

Nutrição Brasil 2017;16(3);159-66

ARTIGO ORIGINAL

Perfil microbiológico de uma pré-mistura de gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame sob tratamento a vácuo

Microbial profile of a pre-mix of chocolate ice cream without lactose with yam flour after vacuum treatment

Gábia Aparecida Rodolphi Fabre*, Wagner Amado Veiga**, Vagner Rocha Simonin de Souza, D.Sc.***

*Nutricionista, Pós-Graduada em Nutrição Clínica Funcional e Fitoterapia, Faculdade Redentor, **Biólogo, Especialista em Análises Clínicas, Docente do curso de nutrição, Coordenador de Laboratórios, Faculdade Redentor, ***Nutricionista, Docente e Coordenador do curso de Nutrição, do curso de Pós-Graduação em Nutrição Clínica Funcional e Fitoterapia e do curso de Pós-Graduação em Nutrição Aplicada à Estética e à Prática Desportiva, Faculdade Redentor/RJ

Recebido 19 de setembro de 2016; aceito 15 de maio de 2017.

Endereço para correspondência: Vagner Rocha Simonin de Souza, Faculdade Redentor, Rodovia BR 356, 25, Bairro Pres Costa e Silva, 28300-000 Itaperuna RJ, E-mail: vagsimonin@gmail.com, coordnutricao@redentor.edu.br; Gábia Aparecida Rodolphi Fabre: gabiafabre@gmail.com; Wagner Amado Veiga: w.amado.v@gmail.com

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica da pré-mistura de gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame, sob tratamento a vácuo durante sessenta dias no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade Redentor. Os contaminantes microbiológicos analisados foram *Salmonella spp/25g*, *Bacillus cereus*, e coliformes a 45°/g. Os resultados obtidos mostraram ausência de *Salmonella spp/25* e *Bacillus cereus*, entretanto a carga microbiana de coliformes a 45°, mesmo ocorrendo redução na amostra a vácuo, ultrapassou os limites estabelecidos pela RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Sendo assim, conclui-se que a embalagem a vácuo foi significativa para a conservação do produto, sendo necessário apenas estabelecer medidas de controle que visam diminuir a contaminação inicial da pré-mistura por coliformes a 45°/g, para que o produto possa tornar seguro e pronto para o consumo.

Palavras-chave: *Salmonella*, *Bacillus cereus*, coliformes fecais, isento de lactose.

Abstract

This study aimed to verify the microbiological quality of pre-mix of lactose-free chocolate ice cream with yam flour after vacuum treatment during sixty days at the Dietetic Technique Laboratory of Faculdade Redentor, Itaperuna/RJ, to ensure proper sanitary conditions for intake of this mixture. The microbiological contaminants analyzed were *Salmonella sp/25g*, *Bacillus cereus* and coliforms at 45°/g. The results showed absence of *salmonella sp/25* and *Bacillus cereus*, however the microbial load of coliforms at 45°, even with the reduction occurring in vacuum sample, exceeded the limits established by RDC nº 12 of January 2nd, 2001. In that way, it can be concluded that vacuum packaging was significant for the conservation of the product, requiring only to establish control measures to reduce the contamination of pre-mix by coliforms at 45°/g, for the product can become safe in hygienic and sanitary quality and ready for use.

Key-words: *Salmonella*, *Bacillus cereus*, coliforms, lactose.

Introdução

A intolerância a lactose pode ser definida como uma incapacidade de hidrólise da lactose, que é um dissacarídeo encontrado no leite da maioria dos mamíferos, devida uma deficiência da enzima lactase. A lactose ingerida não é degradada permanecendo no colón intestinal, onde sofrerá processo de fermentação pelas bactérias da flora intestinal, produzindo

ácido láctico, metano (CH₄) e gás hidrogênio (H₂), levando o aparecimento de dor abdominal, diarreia, náusea e flatulência [1,2].

O diagnóstico desta doença pode ser obtido através de uma anamnese e exame físico do paciente, a fim de avaliar a digestão e absorção da lactose, outros exames também poderão ser feitos, como pesquisa de açúcar nas fezes, determinação do pH fecal, teste de tolerância com sobrecarga oral de lactose, teste de hidrogênio expirado e biópsia intestinal [3].

O tratamento da intolerância à lactose pode ser feito diminuindo a ingestão de alimentos com alta concentração de lactose, como o leite dando preferência aos alimentos como iogurtes, queijos, leites fermentados e pães, onde o teor de lactose se encontra reduzido [2]. É relevante também fracionar o consumo de lactose durante o dia e sempre acompanhado de outros alimentos. No caso de exclusão total é necessário substituir o leite materno por formulas infantis à base de leite de vaca isenta de lactose [4].

Sendo assim é relevante a elaboração de novos produtos isentos de lactose, a fim de reduzir os sintomas característicos da intolerância e aumentar o mercado alimentício para os portadores de intolerância a lactose. De acordo com Maia et al. [5], o sorvete ou gelado é uma excelente opção, pois parte de um produto que agrada aos mais variados paladares, de todas as faixas etárias e de qualquer classe social, além de ser um dos produtos que apresenta elevado consumo no Brasil [6].

Porém para que um novo produto possa ser introduzido no mercado, e consumido sem causar danos à saúde é necessário que esteja seguro do ponto de vista microbiológico, pois os produtos que se destinam a mercados devem obedecer aos padrões de controle de contaminação, visto que entre os vários parâmetros que determinam a qualidade de um alimento, os mais importantes são aqueles que definem suas características microbiológicas [7].

De acordo com ANVISA, a Resolução 12/2001 [8] que estabelece padrões microbiológicos e sanitários para alimentos, os ensaios microbiológicos necessários a serem analisados para o produto em questão são *Salmonella sp/25*, *Bacillus cereus* e coliformes a 45°/g. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica da pré-mistura de gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame elaborada e armazenada a vácuo durante sessenta dias no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade Redentor de Itaperuna/RJ, a fim de assegurar condições sanitárias adequadas para o consumo de gelado.

Material e métodos

Desenvolvimento da receita

Para produção da pré-mistura do gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame, foram utilizados 100 g de farinha de inhame, 50 g de açúcar refinado, 30 g de cacau em pó, 0,6 g de emulsificante e 0,6 g de liga neutra.

Coleta de amostras

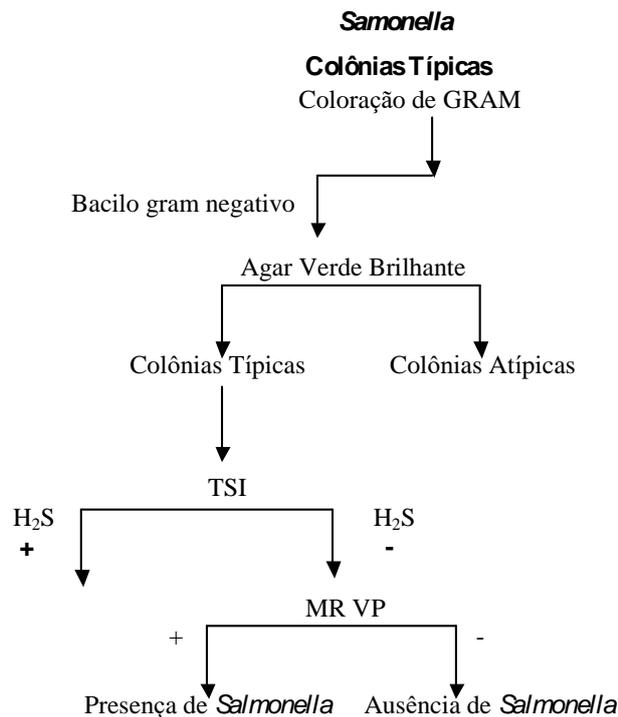
Foram coletadas 50 g de amostra da pré-mistura do gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame para análise da *Salmonella sp*, *Bacillus cereus* e coliformes a 45°. As amostras foram divididas em duas partes de 25 g, onde uma parte foi acondicionada a vácuo e a outra sem vácuo em embalagem plástica não esterilizada em temperatura ambiente, por um período de dois meses, no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade Redentor.

Diluição das amostras

A metodologia utilizada se baseou na instrução normativa nº 62/2003 [9]. Para realizar a diluição das amostras, foi adicionado 25 g da amostra a vácuo e sem vácuo em 225 ml de solução salina peptonada 0,1%, formando uma diluição 10⁻¹. A partir da diluição 10⁻¹, com auxílio de pipetas estéreis, foram preparadas as diluições 10⁻² e 10⁻³.

*Isolamento, identificação e quantificação dos microrganismos**Salmonella spp*

Após diluição de 25 g da amostra de pré-mistura do gelado de chocolate a base de farinha de inhame isento de lactose em solução salina peptonada 0,1%, foram semeados 0,1 ml das diluições nas placas de Petri contendo Agar SS, e encubados na estufa com 36°C por 24 horas. As colônias típicas que cresceram no meio Agar SS foram repicadas para o Caldo BHI, a fim de se proliferarem, visto que é um meio nutritivo que auxilia no crescimento de colônias [10]. Tendo sido feita a primeira etapa de seleção, foi realizada a coloração de gram e os testes para identificação bioquímica. Uma alçada destes cultivos contidas no Caldo BHI foi semeada nas placas contendo Agar Verde Brilhante. As colônias que apresentaram morfologia colonial característica de *Salmonella*, foram repicadas para o meio Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e MR VP, conforme demonstra a figura 1 [11].



□

Figura 1 - Fluxograma dos meios de cultura utilizados para confirmação de *Salmonella*, onde TSI = Agar Tríplice Açúcar Ferro e MR VP = Vermelho de Metil e Voges – Proskauer.

Bacillus cereus

Para realizar o isolamento e quantificação de *Bacillus cereus*, foram semeados 0,1 ml das diluições da amostra de gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame nas placas de Petri contendo Agar *Bacillus Cereus* e armazenados na estufa a 30°C por 24 horas. As colônias típicas que cresceram no meio Agar *Bacillus Cereus* foram isoladas para o Caldo BHI. Após a etapa de seleção foi realizado a coloração de gram e os testes para a identificação bioquímica de *Bacillus cereus*. Uma alçada destes cultivos contidas no BHI foi transferida para placas contendo Agar Sangue Base enriquecido com sangue e para tubos de ensaio contendo Meio Teste de Motilidade. A placa de Agar Sangue que apresentou atividade hemolítica foi submetida ao teste de catalase. Foram realizados também os teste MR VP a fim de avaliar a produção de ácidos e de acetoina através da fermentação de glicose, conforme mostra a figura 2 [11,12].

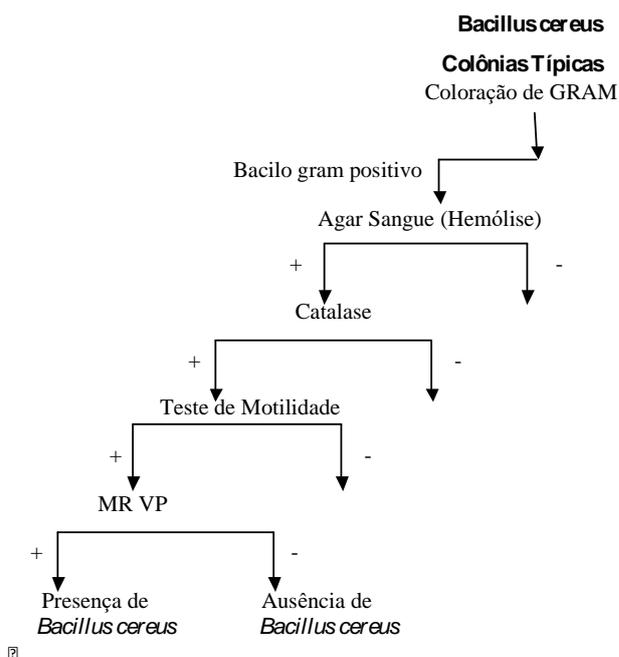


Figura 2 - Fluxograma dos meios de cultura utilizados para confirmação de *Bacillus cereus*, onde MR VP = Vermelho de Metil e Voges – Proskauer.

Coliformes termotolerantes

A análise de coliformes foi realizada com a técnica dos tubos múltiplos para enumeração do número mais provável (NMP) de coliformes a 44,5°C (Termotolerantes). O teste presuntivo foi realizado adicionando 1 ml das diluições da amostra de gelado de chocolate isento de lactose a base de farinha de inhame em três baterias de três tubos contendo Caldo Lauryl Triptose e tubos de Durham invertido. A presença de coliformes foi identificada pela retenção de gás nos tubos de Durham, visto que os coliformes produzem ácidos e gás através da fermentação da lactose [13].

Para o teste confirmativo apenas os tubos com positividade no teste presuntivo foram utilizados. Com auxílio da alça bacteriológica, foi transferido o conteúdo dos tubos positivos da etapa anterior para os tubos de ensaio contendo caldo EC e estes foram encubados em banho-maria a 44,5°C por 24 horas. Transcorrido o tempo de incubação, os tubos foram verificados quanto à presença de gás e turvação.

O número de tubos positivos foi anotado e quantificado utilizando-se a técnica do número mais provável (NMP) e os resultados foram expressos em NMP/g com intervalo de segurança de 95%. [14].

Análise da qualidade microbiológica

Os resultados encontrados na análise microbiológica de *Salmonella*, *Bacillus cereus* e coliformes a 45° FORAM comparados com os valores estabelecidos pela ANVISA, Resolução 12/2001 no item 3 (raízes, tubérculos e similares) letra c (secas, desidratadas ou liofilizadas) [8]. Este parâmetro foi escolhido devido à presença nos ingredientes farinha de inhame, manufaturada com inhame seco, já que não foi encontrado nenhum item específico para gelado à base de farinha de tubérculos.

Resultados

Conforme demonstra a tabela I, onde estão representados os meios de cultura para análise da presença de *Salmonella*, no meio Agar SS houve crescimento de colônias típicas de *Salmonella*, com característica de incolor com centro negro [10], tanto nas diluições a vácuo quanto na sem vácuo. Na coloração de gram foi confirmado a presença de Bacilo negativo, nas diluições a 10-1 da amostra a vácuo e sem vácuo, assim como no meio Agar Verde Brillante,

houve crescimento de colônias característica de *Salmonella spp*, de coloração rosada. Porém, tanto no TSI e MR VP, que são testes usados para confirmação de *Salmonella*, as reações demonstraram ausência dessa bactéria no produto.

Tabela I - Análise microbiológica de *Salmonella spp* na pré-mistura de gelado de chocolate.

Teste	Tipo de tratamento					
	Vácuo			Convencional		
	Diluição 10 ⁻¹	Diluição 10 ⁻²	Diluição 10 ⁻³	Diluição 10 ⁻¹	Diluição 10 ⁻²	Diluição 10 ⁻³
Agar SS	T	T	T	T	T	T
Coloração de Gram	T	-	-	T	-	-
Agar Verde brilhante	T	-	-	T	-	-
TSI	-	-	-	-	-	-
MR VP	-	-	-	-	-	-

T = colônias típicas; - = colônias atípicas; TSI = Agar Tríplice Açúcar Ferro; MR VP = Vermelho de metil e Voges - Prosauker.

Segundo a tabela II, no meio Agar Bacillus Cereus, houve o crescimento de colônias com coloração azul características de *Bacillus cereus*, em todas as diluições, tanto na amostra a vácuo quanto na sem vácuo. Na coloração de gram foi confirmado a presença de Bacilo gram negativo na diluição a 10⁻³ sem vácuo. Tanto no teste de Motilidade, Agar Sangue, Catalase e MR VP foram detectados a motilidade das bactérias, reações de hemólise, degradação do peróxido de hidrogênio e fermentação da glicose com produção de acetoína respectivamente na diluição a 10⁻³ sem vácuo.

Tabela II - Análise microbiológica de *Bacillus cereus* na pré-mistura de gelado de chocolate.

Teste	Tipo de tratamento					
	Vácuo			Convencional		
	Diluição 10 ⁻¹	Diluição 10 ⁻²	Diluição 10 ⁻³	Diluição 10 ⁻¹	Diluição 10 ⁻²	Diluição 10 ⁻³
Agar <i>Bacillus cereus</i>	T	T	T	T	T	T
Coloração de Gram	T	T	T	T	T	T
Motilidade	T	T	T	T	T	T
Agar Sangue	-	-	-	-	-	T
Catalase	-	-	-	-	-	T
MR VP	-	-	-	-	-	T

T = colônias típicas; - = colônias atípicas; MR VP = Vermelho de metil e Voges - Prosauker.

De acordo com os resultados analisados na tabela abaixo, a pré-mistura de gelado de chocolate acondicionada por sessenta dias sob tratamento a vácuo, não atendeu totalmente à legislação ANVISA – Resolução 12/2001 [8], pois apesar da *Salmonella* e *Bacillus cereus* não ter se mostrado presente na amostra a vácuo, a contagem microbiológica do grupo coliformes a 45°, constatou presença acima do valor estabelecido pela legislação.

Tabela III - Comparação da legislação com os resultados das análises microbiológicas na pré-mistura de gelado de chocolate.

Microrganismo	Tipo de tratamento		
	Vácuo	Convencional	RDC 12/2001
<i>Salmonella ssp/25g</i>	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	Ausente	1,5x10 ⁴	10 ³
Coliformes à 45°C (NMP/g)	1,5x10 ²	1,1x10 ³	10 ³

Discussão

A *Salmonella* tem sido reconhecida como uma importante causa de doenças intestinais por muitos anos e os métodos de controle está bem estabelecida. Apesar disto, esta bactéria permanece como a principal causa de contaminação de alimentos em todo o mundo alcançando 1,3 bilhões de casos com três milhões de óbitos anualmente, causados principalmente pela ingestão de alimentos contaminados por *Salmonella*, destacando os alimentos com alta atividade de água e ricos em proteína, como os produtos cárneos, ovos e os laticínios [15,16].

No presente estudo, a pré-mistura de gelado, não apresentou contaminação por *Salmonella*, por ser um produto que apresenta baixa atividade de água, tornando o meio com condições pouco favoráveis para o crescimento desta bactéria.

O *Bacillus cereus* é uma bactéria que está largamente distribuído na natureza, sendo o solo o seu principal reservatório natural, por esta razão, contamina facilmente alimentos como vegetais e cereais, podendo ser encontrado também em alimentos desidratados, como farinhas, amidos e leite em pó, devido à presença de esporos que lhe confere resistência a altas temperaturas, secagem, sanitizantes químicos e radiações ionizantes [17].

Apesar desta bactéria conseguir sobreviver nas diversas formas de tratamentos dos alimentos, vários estudos tem mostrado a ausência ou quantidades toleráveis de *Bacillus cereus* em farinhas, como de mandioca, banana verde, e trigo. Quanto à farinha de inhame ainda não existem dados que comprovem a ausência ou presença de *Bacillus cereus* neste produto.

Em um estudo realizado por Chisté *et al.* [18], foi analisada a presença de microrganismo durante o processamento da farinha de mandioca e da farinha após o preparo. Verificou-se que a farinha apresentou contaminação por *Bacillus cereus*, porém numa quantidade inferior ao limite estabelecido pela ANVISA – Resolução 12/2001 [8], estando assim apta para o consumo.

As Unidades de Alimentação e Nutrição são locais onde se identifica grande parte de surtos de origem alimentar, por ser um ambiente que entra em contato com diversos alimentos, sejam eles higienizados ou não. Além disso, os processos que garantem a sanitização de áreas, utensílios e equipamentos, frequentemente são operados de forma precária. É relevante ressaltar, que os esporos de *Bacillus cereus* tem grande afinidade para aderir ao aço inoxidável, que é um material encontrado em equipamentos e utensílios, contribuindo assim para a contaminação cruzada dos alimentos durante preparo [19].

Mendes *et al.* [19], realizou um estudo a fim de avaliar a contaminação por *Bacillus cereus* em superfície de equipamentos e utensílios em Unidade de Alimentação e Nutrição, das 30 amostras analisadas, constatou-se que 38,3% apresentavam alta contaminação por *Bacillus cereus*, sendo consequência de falhas no processo de higienização.

No presente estudo, a presença de *Bacillus cereus* na pré-mistura de gelado de chocolate pode ter sido oriundo da própria matéria prima que possui alta susceptibilidade para a presença de *Bacillus cereus* [16] e ou durante o manuseio no preparo e inoculação da pré-mistura, devido sanitização inadequada dos utensílios.

Entretanto, apesar da amostra da pré-mistura de gelado de chocolate apresentar contaminação por *Bacillus cereus* no tempo zero, pode-se observar que a embalagem a vácuo durante 60 dias foi eficiente para reduzir a carga microbiana, assegurando uma vida de prateleira adequada do produto, apesar de *Bacillus cereus* ser uma bactéria aeróbia facultativa, que consegue sobreviver tanto na presença e ausência de oxigênio [20].

A embalagem a vácuo é um tipo de acondicionamento muito empregado para os alimentos, pois tende aumentar a vida de prateleira dos produtos, diminuindo o risco de deterioração e contaminação, visto que ocorre redução da umidade, atividade de água e ausência de oxigênio [21].

No mesmo estudo citado acima, realizado por Chisté *et al.* [18], foi também analisada a presença de coliformes a 45°, durante o processamento para obtenção da farinha de mandioca e do produto final. Foi constatado alto nível de contaminação por coliformes no início da elaboração da farinha, porém nas últimas etapas de processamento e no produto final, a farinha de mandioca, houve redução da carga microbiana, obedecendo aos limites exigidos pela legislação, ANVISA – Resolução 12/2001 [8].

Sendo assim pode-se confirmar que a contaminação da pré-mistura de gelado de chocolate por coliformes a 45° pode ser atribuída à própria matéria prima utilizada para elaborar a pré-mistura, devido à alta suscetibilidade da base desse produto, a farinha de

inhame, que está contaminada por coliformes, e ou por falhas de higiene na manipulação durante a elaboração da pré-mistura.

Porém cabe ressaltar, que apesar da pré-mistura apresentar níveis elevados de contaminação por coliformes a 45°, o tratamento a vácuo por 60 dias, foi relevante para reduzir a presença deste indicador para níveis aceitáveis pela legislação vigente, sendo necessário apenas tomar medidas que visam auxiliar na redução da contaminação inicial do produto.

Os manipuladores de alimentos possuem fundamental importância na higiene e sanidade na elaboração das preparações, visto que a eles cabe o manuseio, tornando-se fonte potencial de contaminação, caso ocorram falhas no processo de preparação, sendo assim a educação e o treinamento dos mesmos as melhores ferramentas para assegurar a qualidade de um produto [22].

Conclusão

Mediante ao estudo realizado, conclui-se que a embalagem a vácuo foi capaz de impedir o crescimento tanto de *Salmonella sp* quanto de *Bacillus cereus*. Quanto aos coliformes a 45°, apesar da carga microbiana no tratamento a vácuo não atender os limites estabelecidos pela legislação, ANVISA – Resolução 12/2001[8], pode-se perceber que houve um declínio significativo de contaminação, sendo necessário apenas estabelecer medidas higiênico-sanitárias nas etapas de processamento da pré-mistura, a fim de garantir uma redução inicial de contaminação, para que assim o tratamento a vácuo possa ser relevante e atender os limites estabelecidos pela legislação e tornar o produto pronto para ser comercializado e seguro para o consumo.

Referencias

1. Barbosa CR, Andreazzi MA. Intolerância à lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. *Revista Saúde e Pesquisa* 2011;4(1):81-6.
2. Will AR, Silva MOV. Convivendo em uma família com uma criança com intolerância à lactose. [Dissertação]. Biguaçu: Universidade do Vale do Itajaí; 2007.
3. Lopes RRS. Prevalência de intolerância a lactose em pré-escolares no município de Duque de Caxias. In: 16º Congresso de Iniciação Científica; 30-09 a 02-10 de 2008; Piracicaba/SP. Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba; 2008. p.1-4.
4. Tumas R, Cardoso AL. Como conceituar, diagnosticar e tratar a intolerância à lactose. *Revista Clínica e terapêutica* 2008;13-20.
5. Maia MCA, Galvão APGLK, Modesta RC. D, Júnior NP. Avaliação sensorial de sorvetes à base de xilitol. *Ciênc Tecnol Aliment* 2008;28(1):146-51.
6. Abis (Associação Brasileira das Indústrias de Sorvete). História do Sorvete. [citado 2013 abr 25]. Disponível em URL: <http://www.abis.com.br>.
7. Silva JTS, Carvalho JS, Vale VLC. Estudo das condições microbiológicas de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) comercializadas no centro de abastecimento de Alagoinhas, Bahia. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 2012;33(1):43-52.
8. Brasil, Ministério da Saúde. RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União, Brasília*; 2001.
9. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Brasília: Anvisa*; 2003. 194p.
10. Merck. Manual de meios de cultivo. Darmstadt; 1990.
11. Murray PR, Baron JE, Pfaller AM, Tenover CF, Tenover HR. *Manual of clinical microbiology*. American Society for Microbiology. 7th ed. Washington DC; 1999.
12. Barreto JMO. Fatores de virulência de *Bacillus cereus* isolado na cadeia produtiva do leite na microrregião de Viçosa, Minas Gerais. [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2012.
13. Nunes MC. Influência da água de irrigação na qualidade das hortaliças cultivadas na bacia córrego sujo, Teresópolis, RJ. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2011.

14. Bacteriological Analytical Manual; 2001. Disponível em URL: www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm.
15. Asensi GF. Análise de carcaças de frango resfriado da cidade do Rio de Janeiro: detecção de Salmonella e Escherichia coli pelos métodos microbiológico e molecular. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2006.
16. Duarte RS. Microrganismos mais frequentemente encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº 12/2011 da ANVISA em produtos de origem animal, registrados junto à Cispoa. [Monografia]. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
17. Paiva EP, Fai AEC, Soares DS, Stanford TLM. Bacillus Cereus e suas toxinas em alimentos. Hig Aliment 2009;23(170/171):87-92.
18. Chisté RC, Cohenko MA, Júnior AGAR. Estudo das propriedades físico-químicas e microbiológicas no processamento da farinha de mandioca do grupo d'água. Ciênc Tecnol Aliment 2007; 27(2):265-9.
19. Mendes RA, Coelho AIM, Azeredo RMC. Contaminação por Bacillus cereus em superfícies de equipamentos e utensílios em unidade de alimentação e nutrição. Ciênc Saúde Coletiva 2011;16(9):3933-8.
20. Alonso CES. Pesquisa de cereulida em isolados do grupo Bacillus cereus (Documento provisório). [Dissertação]. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2008.
21. Lempek TS, Prentice C, Lopes ML. Efeito do vácuo na qualidade da pescada fogueete (Macrodon ancylodon). Revista Brasileira de Agrociência 2001;7(1):64-7.
22. Oliveira MN, Brasil ALD. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. Ciênc Saúde Coletiva 2008;13(3):1051-60.