1</b>	<b>Estratégias de controle.....</b>	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>RESPONSABILIDADE TÉCNICA.....</b>	<b>43</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A manutenção da qualidade dos produtos de origem animal é um desafio para toda a cadeia produtiva. A indústria de alimentos deve assegurá-la através de procedimentos de higienização que não interfiram nas propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos, satisfaça os consumidores e que não ofereçam riscos à saúde humana (GERMANO; GERMANO, 2001).

A higienização na indústria de alimentos se insere junto as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e à Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), e tem como objetivo principal a obtenção de produtos seguros para a população humana (ANDRADE, 2008).

O leite, por ser um alimento completo, cuja composição inclui água, proteínas, gordura, vitaminas e minerais, torna-se também um meio de cultura ideal para o desenvolvimento de microrganismos. Os equipamentos devem ser devidamente limpos para não contaminar os alimentos e se forem inadequadamente higienizados, os microrganismos permanecem e se multiplicam no equipamento aumentando, dessa forma, os riscos de contaminação (RIBAS, 2008).

A importância da pesquisa e do conhecimento associado com as etapas da limpeza e, o uso dos diferentes produtos para higienização e sanitização na indústria de laticínios estão em oferecer aos consumidores produtos com qualidade, respeitando as características sanitárias do alimento. Entre os produtos utilizados na limpeza estão os detergentes alcalinos, ácidos e os tensoativos. Para a sanitização, há meios físicos e químicos.

A natureza das superfícies a serem higienizadas e a qualidade da água também são fatores importantes para o sucesso dos procedimentos de higiene da indústria.

O nível de inocuidade, ou a capacidade do alimento de não causar dano à saúde do consumidor, representa a responsabilidade da cadeia do leite perante a sociedade e o compromisso assumido com a saúde humana, ou seja, é produto de esforço combinado de todos os participantes da cadeia produtiva (DÜRR; CARVALHO; SANTOS, 2004).

A tendência na procura de alimentos de boa qualidade reflete a preocupação da população mundial com a segurança alimentar. Do ponto de vista da saúde pública há o entendimento de que uma contaminação microbiológica pode afetar milhares de pessoas, causando sérios problemas. (BENTO, 2008).

A higienização é composta pelas etapas de limpeza e sanitização das superfícies, ambientes de processamento, equipamentos, utensílios, manipuladores e ar do ambiente de

processamento. A limpeza tem como objetivo fundamental remover os resíduos orgânicos e minerais aderidos às superfícies, constituídos principalmente por carboidratos, proteínas, gorduras e sais minerais. Já a sanitização engloba a eliminação dos microrganismos patogênicos e a redução do número dos deteriorantes a níveis considerados seguros para a população humana (ANDRADE, 2008).

## **2 SUPERFÍCIES MAIS COMUNS EM PLANTAS DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS**

Os materiais que compõe a superfície com a qual o alimento entrará em contato devem ser resistentes à corrosão, não podem ser tóxicos, devem ser mecanicamente estáveis. Não devem apresentar qualquer influência adversa ao produto como a transmissão de odores, cores ou manchas indesejáveis, nem contribuir para a contaminação deste (DUTRA; ALLES; MARIOT, 2008).

Algumas dessas superfícies podem propiciar processos de adesão bacteriana e formação de biofilme. O processo de adesão ocorre quando a contagem de microrganismos na superfície atinge valores entre  $10^4$  UFC.  $\text{cm}^{-2}$  e  $10^5$  UFC.  $\text{cm}^{-2}$ , contagens acima desses valores já caracterizam a formação de biofilme (ANDRADE, 2008).

As superfícies mais comuns nas plantas de processamento de alimentos são:

### **2.1 Metais**

#### **2.1.1 Aço-carbono**

Por ser um metal propenso à ferrugem por detergentes ácidos e clorados, o aço-carbono muitas vezes é estanhado ou galvanizado e, deve ser limpo por detergentes neutros (MARRIOTT, 1999).

#### **2.1.2 Aço inoxidável**

A superfície em aço inoxidável é amplamente utilizada na indústria de alimentos por ser geralmente resistente à corrosão; lisa e impermeável (exceto quando corroída), além de resistente à oxidação a altas temperaturas, de limpeza fácil e, não magnética. O aço inoxidável é caro e pode ser menos abundante no futuro. Certas variedades são atacadas por átomos de halogênio (cloro, iodo, bromo e, flúor). A seleção da classe a ser utilizada depende de fatores como propriedades corrosivas (íons químicos envolvidos, pH e temperatura), processos de limpeza, produtos químicos sanitizantes. Em termos objetivos, a escolha do tipo de aço inox a ser utilizado será influenciada pelas tensões que o material será submetido, pelo seu processo de fabricação e custo.

A presença de fissuras e sulcos na superfície de aço inoxidável provoca a entrada dos resíduos de alimentos, tais como a proteína, gordura, açúcares que dificultam a eficiência do processo de limpeza devido ao acúmulo de bactérias que, por sua vez pode iniciar o processo de adesão e a formação de biofilme (BERNARDES, 2012).

## **2.2 NÃO METAIS**

### **2.2.1 Madeira**

Dutra, Alles e Mariot (2008) afirmam que esse material pode ser utilizado em alguns casos específicos como, por exemplo, quando auxilia na regulação da umidade relativa ou microbiana como na maturação de queijo, devendo ser limpas e desinfetadas de formas efetivas por reterem microrganismos capazes de se multiplicarem com os nutrientes do alimento.

A utilização de materiais que não possam ser higienizados ou desinfetados adequadamente, como no caso a madeira, devem ser evitados, a menos que a tecnologia utilizada faça seu uso imprescindível e que seu controle demonstre que não se constitui uma fonte de contaminação (BRASIL, 1997). Outros materiais como aço inoxidável, polietileno e materiais de borracha devem ser usados no seu lugar (MARRIOT, 1999).

### **2.2.2 Materiais poliméricos e elastômeros**

A borracha utilizada deve ser não porosa e não esponjosa. Não é afetada por detergentes alcalinos, mas sim por solventes orgânicos e ácidos fortes (Marriott, 1999). Borrachas e outros materiais elastômeros podem ser danificados por compressões térmicas ou mecânicas excessivas ou por algum tipo de deformação, afetando negativamente o grau de higienização desse tipo de material (DUTRA; ALLES; MARIOT, 2008).

Entre os diversos polímeros que podem ser utilizados na indústria, Dutra, Alles e Mariot (2008) citam ainda o Politetrafluoretileno (PTFE) como sendo um material que pode ser poroso e de difícil limpeza, mas que existem classes desse material modificado e os copolímeros tratados com flúor (resina perfluoralcóxi-PFA) que são mais facilmente higienizados.

Na resolução nº 123, de 19 de junho de 2001 da ANVISA, que aprova o Regulamento técnico sobre embalagens e equipamentos elastoméricos em contato com alimentos, apresenta

(além de uma lista contendo quais são os polímeros elastoméricos e as restrições de uso) as seguintes atribuições:

- As embalagens e equipamentos elastoméricos não devem ocasionar modificações inaceitáveis na composição dos alimentos ou nas características sensoriais dos mesmos.

- Os corantes e pigmentos empregados para colorir as embalagens e equipamentos elastoméricos devem cumprir com os requisitos estabelecidos no Regulamento técnico sobre embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos (a metodologia analítica correspondente se encontra descrita no Anexo: corantes e pigmentos em embalagens e equipamentos plásticos do mesmo regulamento).

- Na elaboração de embalagens e equipamentos elastoméricos que entram em contato com alimentos está proibida a utilização de materiais elastoméricos provenientes de embalagens, fragmentos de objetos, borracha reciclada ou já utilizada, devendo, portanto, ser utilizado somente material de primeiro uso.

### 2.2.3 Tinta

A qualidade da superfície depende do método de aplicação da tinta, podendo ser danificada por compostos de limpeza alcalinos fortes. Certas tintas comestíveis são satisfatórias para plantas de processamento de alimentos (MARRIOTT, 1999).

### 2.2.4 Vidro

O vidro deve ser liso e impermeável; pode ser destruído por compostos de limpeza alcalinos fortes, devendo ser limpo com detergentes moderadamente alcalinos ou neutros (MARRIOTT, 1999).

De acordo com a Portaria nº 27, de 18 de março de 1996 SVS/MS:

Os vidros são materiais sólidos que possuem uma estrutura atômica molecular não cristalina, obtidos, de modo geral, pelo resfriamento de uma massa fundida em condições controladas que impedem a sua cristalização. Podem ser incolores ou coloridos. São identificados os seguintes tipos de vidro:

(A) Vidro borossilicato: tipo de vidro permitido para a fabricação de embalagens e equipamentos par a qualquer condição de contato com os alimentos, inclusive esterilização e cocção em todos os tipos de fornos industriais e domésticos.

(B) Vidro sódio-cálcico: permitido para a fabricação de embalagens e equipamentos que apresentem qualquer condição de contato com alimentos, incluindo pasteurização e esterilização industrial.

(C) Cristal (com teor mínimo de 10% de um ou mais dos seguintes metais: chumbo, bário, potássio, zinco, expressos como óxido): permitido apenas para a fabricação de artigos de uso doméstico, somente destinados a contatos breves e repetidos com alimentos.

(D) Esmaltes vitrificados: são materiais vítreos que servem como revestimento de embalagens e equipamentos de cerâmica porosa, vermelha ou branca, de vidro ou de metal (como porcelana, louça e artigos esmaltados ou vitrificados em geral), com a finalidade de impermeabilizar, proteger ou decorar.

E ainda de acordo com a mesma Portaria, as embalagens e equipamentos de cerâmica, vidro ou metal, esmaltados ou vitrificados na face em contato com alimentos, nas condições previsíveis de uso, não podem ceder para os alimentos substâncias indesejáveis, tóxicas ou contaminantes que representem um risco para a saúde humana, em quantidades superiores aos limites de migração específicos estabelecidos no mesmo regulamento técnico.

### 3 PRINCIPAIS RESÍDUOS

O leite pode servir de fonte de alimento para o homem e para os microrganismos por causa da sua composição rica em proteínas, gorduras, carboidrato e sais minerais, subjugando-se o setor de laticínios como um dos segmentos alimentares mais exigentes com relação aos seus processos de limpeza (ATHAYDE, 1998).

A adesão dos constituintes do leite em superfícies de processamento pode influenciar o processo de higiene. A tensão interfacial é uma propriedade afetada pela quantidade de agentes superfície-ativa (gorduras, proteínas, etc.) presentes nos produtos (BERNARDES, 2012).

Os resíduos que permanecem em equipamentos de processamento de alimentos fornecem um meio para a proliferação de microrganismos, além de protegerem os microrganismos do contato com agentes químicos saneantes, reduzindo a eficácia do desinfetante (MARRIOTT, 1999).

As etapas do processo de higienização levam em consideração as características de solubilidade dos resíduos de alimentos em água ou em detergentes alcalinos e ácidos. Resíduos de carboidratos e de sais minerais monovalentes podem ser removidos com certa facilidade pela água associada à ação mecânica, desde que estes resíduos não tenham sofrido a ação do calor. Já os resíduos de gordura são removidos com o uso de agentes alcalinos ou tensoativos e para a remoção de sais minerais divalentes como o cálcio e o magnésio são utilizados os agentes químicos ácidos. Para remoção de resíduos protéicos utilizam-se os agentes alcalinos (ANDRADE, 2008).

A tabela 1, abaixo, mostra os principais resíduos, a solubilidade, a facilidade de remoção e o efeito do calor, já que a ação do calor torna mais difícil a remoção dos resíduos.

Tabela 1 - Solubilidade em água, facilidade de remoção e o efeito do calor dos principais resíduos em equipamentos de processamento de laticínios.

Resíduo	Solubilidade	Facilidade de remoção	Efeito do calor
Carboidratos	Geralmente solúveis em água	Fácil	Caramelização
Gorduras	Insolúveis em água, solúveis em alcalinos, solúveis por tensoativos	Difícil	Polimerização
Proteínas	Solúveis em alcalinos Solúveis em ácidos	Difícil	Desnaturação
Sais minerais monovalentes (Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> )	Solúveis em água	Fácil	Incrustações
Sais minerais divalentes (Ca <sup>++</sup> e Mg <sup>++</sup> )	Solúveis em ácidos	Difícil	Incrustações

Fonte: Andrade, 2008, p. 188.



## 4 AGENTES DETERGENTES

De acordo com Andrade (2008), as soluções para a limpeza podem ser aplicadas de diferentes formas: (a) manualmente, (b) imersão de partes desmontáveis de equipamentos e tubulações, (c) máquinas lava jato tipo túnel, (d) equipamento spray com alta ou baixa pressão, (e) nebulização ou atomização, (f) espuma, (g) gel e, (h) circulação em sistema fechado (CIP).

Andrade (2008) ainda faz menção às características que o detergente ideal deve apresentar: saponificação, emulsificação, molhagem, capacidade de diminuir a tensão superficial, solubilizar proteínas, manter resíduos em suspensão, controlar minerais, não ser corrosivo e, ter preço acessível. Athayde (1998) menciona que o avanço na indústria química trouxe o poder de aumentar a segurança de uso, a redução do impacto ambiental e da energia necessária utilizada nas operações de limpeza com o desenvolvimento de novos detergentes.

Os principais grupos de detergentes são representados pelos agentes ácidos, alcalinos, fosfatos, agentes complexantes e os tensoativos.

### 4.1 Ácidos

Divididos em orgânicos e inorgânicos têm, como característica fundamental o controle de sais minerais na superfície de equipamentos e utensílios. O controle dos resíduos minerais pela higienização é feito através de transformações químicas, pelas quais ocorre a transformação, por exemplo, do carbonato de cálcio e o de magnésio, insolúveis em água, em nitrato de cálcio e de magnésio, os quais, dessa forma passam a ser solúveis em água. Muitas vezes para melhorar o contato entre o resíduo mineral e o detergente ácido as soluções ácidas são formuladas com tensoativos para diminuir a tensão superficial (ANDRADE, 2008).

O grupo dos orgânicos é formado pelos ácidos láctico, acético, hidroxiacético, tartárico, levulínico, glucônico, entre outros. Entre os ácidos inorgânicos estão o nítrico e o fosfórico. Por serem corrosivos, os ácidos participam de formulações que contém inibidores de corrosão como as bases nitrogenadas heterocíclicas e ariltiouréias, as quais funcionam como protetores de superfície. Já os ácidos inorgânicos são menos corrosivos que os orgânicos, porém possuem um custo mais elevado (ANDRADE, 2008).

Athayde (1998) cita que alguns detergentes com tecnologia mais avançada, como os alcalinos citados anteriormente, permitem eliminar a fase ácida, pois são capazes de eliminar a gordura deixada pelo leite, porém, são menos utilizados devido ao custo elevado.

## 4.2 Agentes sequestrantes

Os agentes sequestrantes utilizados nas indústrias alimentícias são as formas sódicas do EDTA (etilenodiaminotetracetato de sódio), do NTA (nitriacetato de sódio) e o gluconato de sódio. A função é controlar os depósitos minerais nas superfícies por formação de complexos com cálcio, manganês, ferro e outros. São mais eficientes nesta função, além de mais estáveis que os fosfatos em temperaturas mais elevadas. Porém, por apresentarem custo mais elevado, são utilizados somente para resolver problemas específicos (ANDRADE, 2008).

Conforme apresentado por Andrade (2008), em processamento de leite condensado e de leite em pó onde há formação de grossas películas de gordura e proteína contendo minerais e microrganismos, recomenda-se uma formulação de detergente alcalino com 95% de hidróxido de sódio adicionado de 5% de EDTA-Na.

## 4.3 Alcalinos

Todos os agentes alcalinos possuem como característica principal a liberação do íon hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) que promovem a saponificação dos ácidos graxos e a solubilização dos resíduos de proteínas. A reação de saponificação transforma, pelo aquecimento, os ácidos graxos insolúveis em água em sabão que, por sua vez, é solúvel em água (ANDRADE, 2008). Os principais agentes alcalinos são:

-Hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ): é o agente que libera 100% de alcalinidade cáustica responsável por sua ação de detergência e por isso muito usado no método CIP. É comercializado na forma de escamas, perolada ou líquida, devendo ser manipulado com cuidado.

-Carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ): é adicionado às formulações com média alcalinidade, por liberar 50% de alcalinidade cáustica, podendo ser usado na limpeza manual de equipamentos e utensílios.

-Metassilicato de sódio ( $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ): sua principal função é de atenuar a corrosividade das formulações das quais participa.

Outros agentes alcalinos citados e que têm como principal característica o pH acima de 12,0 incluem ortossilicato de sódio ( $2 \text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2 \cdot 5,5 \text{H}_2\text{O}$ ), sesquissilicato de sódio ( $3$

$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2 \cdot 11 \text{H}_2\text{O}$ ), tetraborato de sódio ( $\text{Na}_2 \text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ ) e fosfato trissódico ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ).

#### 4.4 Enzimas

No intuito de aumentar a eficiência da higienização, pode-se adicionar às soluções de tensoativos as enzimas lípases e proteolíticas que hidrolisam gorduras e proteínas, respectivamente. Contudo, deve-se ter cuidado com a temperatura da água, pois água quente pode inativá-las e ainda assim as enzimas funcionam melhor em meio neutro ou ligeiramente alcalino, sendo necessário avaliar a sua eficiência em detergente de alcalinidade cáustica (ANDRADE, 2008).

A investigação, de enzimas antimicrobianas que alvejam diferentes componentes celulares bacterianos e formação de biofilme, está aumentando para aplicação no controle de bactérias em alimentos, saúde e proteção ambiental. Enquanto determinadas enzimas são eficazes como agentes antimicrobianos, é também evidente que uma combinação de enzimas (proteases, enzimas de degradação de polissacarídeos, DNAases e enzimas “anti - quorum sensing” ) possa agir de forma complementar para evitar a formação de biofilme ou destruir os biofilmes microbianos já existentes (THALLINGER *et al.*, 2013).

#### 4.5 Fosfatos

Auxiliam a emulsificação dos resíduos de gordura, diminuem a dureza da água por formação de complexos solúveis com sais divalentes e auxiliam a suspensão destes resíduos.

Ortofosfato de sódio representado pelo fosfato trissódico é pouco utilizado por precipitar os sais de cálcio e magnésio o que não é recomendado, porque poderá depositá-los nas superfícies de processamento de alimentos. Os polifosfatos de sódio (hexametáfosfato, tetrafosfato, tripolifosfato e pirofosfato), em suas formas sódicas, atuam sobre a dureza da água formando quelatos com os sais minerais, não ocorrendo, dessa forma a formação de depósitos sobre as superfícies de processamento (ANDRADE, 2008).

#### 4.6 Tensoativos

Também chamados agentes umectantes, emulsificantes, detergentes sintéticos ou agentes de molhagem. Na sua fórmula química o agente tensoativo apresenta uma estrutura

hidrofílica (polar) e outra hidrofóbica (apolar) o que determina diminuição da tensão superficial em interfaces líquido-líquido, líquido-gás e sólido-líquido o que é de fundamental importância para que a higienização seja eficiente. Em outras palavras, os agentes tensoativos atuam de forma a colocar em contato os produtos de limpeza e os resíduos a serem removidos (ANDRADE, 2008).

## 5 SANITIZANTES

A sanitização é uma etapa complementar da higienização, serve para assegurar a qualidade microbiológica das superfícies e deve ser realizada iminentemente antes do uso dos equipamentos, pois microrganismos indesejáveis que não foram eliminados podem se multiplicar após a etapa da limpeza a qual tem por função eliminar os microrganismos patogênicos e reduzir a níveis aceitáveis os alteradores.

De maneira geral, espera-se que os sanitizantes apresentem toxicidade e corrosividade baixas, sejam estáveis nas mais diversas condições de uso, possuam amplo espectro de ação antimicrobiana, destruam rapidamente os agentes e sejam aprovados pelos órgãos competentes como o Ministério da Saúde. Porém, não existe um único produto que apresente todas essas características, por isso, é importante conhecer as propriedades de cada um que esteja disponível para selecionar o mais adequado para cada aplicação específica (ANDRADE, 2008; HOFFMANN, 1995).

A ação dos sanitizantes é afetada pelas características das superfícies, tempo e temperatura de contato, concentração, diferentes tipos de resíduos presentes nas superfícies, pH, propriedades físico-químicas da água, substâncias inativadoras. O tipo e a concentração dos microrganismos contaminantes de superfície também influenciam, como por exemplo, os esporos que apresentam maior resistência que as células vegetativas. Ou ainda, sanitizantes que são mais efetivos sobre bactérias Gram-negativas do que para Gram-positivas (ANDRADE, 2008).

Os mecanismos de ação dos produtos desinfetantes incluem: impedimento do metabolismo celular pelo bloqueio da membrana, coagulação das proteínas celulares, dissolução de substâncias celulares, lesão irreversível e alteração da pressão osmótica (SPREER, 1991).

### 5.1 Agentes físicos

#### 5.1.1 Calor

O calor é um agente sanitizante interessante, atinge toda a superfície, inclusive ranhuras e orifícios de diversos tamanhos, além de não ser seletivo para microrganismos. Sua utilização consiste em água quente, ar quente e vapor (SPREER, 1991; ANDRADE, 2008).

A água quente deve ser usada na temperatura de 80°C durante 5 minutos, através da imersão, circulação ou diretamente na superfície (SPREER, 1991; ANDRADE, 2008). Para alcançar a esterilização das superfícies, recomenda-se o tempo de 15-20 minutos a 120-130°C (SPREER, 1991).

O mecanismo de ação da água quente consiste na alteração de DNA e RNA, no extravasamento dos constituintes do citoplasma pela alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática (ANDRADE, 2008).

O ar quente deve ser aplicado diretamente na superfície a 90°C durante 30 minutos, atuando por oxidação de substâncias essenciais ao metabolismo microbiano. Já o vapor direto é considerado a verdadeira sanitização pelo calor, utilizado o mais próximo possível da superfície por apenas 1 minuto, desnatura proteína, inativa enzimas e desorganiza os lipídeos celulares (ANDRADE, 2008).

### 5.1.2 Radiação ultravioleta

As lâmpadas ultravioletas que emitem radiação de 254 nm apresentam atividade antimicrobiana, são usadas em situações específicas de áreas de processamento e devem ser trocadas a cada seis meses (ANDRADE, 2008). Os comprimentos de onda mais eficazes, na região ultravioleta, para a inativação de microrganismos situam-se a aproximadamente 260 nm, pois corresponde à região específica na qual são absorvidos pelo DNA (GUEDES et al., 2009).

Spreer (1991) cita que uma das situações específicas é o uso para desinfecção do ar, mas recomenda cuidado com a longitude da onda, se esta for menor que 200 nm, o oxigênio do ar se converte em gás ozônio.

Guedes *et al.* (2009) explicam que o sistema UV pode ser simples, composto por um reator contendo uma ou várias lâmpadas, ou senão vários reatores em série. O importante é que a unidade seja programada para fornecer a mesma energia para todo o produto e que o tempo de exposição seja ajustado para atingir níveis apropriados de energia. E, ainda, recomendam fluxo turbulento, sendo que as velocidades mais altas garantem homogeneidade ao líquido, tornando mais rápida a inativação dos microrganismos.

## 5.2 Agentes químicos

### 5.2.1 Ácido peracético

O ácido peracético resultada reação entre o peróxido de hidrogênio e o ácido acético, ou por oxidação do acetaldeído, apresenta odor forte, pH baixo (2,8) , normalmente produzido em concentrações entre 5 e 15% (SREY; JAHID; HA, 2013). É mais eficiente que o peróxido de hidrogênio, esporocida em baixas temperaturas, permanecer ativo na presença de matéria orgânica, eficiente na eliminação de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras, vírus e de esporos bacterianos (ANDRADE, 2008). E pode ser aplicado sem enxaguar e sua eficácia não é afetada por resíduos de proteína (SREY; JAHID; HA, 2013).

Entretanto, este composto apresenta poder corrosivo ao aço inoxidável, irritante à pele e mucosas, além de baixa estabilidade ao armazenamento e incompatibilidade com ácidos, alcalinos concentrados e borrachas naturais e sintéticas (ANDRADE, 2008).

Beltrame (2012) demonstrou que o ácido peracético apresenta boa atividade em *E. coli* e *Pseudomonas fluorescens* reduzindo as células aderentes em 90 % numa concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> , mas que por outro lado , nas mesmas condições experimentais , o número de *S. aureus* foi reduzido em 50 %. No entanto, a sua eficácia aumentou em 90 % quando utilizado em concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup>. O mesmo autor afirma que o ácido peracético foi eficaz na temperatura de 10°C, em todas as concentrações testadas (0,2, 0,5, 0,8 e 1,1%) para todos os microrganismos testados que foram: *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*.

Ainda com relação a *L. monocytogenes*, Srey, Jahid e Há (2013) afirmam que um estudo mostrou que o ácido peracético pode reduzir mais de 6 log de *L. monocytogenes* em biofilmes sobre aço inoxidável, na presença de gordura e proteína residuais, com uma concentração de 2,0 ml / l, e um tempo de exposição de 10 min.

### 5.2.2 Álcoois

Os álcoois mais utilizados na indústria de alimentos são o etílico, propílico e o isopropílico. O álcool etílico é o mais utilizado em uma concentração de 70 % de principio ativo por apresentar ação antimicrobiana mais eficiente, atuando na desnaturação proteica e remoção de lipídeos na membrana celular dos microrganismos; podendo ser adicionado 2 %

de iodo ou 2 % de glicerina para higienização das mãos dos manipuladores de alimentos (ANDRADE, 2008).

Atuam como potentes bactericidas contra formas vegetativas de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos, diversos vírus e micobactérias. Porém não são esporicidas e perdem a sua eficácia na presença de matéria orgânica (PAULINO, 2010).

### 5.2.3 Clorhexidina

A clorhexidina é um composto químico sintético pertencente à família das biguanidas, a qual produz soluções aquosas que podem ser inativadas pelos sais minerais. Por não possuírem bom poder de molhagem, podem ser usadas formulações contendo tensoativos catiônicos ou não-iônicos. Já as soluções diluídas normalmente não possuem odor e nem cor e não provocam danos a pele e mucosas de manipuladores (ANDRADE, 2008).

Apresenta ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, leveduras e fungos, contudo tem fraca ação viricida e não atuam contra bacilo da tuberculose, esporos e fungos filamentosos. Age através da adsorção da superfície celular causando a perda do conteúdo intracelular (PAULINO, 2010).

Essas soluções diluídas são usadas para sanitização de equipamentos e utensílios, controle microbiológico de salmoura no processamento de queijo. Eficiência foi constatada na diluição 1:3000 correspondendo a 70 mg. L<sup>-1</sup> do princípio ativo no tratamento de salmoura e na superfície de queijo minas curado. Verificou-se também redução de 96 % na contagem de aeróbios mesófilos e de 70 % na de coliformes totais (ANDRADE, 2008).

Em um estudo, a clorhexidina apresentou eficácia em concentrações menores do que as recomendadas pelo fornecedor, assim, uma boa alternativa para o controle dos microrganismos testados. Entre eles *E. coli* com aumento na eficiência a partir de 45°C, já para *Salmonella choleraesuis* a solução foi eficiente a 45°C e 0,2% no tempo de 18 minutos, ou a 0,5% em 10 minutos. Porém, neste mesmo estudo, soluções nas concentrações de 0,2, 0,5 e 0,8% o princípio ativo não demonstrou eficácia de 10 e 45°C contra *Staphylococcus aureus* (BELTRAME, 2012).

### 5.2.4 Compostos clorados

Os compostos clorados são classificados em orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos são formados pela reação do ácido hipocloroso com aminas, iminas, amidas e imidas e os mais



utilizados na indústria de alimentos incluem: cloramina T, dicloramina T, diclorodimetilhidantoína, fenóis sódicas do ácido dicloroisocianúrico e o ácido tricloroisocianúrico. Entre os compostos inorgânicos estão o cloro gás ( $\text{Cl}_2$ ), hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ), hipoclorito de cálcio ( $\text{CaClO}_2$ ) e o dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) (ANDRADE, 2008).

De modo geral, estes compostos são muito utilizados na indústria de alimentos devido ao seu baixo valor comercial e por serem efetivos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, leveduras, fungos filamentosos e dependendo do pH da solução, podem ser efetivos contra esporos bacterianos. Atuam através da liberação do ácido hipocloroso em solução aquosa (exceção do dióxido de cloro) que é a forma não dissociada que é a forma 80 vezes mais bactericida que a forma dissociada. Podem ser usados para sanitização de pisos, paredes, tetos, equipamentos e utensílios da indústria (ANDRADE, 2008).

O hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) é conhecido por ser mais eficaz em ambientes de pH ácido e por ser um importante agente antimicrobiano no combate as células do biofilme, atuando contra *Staphylococcus aureus*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus mirus*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium nucleatum* e *Enterococcus faecalis*. Em um estudo a eficiência deste composto foi testada para eliminação de *L. monocytogenes*, *Pseudomonas fragi* e *Staphylococcus xylosus*, situação em que eliminou todas as células planctônicas na concentração de 10 ppm de cloro livre por 30 segundos; entretanto reduziu 2 log de *L. monocytogenes* na concentração de 1000 ppm, durante 20 minutos de exposição (SREY; JAHID; HA, 2013).

As soluções de hipoclorito de cálcio ( $\text{CaClO}_2$ ) podem ser usadas no controle de doenças graves (tétano, tuberculose, etc) em recintos e utensílios (PAULINO, 2010). Já o dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) é relativamente mais esporicida que o ácido hipocloroso, pode ser usado como desinfetante e esterilizante (PAULINO, 2010), é efetivo na presença de altas cargas de materiais orgânicos e pode ser usado no sistema CIP (STIER; CRAMER, 2005).

E uma das principais utilizações da cloramina é na desinfecção de equipamentos leiteiros, além de serem menos irritantes e mais estáveis que o hipoclorito. Porém, são instáveis em água e liberam lentamente o cloro, o qual dependendo da formulação pode estar disponível entre 25 e 29 % (PAULINO, 2010).

### 5.2.5 Compostos de amônia quaternária (surfactantes catiônicos)

Os compostos de amônia quaternária, também chamados surfactantes catiônicos, são agentes sanitizantes com eficiência contra bactérias Gram-positivas e termodúricas, porém, pouco eficientes contra Gram-negativas, coliformes psicrotóxicos, ineficientes contra esporos (ANDRADE, 2008).

Esses compostos se apresentam ineficazes na presença de matéria orgânica, inativados pelos sabões e a água muito mineralizada (água dura) diminui a sua eficácia. Agem através da desnaturação de proteínas da membrana e do citoplasma bacterianos e também pela quebra dos complexos lipoproteicos que faz a célula bacteriana liberar as suas enzimas autolíticas. Bacteriostáticos em baixas concentrações e bactericidas em altas concentrações (PAULINO, 2010).

Apesar de relatos prévios de resistência microbiana, a amônia quaternária foi eficiente em uma concentração de 0,6 % nas temperaturas de 10 e 45°C durante o tempo de 2 minutos, contra os seguintes microrganismos: *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (BELTRAME, 2012).

Não são corrosivos, nem tóxicos e são muito utilizados para sanitização de pisos, paredes, equipamentos e controle microbiológico do ar de ambientes de processamento (ANDRADE, 2008).

### 5.2.6 Compostos fenólicos

O fenol é uma substância incolor, solúvel em água, de difícil manipulação que age alterando a permeabilidade da membrana celular permitindo o extravasamento de constituintes essenciais a célula como os aminoácidos (ANDRADE, 2008).

Alguns compostos derivados do fenol são excelentes fungicidas, porém pouco eficientes contra esporos bacterianos e vírus. Outros compostos como os cresóis, o hexilresorcinol, o hexaclorofeno e o irgasan possuem atividade antimicrobiana mais eficiente. Entretanto, o hexaclorofeno, usado para assepsia das mãos, tem seu uso limitado por causa da sua possível toxicidade (ANDRADE, 2008).

As vantagens e desvantagens dos compostos fenólicos, descritas por Paulino (2010) são:

(A) Vantagens: exercem ação antimicrobiana residual ao reagirem com a umidade, não são voláteis, nem corrosivos e são menos inativados pela matéria orgânica do que os detergentes, quaternários de amônia ou soluções de cloro e não são corrosivos.

(B) Desvantagens: podem ser irritantes ou corrosivos dependendo da concentração e do tempo de exposição, possuem odor muito forte e o contato prolongado pode causar lesões de pele.

### 5.2.7 Iodóforos

Os iodóforos são compostos derivados do iodo, cujas formulações combinam um agente tensoativo a um agente veiculador ácido, como o ácido fosfórico (em equipamentos e utensílios), ou ácido acético ou acetato de sódio em pH entre 5 e 6 para não causar danos às mãos dos manipuladores da indústria. A forma bactericida deste agente é gerada pelas soluções diluídas com pH em torno de 2 que apresenta maior concentração de I<sub>2</sub> livre.

Andrade (2008) lista como vantagens: boa ação de molhagem (por causa da presença de agentes tensoativos na formulação), espelhamento e penetração em fissuras e ranhuras, ademais, estes compostos não são afetados pela água dura. Devido à natureza ácida, os iodóforos atuam na prevenção da formação de incrustações; seus níveis de concentração podem ser indicados pela coloração marrom, fácil determinação da concentração do agente e podem ser utilizados em nebulização para diminuição da microbiota ambiental. Entre suas desvantagens listam-se menor eficiência que os compostos clorados no combate a esporos bacterianos e bacteriófagos, liberação de odores indesejáveis em alguns produtos, descoloração de materiais plásticos. Além disso, quanto maior o pH tanto menor sua eficiência e seu preço é mais elevado que do hipoclorito.

### 5.2.8 Ozônio

O ozônio é um gás azulado, com forte odor e propriedades oxidantes e é resultado de átomos de oxigênio expostos à descarga elétrica de alta tensão. Pode ser utilizado contra bactérias, fungos, vírus, protozoários e esporos de fungos e bactérias (SREY; JAHID; HA, 2013). Seu poder de ação consiste na inativação enzimática pela oxidação de grupos sulfidrilas de aminoácidos que compõem essas enzimas e pela liberação de constituintes do citoplasma pela oxidação de lipídeos da membrana celular (ANDRADE, 2008). Srey, Jahid e Ha (2013) afirmam que esta lise celular é um mecanismo de desativação mais rápido do que

de outros agentes antimicrobianos, onde a permeação através da membrana celular é indispensável a fim de inativar eficazmente o microrganismo e por isso especula-se que este composto não induza a resistência de microrganismos.

O gás ozônio apresenta maior eficiência em temperaturas mais baixas quando comparado a outros sanitizantes químicos de uso comum. Pode ser utilizado na lavagem de alimentos, nos tratamentos de água e esgoto, em torres de resfriamento, na sanitização de superfícies de equipamentos, utensílios, vasilhames, de ar de ambientes de processamento de alimentos e no método CIP (ANDRADE, 2008).

A água enriquecida com ozônio é mais eficaz contra microrganismos quanto o cloro e, uma vez que é produzido no local, dispensa-se a necessidade de pessoal para manusear, misturar ou descartar produtos químicos sanitizantes. Ademais, o ozônio é prontamente revertido em oxigênio, um produto final que não deixa resíduos nas superfícies de contato (STIER; CRAMER, 2005).

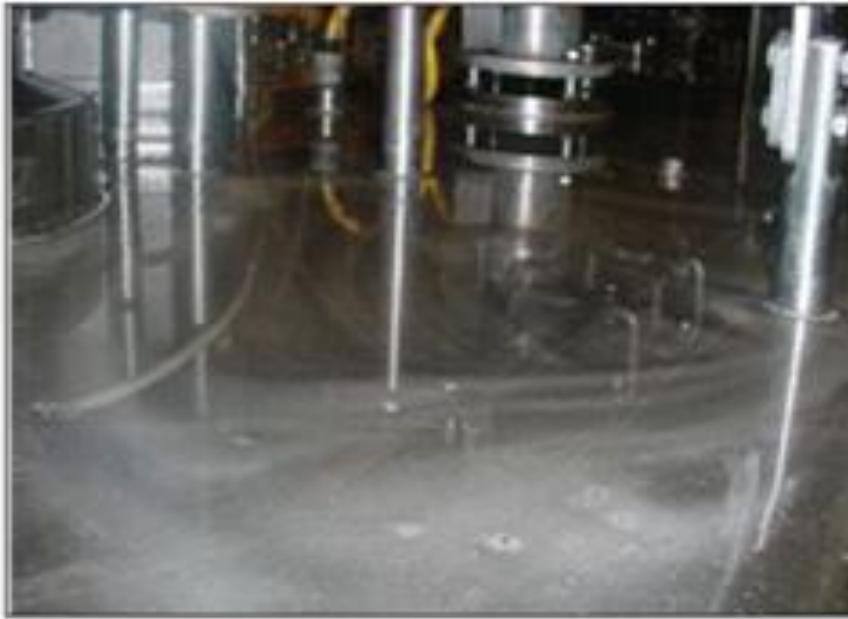
#### 5.2.9 Peróxido de hidrogênio

Soluções de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) possuem forte ação oxidante devido à liberação de oxigênio o qual possui atividade sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Na indústria de alimentos é utilizado em concentrações entre 0,3% e 6%, pH 4,0, na temperatura ambiente ou até 80°C, no período de 5 a 20 minutos de contato. Apresenta baixa toxicidade, sem necessidade de enxágue após seu uso. Porém, essas soluções são corrosivas ao cobre, zinco e bronze, quando utilizadas em baixas temperaturas o tempo de contato deveria ser maior e, deve haver controle da concentração (ANDRADE, 2008).

Apresenta eficiência contra biofilmes maduros em concentrações entre 0,08% e 0,2%. É considerada uma solução segura que não causa reações alérgicas e também pode ser utilizado numa concentração elevada sem afetar negativamente a qualidade do produto (SREY; JAHID; HA, 2013).

Esse agente pode ser usado em qualquer tipo de superfície, equipamentos, pisos, ralos, paredes, luvas de malha de aço, ou outras áreas onde possa existir algum tipo de contaminação (MARRIOTT, 1999).

Figura 1 - Limpeza de equipamento com peróxido de hidrogênio.



Fonte: Adaptado de Sarceño, 2013.

Alguns exemplos de condições de uso de agentes químicos e da eficiência sobre microrganismos estão apresentados, respectivamente, nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Condições de uso de sanitizantes químicos mais usados para controle de microrganismos em superfícies de processamento na indústria de alimentos

Agente Químico	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	pH
Hipoclorito de sódio	100	10
Dióxido de sódio	5	7
Cloraminas orgânicas	100	6-7
Iodóforos		
a) Manipuladores	15	5,5
b) Equipamentos e utensílios	15	3
Amônia quaternária	200	7-10
Ácido peracético	60	3
Peróxido de hidrogênio	50000	4
Ácidos mais tensoativos	200	1,6-2,4
Álcool	700000(70%)	7
Clorhexidina	100	4

Fonte: Andrade, 2008, p.206.

Tabela 3 - Eficiência sobre microrganismos de alguns sanitizantes químicos nas condições de uso para controle de microrganismos em superfícies de processamento na indústria de alimentos.

	Bactérias		Fungos filamentosos/ leveduras	Esporos bacterianos	Vírus
	Gram +	Gram -			
Hipoclorito de sódio	+++	+++	+-	+-	+-
Dióxido de cloro	+++	+++	+-	+-	+-
Cloraminas orgânicas	+++	+++	+-	+-	+-
Iodóforos	+++	+++	+-	---	---
Amônia quaternária	+++	---	+++	---	---
Ácido peracético	+++	+++	+++	+++	+++
Peróxido de hidrogênio	+++	+-	+-	+++	+-

Fonte: Andrade, 2008, p. 206.

## 6 ETAPAS DA HIGIENIZAÇÃO

As áreas relevantes do maquinário e dos equipamentos devem ser acessíveis para a inspeção e/ou à validação de forma. Em casos críticos, deve ser feita a avaliação da eficácia da higienização como parte do procedimento de manutenção (DUTRA; ALLES; MARIOT, 2008).

Após o processamento do leite ou de seus derivados, os equipamentos passam a apresentar uma carga elevada de resíduos com alto valor nutritivo, com a presença de carboidratos, gorduras, proteínas e minerais, passíveis de multiplicação microbiana (GERMANO; GERMANO, 2001).

Dentro do mecanismo de higienização, a limpeza deve ser efetuada de uma forma que consiga quebrar ou dissolver a matriz de EPS associada aos biofilmes para que posteriormente, os desinfetantes possam ter acesso às células das bactérias. Além disso, a limpeza permite apenas a remoção de cerca de 90 % das bactérias a partir das superfícies. Estas bactérias removidas podem depois voltar a se ligar às superfícies e formar biofilme, assim, a desinfecção é indispensável por ter o poder de eliminá-las (SREY; JAHID; HA, 2013).

Independente do método aplicado, em todos os procedimentos e programas, deve-se seguir as seguintes etapas: pré-lavagem, limpeza alcalina, enxague, limpeza ácida, novo enxágue, desinfecção e enxágue final (SPREER, 1999).

### 6.1 Métodos: CIP (*Cleaning In Place*) COP (*Cleaning Open Place*) e MANUAL

A limpeza de equipamentos e tubulações sanitárias pode ser feita de três maneiras: manualmente, de forma semi-automática também conhecida como COP (*Cleaning Open Place*), ou automática (CIP).

Na maioria das indústrias lácteas de grande porte, o método manual foi substituído pelo método automático conhecido como CIP que em português corresponde à limpeza realizada em circuito fechado, no qual a água e os produtos químicos circulam através de tubulações e equipamentos interligados a uma central que através de circuitos eletrônicos controla parâmetros como tempo, pressão e temperatura. A limpeza por esse método é alcançada por aspersão e escurrimto da solução química através de spray-balls pulveriza o líquido para a lateral atingindo as paredes (ATHAYDE, A. 1998).

O CIP é um processo que permite limpeza completa do sistema sem sua desmontagem ou envolvimento manual do operador. Inclui jato e pulverização das superfícies ou a circulação das soluções de limpeza em toda a planta através do aumento da turbulência e da velocidade de fluxo (SREY; JAHID; HA, 2013). A passagem do fluxo de alta velocidade de líquidos sobre as superfícies gera um efeito de lavagem mecânica que desaloja os resíduos de leite (MARCHAND, 2012).

De acordo com Andrade (2008), o CIP é um método de higienização que permite o uso de agentes que liberam alta alcalinidade cáustica, de temperaturas mais elevadas e de maior tempo de contato das soluções de limpeza com os resíduos e superfícies. Para a limpeza de um pasteurizador de leite, por exemplo, pode ser usada uma solução de hidróxido de sódio contendo 1% de alcalinidade cáustica à temperatura de 80°C, por 30 minutos e a uma velocidade de 1,5 m.s<sup>-1</sup>.

Athayde (1998) explica em seu artigo que no sistema CIP as etapas são realizadas a partir de quatro fatores: concentração da solução de limpeza, temperatura, tempo de circulação de contato e ação mecânica.

A primeira etapa é a pré-lavagem com água de qualidade em temperatura de 45 e 60°C. O controle da temperatura é fundamental para que não ocorra desnaturação de proteínas em temperaturas acima dos 60°C, ou solidificação das gorduras nas superfícies, o que prejudicaria também esta etapa e conseqüentemente todo o restante do processo. Marriot (1999) explica que a utilização da água nessa etapa pode ser por recuperação ou por abastecimento e fornecida à temperatura desejada para o processo.

A próxima etapa é a lavagem com solução alcalina em altas temperaturas que podem variar de 75 a 85°C. Após aplica-se um enxágue intermediário para então a aplicação de agente ácido na temperatura de no máximo 70°C e enxague para prevenir ou remover sais minerais. (ATHAYDE, 1998). O ácido é injetado para uma força predefinida baseado no tempo para um volume circuito específico (MARRIOTT, 1999). E por fim sanitização, pós-enxágue e avaliação do processo (ATHAYDE, 1998).

Marchand (2012) repete que a escolha do processo de limpeza é determinada pelo tipo e composição dos resíduos e também pelo desenho do equipamento. Alguns exemplos são dados na tabela 4, nos quais, a principal diferença está na circulação do ácido que deve ser incluído dentro do primeiro exemplo para a remoção da proteína e dos sais minerais incrustados nas superfícies de equipamentos térmicos (superfícies aquecidas).



Tabela 4 - Exemplos de etapas da lavagem CIP.

<b>Etapas de lavagem CIP para circuitos com pasteurizadores e outros equipamentos com superfícies aquecidas:</b>	
1	Enxaguar com água morna por cerca de 10 min
2	A circulação de uma solução de detergente alcalina (0,5% -1,5%) durante cerca de 30 min a 75 ° C.
3	Enxaguar detergente alcalino com água morna por cerca de 5 min.
4	Circulação de agente ácido (nitríco) (0,5% -1,0%) durante cerca de 20 min a 70 ° C.
5	Pós enxágue com água fria
6	Resfriamento gradual com água fria por cerca de 8 min.
<b>Etapas de lavagem CIP para circuitos com sistemas de tubulação, tanques e outros equipamentos de processo em superfícies não aquecidas:</b>	
1	Enxaguar com água morna por 3 min.
2	A circulação de um detergente alcalino -1,5% a 0,5%, a 75 ° C durante cerca de 10 min.
3	Enxaguar com água morna por cerca de 3 min.
4	Desinfecção com água quente 90-95 ° C por 5 min.
5	Resfriamento gradual com água fria por cerca de 10 min (normalmente sem refrigeração para os tanques).

Fonte: adaptado de Marchand (2012)

Srey, Jahid e Ha (2013), citam os princípios básicos da limpeza relacionados ao método CIP:

- analisar a natureza física e a construção do equipamento a ser limpo
- avaliar a natureza da sujidade a ser removida
- selecionar um detergente apropriado para a remoção da sujidade referida
- carregar a sujidade e o detergente juntos: na temperatura certa, sob as condições corretas de fluxo e turbulência, na concentração química certa, para o período de tempo certo.
- enxaguar todos os vestígios de detergentes e de resíduos com o objetivo de alcançar o padrão de limpeza apropriado para a finalidade a qual o equipamento está destinado a ser utilizado
- sempre realizar a limpeza logo que possível após a operação de produção
- e efetuar a desinfecção iminentemente antes do equipamento ser novamente utilizado na produção.

No processo manual, equipamentos, bombas e tubulações são desmontados e higienizados com produtos puros ou diluídos submetidos a ação mecânica de esfregação com esponjas, vassouras ou escovas. No entanto, é pouco empregado porque demanda mais tempo, envolve um número maior de pessoas, além de necessitar de cuidados redobrados com a

segurança devido ao contato direto do operador com os produtos químicos(ATHAYDE, 1998).

Nos locais onde o método por circulação é menos eficiente, os métodos de limpeza manual e o sistema CIP são intercalados para a remoção das sujidades mais difíceis, nas chamadas áreas mortas, como é o caso das conexões, anéis de borracha, válvulas, registros, máquinas de envase e agitadores. Este é o chamado COP, fusão entre o CIP e o processo manual, que funciona basicamente com a utilização de alguns recipientes para manter peças em imersão em solução química por determinado tempo, enquanto o restante dos equipamentos é higienizado por circuito fechado (ATHAYDE, 1998).

Marriott (1999) ainda explica que o equipamento COP pode limpar de forma eficaz e com menos velocidade as pequenas partes de equipamentos e utensílios, bem como pequenos recipientes. Além disso, uma unidade de COP pode servir como a unidade de recirculação para a operação CIP, sendo o tempo normal de recirculação de lavagem ser de aproximadamente 30 a 40 minutos, com um adicional de 5 a 10 minutos para um ácido frio ou lavagem desinfetante.

De acordo com Stier e Cramer (2005), os passos básicos para uma operação COP incluem:

- (A) Limpeza à seco.
- (B) Uma pré-lavagem do equipamento e área sobre prateleiras ou em tanques COP.
- (C) Ensaboar e esfregar os equipamentos e seus componentes em tanques ou recipientes COP.
- (D) Pós-lavagem para remover detergentes ou produtos químicos residuais de limpeza.
- (E) Realizar procedimentos pré-operacionais e higienizar todos os componentes de equipamentos que não são acessíveis quando remontados. Remontar o equipamento.
- (F) Higienizar o equipamento remontado com um agente de desinfecção ou tratamento térmico.

Uma vez que protocolos exigentes de limpeza estão disponíveis, os procedimentos de limpeza devem ser aplicados com precisão e a eficiência de limpeza deve ser avaliada (MARCHAND, 2012).

Figura 2 – Remoção de rodas dentadas internas de um equipamento durante uma operação COP e colocação de uma corrente transportadora em um tanque de COP.



Fonte: adaptado de Stier e Cramer, 2005.

Figura 3 - Exemplo de tanque COP usado para lavagem de pequenas peças.

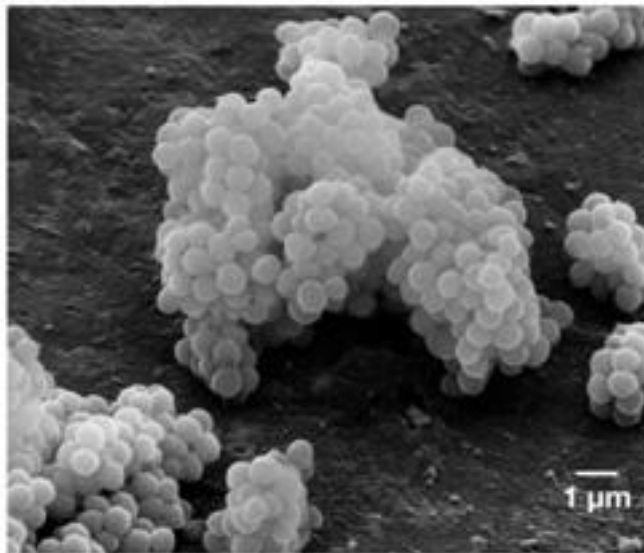


Fonte: adaptado de Stier e Cramer, 2005.

## 7 FORMAÇÃO DE BIOFILME

Atualmente, a palavra "biofilme" é utilizada para definir a matriz fechada de populações microbianas aderentes umas às outras e / ou às superfícies ou interfaces, ou seja, os biofilmes resultam do desenvolvimento de microrganismos ligados, que devido à produção de polissacarídeo extracelular, são capazes de formar micro ou macro-colônias nas superfícies de processamento (CARPENTIER, 2011).

Figura 4- Microcolônias de um biofilme de *Staphylococcus sciuri*.



Fonte: adaptado de Carpentier, 2011.

Essa associação de microrganismos constitui uma forma de proteção ao seu desenvolvimento através de relações simbióticas que permitem a sua sobrevivência em ambientes hostis. Do ponto de vista da segurança alimentar e da degradação dos alimentos, os biofilmes apresentam importante preocupação devido à sua formação em alimentos, utensílios e superfícies de processamento e à dificuldade em sua remoção, gerando riscos à saúde do consumidor e prejuízos financeiros à indústria (KASNOWSKI, *et al.*, 2010).

A sua formação e desenvolvimento são afetados por diversos fatores como os níveis de nutrientes, temperatura, pH, propriedades do material que compõem a superfície, a estirpe específica de bactérias (SREY; JAHID; HA, 2013), composição do substrato, superfície e topografia além do fluxo do fluido (CHMIELEWSKI; FRANK, 2003).

Os níveis de nutrientes se devem ao fato das moléculas presentes em produtos lácteos interagirem com moléculas de superfície e a força da atração depender da natureza de ambas as espécies químicas (BERNARDES, 2012).

Marchand (2012) cita as bactérias Gram-negativas: *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Moraxella*, *Alcaligene- s e*, *Pseudomonas*, além das espécies Gram-positivas: *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Listeria* e as bactérias do ácido láctico, como o *Streptococcus*, *Leuconostoc*, e *Pediococcus* como as principais bactérias formadoras de biofilme.

Os biofilmes têm potencial para agir como uma fonte de contaminação microbiana crônica que pode comprometer a qualidade dos alimentos e representam um significativo perigo à saúde (BERNARDES, 2012). Ou seja, o crescimento de biofilmes aumenta as oportunidades de contaminação microbiana do produto processado, causando transmissão de doenças, a redução da vida de prateleira (CHMIELEWSKI; FRANK, 2003), além da corrosão de equipamentos e a redução da capacidade da troca de calor entre superfícies (BOARI, *et al.*, 2009).

Alguns exemplos sobre os riscos que podem ocorrer são dados por Chmielewski e Frank (2003):

(1) microrganismos indesejáveis, como *Lactobacillus curvatus* e *Lactobacillus fermentum* que persistiram nos resíduos de leite, em plantas de processamento de queijo, mesmo depois de repetidas limpezas, acabaram por contaminar os produtos.

(2) Já se os biofilmes se tornarem muito espessos, podem reduzir a eficácia de transferência de calor em trocadores de calor de placas.

(3) Alguns microrganismos catalisam reações químicas e biológicas que causam corrosão do metal de tubulações e tanques.

A formação do biofilme é um processo gradual e dinâmico que consiste nas etapas de: (A) ligação inicial, (B) fixação irreversível, (C) desenvolvimento precoce da arquitetura do biofilme, maturação (D) e (E) dispersão (SREY; JAHID; HA, 2013). Todas as etapas estão representadas na figura 1.

Qualquer tipo de microrganismos, patogênicos ou deteriorantes, pode formar um biofilme (SREY; JAHID; HA, 2013). A fixação de bactérias "pioneiras", com posterior desenvolvimento de biofilmes em ambientes de processamento de leite, é uma fonte potencial de contaminação dos produtos prontos e que podem encurtar a vida útil, ou promover a transmissão de doenças. Tais bactérias são capazes de alternar entre diferentes modos de

habitação: planctônicas (células individuais ou em estado de livre flutuação) e biofilmes (MARCHAND, 2012).

Marchand (2012) ainda explica que, em equipamentos contendo leite cru, duas fases distintas, porém interligadas, estão disponíveis para o crescimento microbiano: fase líquida na qual as células planctônicas se proliferam e a interface sólido/líquido que onde as células individuais podem se unir formando biofilmes:

(A) Na ligação inicial, a adesão da célula, que dará origem a formação do biofilme, depende fortemente das propriedades físico-químicas da superfície da célula bacteriana e de processamento (SREY; JAHID; HA, 2013; BERNARDES, 2012).

Bernardes (2012) explica que todos os aspectos biológicos das bactérias, como parede celular e suas propriedades de superfície desempenham um papel importante na aderência bacteriana. A presença de biomoléculas na parede celular, tanto para bactérias Gram-positivas como negativas, é que determinam as propriedades da superfície das bactérias e, assim, a interação da bactéria com o ambiente.

Geralmente, toda a superfície é vulnerável ao desenvolvimento de biofilme, incluindo plástico, vidro, metal, madeira e produtos alimentares. A aderência é um processo reversível já que as células aderentes iniciais possuem uma pequena quantidade de substância polimérica extracelular (EPS) e não estão comprometidas com o processo de diferenciação de uma série de alterações morfológicas que levam à formação do biofilme em si. Outra característica importante é que muitas dessas células podem se separar da superfície e retornarem a forma de vida planctônica (SREY; JAHID; HA, 2013).

(B) A fixação se torna irreversível quando ocorre a mudança de uma fraca interação das bactérias com a superfície para uma ligação permanente com a presença de EPS. Quando esta ligação se estabelece excessiva força de raspagem ou quebra química por enzimas, detergentes, desinfetantes, surfactantes e / ou calor se tornam necessários para a remoção do biofilme.

(C) A produção de EPS ajuda a reforçar a ligação entre as bactérias e o substrato. Além disso, estabiliza a colônia de qualquer tensão ambiental formando o desenvolvimento inicial da arquitetura do biofilme (SREY; JAHID; HA, 2013).

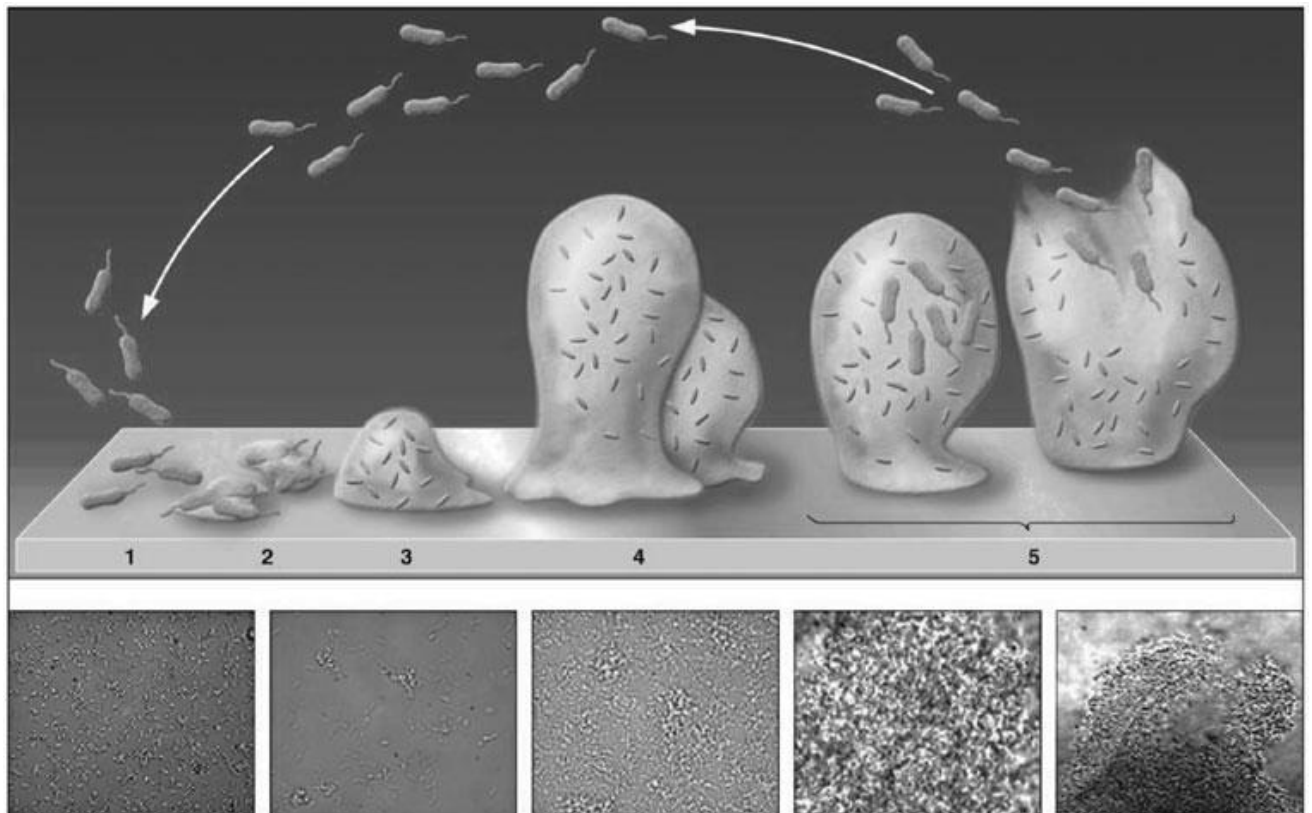
Boari et al (2009) explicam que essa rede de EPS age como barreira física, impedindo que os agentes sanitizantes cheguem a seus sítios de ação, como e também capaz de adsorver cátions, metais e toxinas e conferir proteção contra radiações UV, alterações de pH, choques osmóticos e dessecação.

A seguir, vem a etapa de maturação do biofilme (etapa D) que é o desenvolvimento de uma estrutura organizada que pode ser plana ou em forma de cogumelo e que leva em torno de 10 dias ou mais para se estabelecer. As bactérias crescem na forma sésil de complexos fechados de microcolônias heterogêneas espalhados com canais de água abertos. Boari et al. (2009) afirmam que os microrganismos em seu estilo de vida sésil resistem significativamente mais aos agentes empregados nos procedimentos de higienização que as células planctônicas.

(E) A última etapa do ciclo de formação do biofilme é à dispersão, a qual permite que as células se revertam em sua forma planctônica. Causas para tal incluem a necessidade de procurarem outro ambiente mais rico em nutrientes, desordem externa como o aumento do cisalhamento do fluido, ou processos internos como degradação enzimática endógena, ou o lançamento de EPS, ou de proteína de superfície de ligação.

Quando uma suspensão bacteriana entra em contato com uma superfície, somente algumas das células serão capazes de aderir. A fração de células bacterianas capazes de resistir aos processos de limpeza e desinfecção é menor quando se aumenta a concentração de desinfetante e maior para as bactérias ligadas há mais tempo. Entretanto, para haver a chance de se encontrar microrganismos persistentes depois da limpeza e desinfecção, quando aplicados produtos nas concentrações recomendadas, é necessário haver um número suficiente desses microrganismos ligados (CARPENTIER, 2011).

Figura 5- Representação da formação de biofilme.



Fonte: Marchand, 2012.

### 7.1 Estratégias de controle

A primeira medida a ser tomada é a de evitar a formação de biofilme através da limpeza e da desinfecção regular, de modo a não permitir que células bacterianas entrem em contato com as superfícies e se prendam firmemente a estas.

Marchand (2012) afirma que para cada bactéria planctônica detectada, pode haver cerca de 1000 organismos presentes no biofilme e que na indústria de laticínios, os biofilmes podem ser formados por mono ou multi espécies de bactérias, isto significa que as bactérias patogênicas podem coexistir num biofilme com outros organismos, um exemplo disso é *L.monocytogenes* sobreviventes em biofilmes formados por *Pseudomonas*.

Como estratégias, Srey, Jahid e Ha (2013) sugerem que a desinfecção seja realizada no momento exato que se preconiza, ou seja, antes que as células bacterianas consigam formar o biofilme e a seleção de materiais de superfície de contato com o alimento, com o objetivo de minimizar ou evitar a fixação das células com nutrientes/ resíduos dos alimentos processados.



Alguns exemplos dados pelo mesmo autor para impedir a adesão bacteriana, incluem: superfícies revestidas em prata, incorporação de produtos antimicrobianos aos materiais da superfície, pré-condicionamento da superfície com agente tensoativo, e diminuição na hidrofobicidade das superfícies com pré-condicionamento com o uso de surfactantes para diminuir a fixação.

Chmielewski e Frank (2003) explicam que os equipamentos, além de serem fabricados com materiais apropriados, devem ser projetados de forma a evitar o acúmulo de resíduos e a facilitar a limpeza de modo a não permitir o desenvolvimento de biofilmes. Os problemas normalmente ocorrem em locais onde as juntas devem ser utilizadas como bombas e articulações, os quais não recebem a exposição necessária dos produtos para limpeza e desinfecção para remover os resíduos e destruir os microrganismos.

Em relação ao método CIP, Srey, Jahid e Ha(2013) citam que a eficácia das condições de limpeza conduzidas pode mudar de acordo com a quantidade de sujidade e de ciclos de limpeza, como também a remoção de biofilme bacteriano, em superfícies de fábrica de laticínios, pode ser melhorada com a utilização de aditivos cáusticos e ácido nítrico. Em outro estudo foi avaliado o ciclo de vida de quatro métodos CIP: limpeza alcalino / ácido limpeza convencional com desinfecção em água quente, limpeza alcalina de uma fase com desinfecção química ácida, limpeza base-enzimática com desinfecção química ácida e o método convencional de desinfecção com ácido nítrico à frio em pH 2. Concluíram que os métodos de CIP com pequenos volumes e temperaturas baixas, como a limpeza a base de enzimas e a alcalina de uma fase foram os métodos alternativos mais indicados.

Entretanto, outros problemas relacionados com a higiene nas indústrias de alimentos podem ocorrer. Andrade (2008) mostra como exemplo, na tabela 5 abaixo, uma série de riscos que podem ocorrer com um procedimento de higienização de um pasteurizador de leite.

Tabela 5 - Riscos de um procedimento higienização de um pasteurizador de leite.

Etapa	Risco
Remoção de resíduos	Se incompleta, afeta a qualidade de higienização.
Desmontagem de equipamentos	Se incompleta, afeta a qualidade da higienização.
Enxágue	Água quente: desnatura proteína Água fria: solidifica gordura

Etapa	Risco
Aplicação das soluções	Se temperatura baixa, tempo de contato curto (CIP), velocidade das soluções baixa (CIP): qualidade da higienização é afetada.
Soluções sanitizantes	Se concentração baixa ou fora do prazo de validade: qualidade da higienização é afetada.
Enxágue intermediário	Pressão e fluxo altos podem originar aerossóis. Processo de enxágue incompleto ocasiona a presença de resíduos de solução de higienização e a inativação de sanitizantes.
Aplicação de sanitizantes	Se tempo de contato curto, temperatura alta ou baixa, ou velocidade baixa (CIP): afetam a qualidade da higienização.
Enxágue final	Se água for de má qualidade microbiológica, afeta a qualidade da higienização.

Fonte: Andrade, 2008, p.204.

A presença de material orgânico, incluindo gorduras, hidratos de carbono e materiais a base de proteínas e outros fatores importantes como pH, temperatura, dureza da água, inibidores químicos, concentração e tempo de contato, todos estes influenciam a eficácia dos desinfetantes (SREY; JAHID; HA, 2013). E também o aumento da resistência dos organismos sésseis pelos agentes desinfetantes muitas vezes agrava os problemas causados por incrustações microbianas e pode contribuir para a ineficácia da limpeza de sistemas CIP (BERNARDES, 2012).

Atualmente, requisitos mais rigorosos para segurança alimentar e saneamento estão em vigor nas indústrias alimentícias. E para atendê-los, processadores de alimentos estão constantemente à procura de produtos de limpeza e desinfetantes mais eficazes, bem como a melhor forma de aplicar esses produtos químicos, tanto para a segurança do trabalhador como do ponto de vista da eficiência.

Oliveira, Brugnera e Picolli (2013) fizeram um estudo a respeito de óleos essenciais e seus constituintes, como novas alternativas promissoras de elaboração de soluções sanitizantes naturais, para o controle de biofilmes microbianos.

O mecanismo de ação parece ser a difusão passiva da molécula componente por meio da parede celular de bactérias Gram-positivas e fungos ou da membrana externa de bactérias Gram-negativas. Como os óleos essenciais são compostos tipicamente lipófilos, são capazes de passar pela parede celular e se acumular na membrana citoplasmática bacteriana, causando aumento da permeabilidade e danificando a estrutura de diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídeos.

De acordo com as mesmas autoras, o óleo essencial de *Satureja thymbra* apresentou efeito significativo na redução do número de células dos biofilmes monoespécie e multiespécie de *Pseudomonas fragi*, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus succinus* e *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus simulans*, *Lactobacillus fermentum*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella enterica* e *L. monocytogenes*. E que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon nardus*, sozinhos e em combinação, são novas alternativas para a sanitização de superfícies industriais, de aço inoxidável, contaminadas por *L. monocytogenes*

## 8 RESPONSABILIDADE TÉCNICA

Gomide, Fontes e Ramos (2006) afirmam que o profissional encarregado da inspeção é o médico veterinário (denominado inspetor sanitário) que tem a responsabilidade de decidir sobre o que é apropriado para consumo, condenar o que é impróprio, verificar as condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos e pelo parecer final sobre os produtos inspecionados.

Para Pfuetzenreiter, Zylbersztajn e Pires (2004) o médico veterinário se incorpora muito facilmente ao grupo de profissionais de saúde por estar habituado a proteger a população contra as enfermidades coletivas, como na higiene de alimentos que é uma, entre várias outras atividades da saúde pública veterinária.

De acordo com Portaria, do Ministério da Saúde, nº 1.428, de 26 de novembro de 1993, para que o responsável Técnico possa exercer a sua função ele deve contar com autoridade e competência para:

- responsabilizar pela aprovação ou rejeição de matérias-primas, insumos, produtos semi-elaborados e produtos terminados, procedimentos, métodos ou técnicas, equipamentos ou utensílios, de acordo com normas próprias estabelecidas nas Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas de Prestação de Serviços na área de alimentos.

- supervisionar os procedimentos de fabricação para certificar-se de que os métodos de produção e de prestação de serviços, estabelecidos nas Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas de Prestação de Serviços na Área de alimentos estão sendo seguidos;

- adotar métodos de controle de qualidade adequados, bem como procedimentos a serem seguidos no ciclo de produção e/ou serviço que garantam a identidade e qualidade dos mesmos;

- adotar o método de APPCC - Avaliação de Perigos e Determinação de Pontos Críticos de Controle, para a garantia de qualidade de produtos e serviços.

- Compreensão dos componentes do Sistema APPCC.

- Capacidade de identificação e localização de PCCs em fluxogramas de processos.

- Capacidade de definir procedimentos, eficazes e efetivos, para os controles dos PCCs.

- Conhecimento da ecologia de microrganismos patogênicos e deterioradores.

- Conhecimento da toxicologia alimentar.

- Capacidade para selecionar métodos apropriados para monitorar PCCs, incluindo estabelecimento de planos de amostragem e especificações.

Trabalhar com especialistas é o que Stier e Cramer (2005) recomendam. O aumento da eficácia dos sistemas de limpeza e higienização depende de alguns fatores: escolha dos fornecedores de equipamentos, química da água, escolha dos parâmetros de operação para aumentar a capacidade da planta para garantir que o regime seja fácil de executar, monitorar e verificar.

Troni e Ueno (2012) afirmam que na indústria de laticínios é fundamental a cobrança do Manual de Boas Práticas de Fabricação e do de Manipulação e Procedimentos Operacionais Padronizados, por parte dos órgãos da vigilância sanitária, pois são instrumentos essenciais para a produção do alimento seguro.

## 9 CONCLUSÃO

Estratégias preventivas são essenciais para evitar problemas ao longo do processamento do leite nas indústrias. Os conhecimentos sobre as etapas de higienização, utilização de produtos de higiene autorizados no Brasil, respeitando temperatura, tempo e concentração fornecidos pelo fabricante, além do correto armazenamento e da consideração dos efeitos sobre pessoas, equipamentos, superfícies e meio ambiente são aspectos de suma importância para a obtenção de produtos inócuos. Outros pontos importantes a considerar, o treinamento dos funcionários envolvidos, pois conforme cita Bento (2008), os funcionários são os maiores responsáveis pela elaboração das boas práticas, treinamento e conscientização são fundamentais para o sucesso da fabricação. Preocupação com a saúde pública é respeitar o consumidor, oferecendo a ele produtos que lhe garantam uma vida saudável.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos**: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo: Varela, 2008. 412p.

ATHAYDE, A. Higienização em indústrias de laticínios colabora no controle total da qualidade. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v. 4, n. 184, p. 24-29, 1998.

BELTRAME, C. A. *et al.* Influence of different sanitizers on food contaminant bacteria: effect of exposure temperature, contact time, and product concentration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 228-233, abr./jun. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v32n2/aop4668.pdf>>. Acesso em: 21 set 2013.

BENTO, R. A. *et al.* Implantação dos programas governamentais de gestão de qualidade no processamento de alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 164, p. 46-50, set. 2008.

BERNARDES, P.C. *et al.* Work of adhesion of dairy products on stainless steel surface. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo. v. 43, n. 4, p.1261-1268, Oct/Dec 2012. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-83822012000400004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822012000400004)>. Acesso em: 13 dez 2013.

BOARI, C.A.*et al.* Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 29, n.4, p. 886-895, out/dez, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n4/29.pdf> >. Acesso em: 28 dez 2013.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 18 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico sobre embalagens e equipamentos de vidro e cerâmica em contato com alimentos. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 20 de março de 1996. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/3171d1804d8b66cfa9e5e9c116238c3b/ALIMENTOS+PORTARIA+N.%C2%BA+27,+DE+18+DE+MAR%C3%87O+DE+1996.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 26/10/2013.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre condições higiênicossanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, de 01 de agosto de 1997. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/cf430b804745808a8c95dc3fbc4c6735/Portaria+SVS-MS+N.+326+de+30+de+Julho+de+1997.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 19/08/2013.

**BRASIL.** ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 123, de 19 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre embalagens e equipamentos elastoméricos em contato com alimentos. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 26 de junho de 2001. **Disponível em:** <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5d75d2804d8b6b67aa3febc116238c3b/ALIMENTOS+RESOLU%C3%87%C3%83O+N%C2%BA+123,+DE+19+DE+JUNHO+DE+2001.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso: 26/10/2013.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Aprova o "Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos", as "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos" e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos". **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, de 02 de dezembro de 1993. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5c5a8a804b06b36f9159bfa337abae9d/Portaria\\_MS\\_n\\_1428\\_de\\_26\\_de\\_novembro\\_de\\_1993.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5c5a8a804b06b36f9159bfa337abae9d/Portaria_MS_n_1428_de_26_de_novembro_de_1993.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 19/08/2013.

CARPENTIER, B. **Biofilms and microorganisms on surfaces after cleaning and disinfection.** Food Safety Magazine, Glendale. v.17, n.2, p. 26-29, april./may. 2011. Disponível em: <<http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/aprilmay-2011/biofilms-and-microorganisms-on-surfaces-after-cleaning-and-disinfection/>>. Acesso em: 29 dez 2013.

CHMIELEWSKI, R.A.N.; FRANK, J.F. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Comprehensive reviews in food science and food safety.** vol. 2, n.1, Jan. 2003, p. 22-32. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00012.x/pdf>>. Acesso em: 02 jan 2014.

DÜRR, J. W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M. V. (Org). **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil.** Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p. 11-37.

DUTRA, C. C.; ALLES, M.J.L.;MARIOT, R.F. **Manual do design higiênico para máquinas, equipamentos e instalações da indústria de alimentos e bebidas.** Porto Alegre: SENAI. 2008.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2001.

GOMIDE L. A. M.; RAMOS E. M., FONTES P. R. **Tecnologia de Abate e Tipificação de Carcaças.** ed. UFV, p. 19-20, 2006.

GUEDES, A. M. M. *et al.* Tecnologia de ultravioleta para preservação de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos.** Curitiba, v. 27, n. 1, p. 59-70, Jan/Jun. 2009. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/article/view/14953/10042>>. Acesso em: 17 nov 2013.

HOFFMANN, F.L., GARCIA-CRUZ, C.H., VINTURIM, T.M. Determinação da atividade antibacteriana de desinfetantes. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.9, n.39, p.29-34, 1995.

KASNOWSKI, M. C. *et al.* Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária.** Graça, n. 15, julho. 2010. Disponível em:<[http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/fxPTiYWerLkT9Si\\_2013-6-25-16-32-0.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/fxPTiYWerLkT9Si_2013-6-25-16-32-0.pdf)>. Acesso em: 28 dez 2013.



MARCHAND, S. *et al.* Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 11, n. 2, p. 133-147, Mar. 2012. Disponível em: <Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety>. Acesso em: 5 out 2013.

MARRIOTT, N. G. **Principles of food sanitation**. 4<sup>th</sup> ed. Gaithersburg: Aspen, 1999. p. 364.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R.H. Biofilmes em indústrias de laticínios: aspectos gerais e uso de óleos essenciais como nova alternativa de controle. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.68, n. 390, p. 65-73, Jan/Fev.2013. Disponível em: < <http://www.revistadoilct.com.br/riict/article/view/10/10> > Acesso em: 17 set 2013.

PAULINO, C.A., Anti-sépticos e desinfetantes. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, p. 440-452.

Pfuetzenreiter, M. R.; Zylbersztajn, A.; Pires, F. D. A. Evolução histórica da medicina veterinária preventiva e saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 34, n.5, p. 1661-1668, Set-Out, 2004. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782004000500055&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782004000500055&script=sci_arttext) > Acesso em: 01 jan 2014.

RIBAS, L. C. M. **Higienização de instalações e equipamentos em indústria de laticínios**. 2008. 74 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização Lato Sensu em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Castelo Branco, Goiânia, 2008.

SARCEÑO, G.M. Inadequate sanitation results in biofilm formation. **Food Safety Magazine**, Glendale. v.17, n. 2, p. 16-19, April/May 2011. Disponível em: < <http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/aprilmay-2011/inadequate-sanitation-results-in-biofilm-formation/> >. Acesso em: 01 jan 2014.

SREY, S.; JAHID, I. K.; HA, S. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food Control**, Vurrey. v. 31, n. 2, p. 572-585, June 2013. Disponível em: <[http://ac.els-cdn.com/S0956713512006536/1-s2.0-S0956713512006536-main.pdf?\\_tid=dc7b7752-6674-11e3-a430-00000aacb360&acdnat=1387213965\\_606eac4ace1fee7a96b4e9d7988a1b0a](http://ac.els-cdn.com/S0956713512006536/1-s2.0-S0956713512006536-main.pdf?_tid=dc7b7752-6674-11e3-a430-00000aacb360&acdnat=1387213965_606eac4ace1fee7a96b4e9d7988a1b0a)>. Acesso em: 5 out 2013.

STIER, R. F.; CRAMER, M. Top tips to make your CIP and COP systems work for you. **Food Safety Magazine**, Glendale. v. 11, n. 5, p.14-18, Oct/Nov 2005. Disponível em: < <http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/octobernovember-2005/top-tips-to-make-your-cip-and-cop-systems-work-for-you/> >. Acesso em: 29 dez 2013.

THALLINGER, B. *et al.* Antimicrobial enzymes: An emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms. **Biotechnology Journal**. v. 8, n. 1, p. 97-109, Jan 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biot.201200313/pdf>>. Acesso em: 21 set 2013.

TRONI, K.L.; UENO, M. Perfil físico-estrutural e higiênicossanitário de indústrias de laticínios no Vale do Paraíba, SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 26, n. 212/213, p. 31-36, set/out. 2012.