

***Campus* Rio de Janeiro**

**Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*
Mestrado Profissional em Ciência
e Tecnologia de Alimentos**

Michelly Milles Baptista dos Santos

**Caldo de Cana e Doenças de Transmissão
Hídrica e Alimentar - Identificação do Perfil
Bacteriano Total e Proposta de Adaptação
da Lista de Verificação de Boas Práticas de
Manipulação para Pontos de Venda em
Feiras Livres**

Rio de Janeiro - RJ

2024

MICHELLY MILLES BAPTISTA DOS SANTOS

CALDO DE CANA E DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR -
IDENTIFICAÇÃO DO PÉRFIL BACTERIANO TOTAL E PROPOSTA DE
ADAPTAÇÃO DA LISTA DE VERIFICAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE
MANIPULAÇÃO PARA PONTOS DE VENDA EM FEIRAS LIVRES

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Instituto de Educação, Ciência e
Tecnologia do Rio de Janeiro – *Campus*
Rio de Janeiro, como requisito parcial
para a obtenção título de mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Aline dos
Santos Garcia Gomes

Rio de Janeiro – RJ
2024

Ficha catalográfica elaborada por
Anderson Morais Chalaça
CRB7 5661

S237c SANTOS, Michelly Milles Baptista dos.

Caldo de cana e doenças de transmissão hídrica e alimentar: identificação do perfil bacteriano total e proposta de adaptação da lista de verificação de boas práticas de manipulação para pontos de venda em feiras livres. / Michelly Milles Baptista dos Santos. – Rio de Janeiro, 2024.

120 f.: il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, 2024.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Aline dos Santos Garcia Gomes.

1. Microbiologia de alimentos. 2. Caldo de Cana – Contaminação microbiológica. 3. Condições higiênico-sanitárias. I. Gomes, Aline dos Santos Garcia. II. Título.

IFRJ/CMAR/CoBib

CDU 579.67

MICHELLY MILLES BAPTISTA DOS SANTOS

CALDO DE CANA E DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR -
IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL BACTERIANO TOTAL E PROPOSTA DE
ADAPTAÇÃO DA LISTA DE VERIFICAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE
MANIPULAÇÃO PARA PONTOS DE VENDA EM FEIRAS LIVRES

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Instituto de Educação, Ciência e
Tecnologia do Rio de Janeiro – *Campus*
Rio de Janeiro, como requisito parcial
para a obtenção título de mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 11/07/2024.

Banca Examinadora

Prof. Dsc. Aline dos Santos Garcia Gomes – (Orientadora)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)

Prof. Dsc. Thaís Souza Silveira Majerowicz – (Membro externo)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)

Prof. MSc. Iracema Maria de Carvalho da Hora – (Membro interno)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me sustentar e fazer com que eu terminasse mais uma etapa da minha vida acadêmica.

Aos meus pais, Penha Baptista e Marcilio Neves, por me mostrarem que o melhor caminho é sempre o dos estudos.

Ao meu namorado, Diego Gallego, por estar sempre ao meu lado, me auxiliando com o uso do Photoshop e dizendo que tudo ia dar certo.

À minha amiga do IFRJ, Bruna Barreto, por toda a trajetória de estudos e incentivo mútuo. Muito obrigada, você tornou essa jornada um pouco mais leve.

Aos amigos de fora do IFRJ que, mesmo de longe, sempre ofereceram o ombro amigo em momentos de angústia.

À minha orientadora, Aline Garcia, pela orientação, compreensão e disposição contínua em me atender.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição.

À minha chefe, Rosangela Malachias, que me permitiu flexibilizar o horário do trabalho com o dos estudos.

Ao Instituto Federal do Rio de Janeiro, onde eu comecei minha carreira na área de alimentos com o curso técnico, e foi um prazer retornar para o mestrado, pela excelência da qualidade de ensino público, e aos professores que passaram por mim e me ensinaram muito.

SANTOS, M. M. B. Caldo de Cana e Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar - Identificação do Perfil Bacteriano Total e Proposta de Adaptação da Lista de Verificação de Boas Práticas de Manipulação para Pontos de Venda em Feiras Livres. p.120. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2024.

RESUMO

O caldo de cana (ou garapa) é uma bebida amplamente consumida no Brasil, especialmente em regiões tropicais como o Rio de Janeiro. Embora seja uma importante fonte de energia e nutrientes, o manuseio inadequado e as condições de higiene insatisfatórias durante a venda em feiras livres podem causar contaminação microbiológica, representando um risco à saúde dos consumidores. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado nas feiras livres da cidade, focando na identificação de patógenos que poderiam representar riscos à saúde pública. Para isso, foram coletadas amostras de caldo de cana de várias feiras e realizadas análises microbiológicas detalhadas para detectar a presença de bactérias, com ênfase em *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., de acordo com o preconizado pela legislação, com posterior identificação em MALDI-TOF. A pesquisa revelou uma significativa contaminação bacteriana nas amostras analisadas, com contagens de *Escherichia coli* acima do limite em 27% das amostras, e ausência de *Salmonella* spp. Na análise do perfil bacteriano total cultivável foram identificadas distintas espécies bacterianas, sendo as mais frequentes *Pantoea dispersa*, *Enterobacter bugandensis* e *Klebsiella variicola*, espécies que apresentam potencial risco à saúde humana. A lista de verificação adaptada aplicada revelou que as condições higiênico-sanitárias dos diferentes pontos de venda avaliados necessitam de melhorias significativas, com a maioria apresentando um nível preocupante de não-conformidades (Grupo 3 - de 0 a 50% dos itens atendidos). Em conjunto, os dados apontaram para a necessidade de melhorias nas práticas de armazenamento da matéria-prima e manuseio do caldo de cana comercializado em feiras livres, visando garantir a segurança do consumidor. A presença elevada de *E. coli* indica falhas nos procedimentos de higiene durante a preparação e o manuseio da bebida, enquanto a presença de bactérias inerentes ao solo indica armazenamento e limpeza inadequada da cana, reforçando a importância de regulamentações mais rigorosas e da conscientização dos vendedores sobre boas práticas de manuseio de alimentos.

Palavras-chave: caldo de cana; contaminação microbiológica; condições higiênico-sanitárias.

SANTOS, M. M. B. Caldo de Cana e Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar - Identificação do Perfil Bacteriano Total e Proposta de Adaptação da Lista de Verificação de Boas Práticas de Manipulação para Pontos de Venda em Feiras Livres. p.120. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2024.

ABSTRACT

Sugarcane juice (or garapa) is a widely consumed beverage in Brazil, especially in tropical regions such as Rio de Janeiro. Although it is an important source of energy and nutrients, improper handling and unsatisfactory hygiene conditions during sale at street markets can cause microbiological contamination, posing a health risk to consumers. The aim of this study was to assess the microbiological quality of sugarcane juice sold at the city's street markets, focusing on identifying pathogens that could pose a risk to public health. To this end, samples of sugarcane juice were collected from various fairs and detailed microbiological analyses were carried out to detect the presence of bacteria, with an emphasis on *Escherichia coli* and *Salmonella* spp, according to legislation, with subsequent identification using MALDI-TOF. The research revealed significant bacterial contamination in the samples analyzed, with counts of *Escherichia coli* above the limit in 27% of the samples, and absence of *Salmonella* spp. In the analysis of the total culturable bacterial profile, different bacterial species were identified, the most frequent being *Pantoea dispersa*, *Enterobacter bugandensis* and *Klebsiella variicola*, species that pose a potential risk to human health. The adapted checklist applied revealed that the hygienic-sanitary conditions of the different points of sale evaluated need significant improvement, with the majority showing a worrying level of non-compliances (Group 3 - from 0 to 50% of items met). Taken together, the data pointed to the need for improvements in raw material storage practices and the handling of sugarcane juice sold at street markets, with a view to guaranteeing consumer safety. The high presence of *E. coli* indicates shortcomings in hygiene procedures during the preparation and handling of the drink, while the presence of bacteria inherent in the soil indicates inadequate storage and cleaning of the cane, reinforcing the importance of stricter regulations and raising awareness among vendors about good food handling practices.

Keywords: sugarcane juice; microbiological contamination; hygienic-sanitary conditions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Saccharum officinarum</i> L., a cana-de-açúcar	11
Figura 2	Concentrações da produção mundial de cana-de-açúcar do Brasil, Índia e China.....	12
Figura 3	Exemplo de usos da cana-de-açúcar	13
Figura 4	Composição química do caldo de cana	14
Figura 5	Extração manual do caldo de cana	17
Figura 6	Agentes etiológicos mais identificados em surtos de DTSA no Brasil entre os anos de 2014 e 2023	25
Figura 7	Funcionamento MALDI-TOF	30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Contaminantes de caldo de cana descritos na literatura nacional e internacional.....	19
----------	--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2.1 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 CANA E CALDO DE CANA.....	11
2.2 RISCO MICROBIOLÓGICO ASSOCIADO AO CONSUMO DE CALDO DE CANA.....	16
2.3 SEGURANÇA DE ALIMENTOS COM FOCO EM CALDO DE CANA.....	24
2.4 PADRÕES MICROBIOLÓGICOS E MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA.....	28
3. OBJETIVOS	31
3.1. OBJETIVO GERAL.....	31
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4. CAPÍTULO 1: SUGARCANE JUICE AND WATERBORNE AND FOODBORNE DISEASES - TOTAL BACTERIAL PROFILE AND ADAPTED GOOD HANDLING PRACTICES CHECKLIST FOR POINTS OF SALE AT STREET MARKETS	32
5. CAPÍTULO 2: ALERTA À QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CALDO DE CANA	63
6. CAPÍTULO 3: MICROBIAL RISK RELATED TO SUGAR CANE JUICE CONSUMPTION	81
7. CAPÍTULO 4: ANALYSIS OF THE MICROBIAL LOAD OF SUGARCANE JUICE COLLECTED IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO	82
8. CONCLUSÃO	83
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
APÊNDICE A – CHECKLIST ADAPTADO PARA BARRACAS DE CALDO DE CANA EM FEIRAS LIVRES E AMBIENTES SIMILARES	89
ANEXO A – CHECKLIST DA RDC Nº 275 DE 2002	94

1. INTRODUÇÃO

O caldo de cana, ou garapa, é um dos diversos produtos que podem ser obtidos através da cana-de-açúcar. Possui uma grande importância para a economia do Brasil, e é popularmente consumido por pessoas de todas as faixas etárias, desde crianças a idosos.

Distintos artigos apontam um alto nível de contaminação da bebida com bactérias, fungos, e mais recentemente, com protozoários, como é o caso de *Trypanosoma cruzi*, indicando um risco à saúde da população associado ao seu consumo. Alguns fatores favorecem este risco como: consumo *in natura*, sem nenhum tratamento térmico; composição nutricional propícia ao crescimento de microrganismos diversos, incluindo patógenos em potencial; o processo de extração do caldo de cana, que por muitas vezes não apresenta condições higiênico-sanitárias adequadas; e consumo por indivíduos de distintas faixas etárias, com destaque para crianças e idosos.

Devido à condição econômica do país, que favorece o comércio informal de alimentos, é frequente encontrar esta bebida sendo comercializada por vendedores ambulantes em vias públicas, praças, feiras livres, os quais normalmente não apresentam conhecimentos técnicos que garantam a segurança do alimento vendido. Deste modo, essa bebida acaba sendo um ponto de interesse para a saúde pública, uma vez que estes comerciantes, na maioria das vezes, possuem pouca, ou nenhuma, instrução quanto às legislações específicas que devem ser cumpridas para garantir a segurança da bebida para os consumidores.

Com base no que foi exposto, o presente trabalho terá como objetivos a determinação da qualidade microbiológica de caldos de cana coletados em distintos pontos de venda, bem como a avaliação das condições dos ambientes de venda, de modo a apresentar estratégias que possam servir para melhorar a qualidade e segurança da bebida.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CANA E CALDO DE CANA

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (Figura 1) é uma das culturas mais valorizadas globalmente, especialmente em países tropicais e subtropicais (HOMAIDA *et al.*, 2017). Originária do sudeste asiático, sua expansão e cultivo foram amplamente promovidos após o período das grandes navegações, levando ao seu cultivo a outros continentes. Desde então, houve uma popularização e difusão do uso dos seus derivados (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PRADO *et al.*, 2010; NORBERG *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2021).

Figura 1: *Saccharum officinarum* L., a cana-de-açúcar.



Fonte: extraído de <https://www.canalrural.com.br/noticias/agricultura/safra-2022-23-da-cana-de-acucar-deve-superar-572-mi-t-aponta-conab/>

A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil pelos portugueses em 1502, se tornando rapidamente uma das principais fontes de riqueza do país. Com o incentivo do programa PROÁLCOOL do Governo Federal em 1975, visando reduzir o uso de combustíveis derivados do petróleo, a produção de álcool etílico a partir da cana-de-açúcar se intensificou, conferindo grande importância econômica à cultura e espalhando seu cultivo por todos os estados brasileiros. Atualmente, a cana-de-açúcar é cultivada comercialmente em mais de 70 países, com o Brasil

sendo o maior produtor mundial, seguido pela Índia e China (Figura 2) (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PRADO *et al.*, 2010; NORBERG *et al.*, 2012; NOCELLI *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2021).

Figura 2: Concentrações da produção mundial de cana-de-açúcar do Brasil, Índia e China



Fonte: NOCELLI *et al.* (2017), com dados da FAO e CTC.

Considerando a alta produtividade, a cana-de-açúcar se destaca pela variedade de produtos que podem ser obtidos a partir dela, tais como energia, papel, plástico, álcool (para consumo ou como combustível), açúcar (sacarose), rapadura, cera e caldo de cana. Isso demonstra a grande versatilidade de utilização dessa planta (Figura 3) (SANTOS *et al.*, 2021).

Figura 3: Exemplos de usos da cana-de-açúcar.



Fonte: extraído de <https://www.energiaquefala.com.br/2018/08/02/a-versatilidade-da-cana-de-acucar-da-producao-de-alimentos-a-geracao-de-energia/>

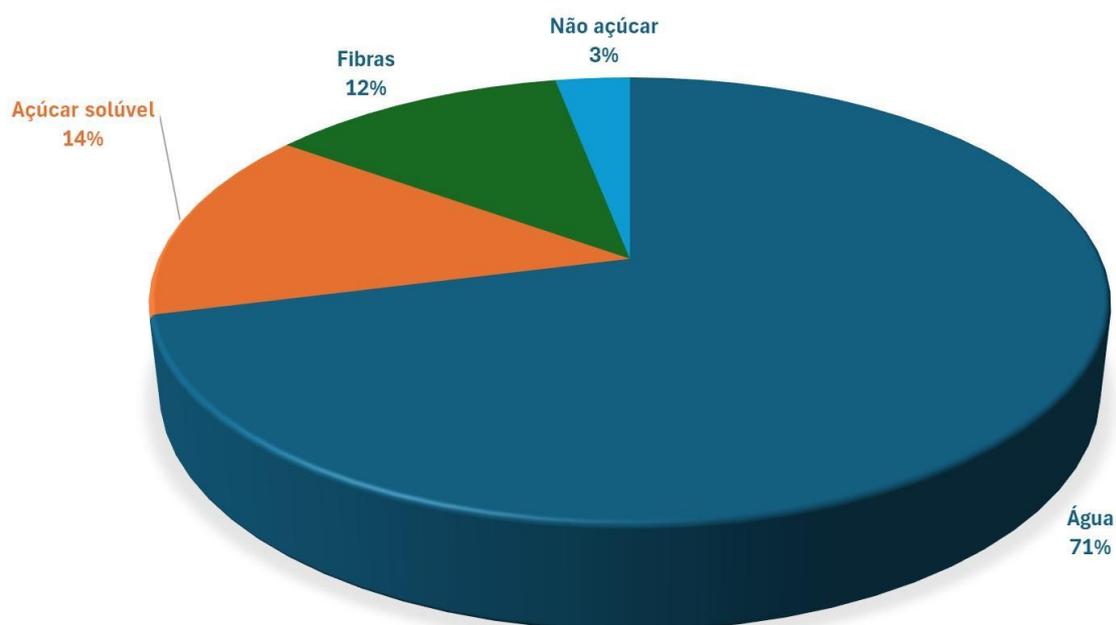
Entre os muitos usos da cana-de-açúcar, no campo alimentício a produção de caldo de cana se destaca. A comercialização dessa bebida é considerada uma atividade altamente lucrativa pelos seus produtores (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PRADO *et al.*, 2010; NORBERG *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2021).

O caldo de cana, ou garapa, é uma bebida energética, não alcoólica, que possui sabor agradável, sendo de grande popularidade no Brasil, devido às suas características de refrescância e sabor doce. Tal bebida é consumida frequentemente por pessoas de todas as idades e classes sociais, especialmente nos períodos mais quentes do ano (OLIVEIRA *et al.*, 2006). É um líquido opaco e viscoso, variando em cor de marrom a verde escuro. Sua composição pode mudar devido a fatores como variedade, idade e saúde da cana, ambiente (solo e condições climáticas, como temperatura e precipitação), práticas agrícolas (maturação, colheita, manuseio, transporte e armazenamento), além de pragas e doenças (PRATI & CAMARGO, 2008).

A água é o principal componente do caldo de cana (75-82%), seguida por sólidos totais dissolvidos (18-25%). Entre estes sólidos, encontram-se açúcares solúveis como sacarose (14,5-23,5%), glicose (0,2-1,0%) e frutose (0,0-0,5%), fibras (12%), além de substâncias orgânicas, exceto açúcares (0,8-1,5%) e

substâncias inorgânicas (0,2-0,7%) (PRATI & CAMARGO, 2008) (Figura 4). Os não-açúcares orgânicos incluem substâncias nitrogenadas como proteínas, amidas, aminoácidos, gorduras e ceras, pectina, ácidos e pigmentos (clorofila, antocianina e sacaretina). Os não-açúcares inorgânicos são minerais, principalmente sílica e potássio, além de fósforo, cálcio, sódio, magnésio, enxofre, ferro, alumínio e cloro (PRATI & CAMARGO, 2008; MADHAVI *et al.*, 2020).

Figura 4: Composição química do caldo de cana.



Fonte: Adaptado de MADHAVI *et al.* (2020).

Em relação aos aspectos funcionais, o caldo de cana contém diversos fitoquímicos que podem conferir várias propriedades farmacológicas. Essas propriedades incluem ações antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antiartríticas, antiasmáticas, antitumorais e antitrombóticas (DUKE, 1992). Também apresenta várias propriedades biológicas e farmacêuticas, devido à presença de ácidos graxos, álcoois, fitoesteróis, terpenóides superiores, flavonoides e ácidos fenólicos (SINGH *et al.*, 2015).

A cultura da cana-de-açúcar é significativa não apenas por sua importância econômica, mas também pelo seu valor medicinal. A medicina tradicional chinesa e indiana (ayurveda) são exemplos históricos do uso de alimentos como terapias

alternativas. No antigo Ayurveda indiano, a cana-de-açúcar é usada como remédio, frequentemente em combinação com outras ervas e plantas (ANIS & IQBAL, 1986).

Os estudos de Karthikeyan & Samipillai (2010) demonstraram que o caldo de cana tem sido usado como um remédio natural para uma variedade de problemas de saúde na Índia. Ele foi considerado benéfico para várias condições, como hemorragia, anúria, icterícia, disúria, câncer, doenças cardiovasculares e urinárias. O caldo de cana desempenha um papel significativo no fortalecimento do estômago, rins, coração, olhos, cérebro e órgãos sexuais. Ele também ajuda a regular a micção e aliviar problemas como queimação, gonorréia, próstata aumentada, cistite e nefrite, auxiliando os rins em suas funções adequadas. Além disso, em doenças que causam febre e resultam em grande perda de proteína, a ingestão de caldo de cana pode ajudar a repor as proteínas necessárias e outros nutrientes essenciais. Outra característica notável do caldo de cana é a presença significativa de clorofila (1,1 mg/100 mL à 27°C) (YUSOF, SHIAN, & OSMAN, 2000), um composto associado à melhoria dos sintomas da anemia. Além disso, a clorofila atua como um supressor de odores e auxilia na cicatrização de ferimentos (HUMPHREY, 2004).

Durante o século XX, a medicina ocidental reconheceu o valor nutricional do caldo de cana associado à sua alta densidade energética e ao efeito glicêmico moderado devido à predominância de sacarose. As alegações sobre seus efeitos fitoterápicos, embora frequentes, eram geralmente consideradas como baseadas em "crendices populares" sem fundamentação científica. No Brasil, as pesquisas têm sido realizadas de forma intermitente e não sistemática (MAIA, 2022).

Os estudos de Prati e Camargo (2008) revelaram as características físico-químicas do caldo de cana, que incluem um pH de $5,46 \pm 0,02$, $24,50 \pm 0,1\%$ de sólidos solúveis, $0,047 \pm 0,001\%$ de acidez total titulável, uma relação Brix/Acidez de $585,11 \pm 10,32$, e $3,19 \pm 0,01$ mg/100 mL de ácido ascórbico. O pH relativamente baixo, associado às altas concentrações de açúcares, torna o caldo de cana suscetível à deterioração microbiana, especialmente por bactérias lácticas e leveduras, devido à tolerância das mesmas ao baixo pH e aos altos teores de açúcares (PRADO *et al.*, 2010).

A Portaria do Ministério da Agricultura e Pecuária nº 123, de 13 de maio de 2021, estabelece os padrões de identidade e qualidade para bebida composta, chá,

refresco, refrigerante, soda e, quando couber, os respectivos preparados sólidos e líquidos. No caso do caldo de cana, para ser considerada uma bebida composta de vegetal (ou refresco vegetal) é necessário que haja, no mínimo, 30 mL de suco, ou de polpa de cana-de-açúcar, por 100 mL de bebida.

2.2 RISCO MICROBIOLÓGICO ASSOCIADO AO CONSUMO DE CALDO DE CANA

A venda de alimentos e bebidas nas ruas é uma atividade socioeconômica e cultural que tem se tornado uma fonte de sustento para cada vez mais pessoas, especialmente para pessoas desempregadas ou com baixa qualificação profissional, oferecendo uma renda para aqueles que muitas vezes são excluídos do mercado de trabalho formal. Análises dos microdados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua e Anual (PNAD), do IBGE apontam para o crescimento do setor. Em 2017 um pouco mais de 1,7 milhões de brasileiros se definiam com trabalhadores ambulantes, destes 26% atuavam em serviços ambulantes específicos de alimentação, sendo esta a atividade a responsável por 94% do crescimento do número de ambulantes no país, um crescimento de 120% em relação ao ano anterior (TERRITORIAL, 2018).

Este comércio, muitas vezes considerado informal, é amplamente apoiado pela população. Por um lado, há uma falta de consciência de que estes locais de venda frequentemente não possuem condições higiênico-sanitárias adequadas para garantia da qualidade dos produtos comercializados, o que pode resultar em doenças em quem os consome. Por outro lado, existe a crença de que alimentos frescos, naturais ou caseiros, são sempre mais saudáveis (NORBERG *et al.*, 2012; BREZOVSKY *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2021).

O caldo de cana é obtido por moagem da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) em moendas elétricas ou manuais, sendo posteriormente coado em peneiras metálicas e servido com gelo, podendo ser consumido puro ou adicionado de suco de frutas ácidas como o limão (Figura 5) (HOMAIDA; YAN; YANG, 2017; SANTOS *et al.*, 2021). Esta bebida possui características tais como: alto teor de açúcar, elevada atividade de água e pH favorável, o que o torna um ótimo substrato para o crescimento de microrganismos (BREZOVSKY *et al.*, 2016).

Figura 5: Extração manual do caldo de cana.



Fonte: Extraído de

https://pt.wikipedia.org/wiki/Caldo_de_cana#/media/Ficheiro:Making_the_guarapa_from_the_sugar_cane.jpg.

Apesar de simples, o processo de preparo da bebida é crítico e pode levar à transferência de microrganismos, do ambiente ou do manipulador, ou a multiplicação dos microrganismos já existentes na matéria-prima e/ou na bebida. Os maiores riscos de contaminação do caldo de cana ocorrem durante as etapas de moagem e durante a alocação em recipientes para venda, devido à falta de higiene dos equipamentos, contaminação ambiental ou humana ou pelas condições inadequadas de manipulação (BREZOVSKY *et al.*, 2016.; NASCIMENTO *et al.*, 2006; OLIVEIRA, 2006; PRADO *et al.*, 2010). Ademais, os resíduos do processo são depositados normalmente perto da moenda atraindo vetores e outros animais, elementos estes que podem favorecer a ocorrência de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) (PRADO *et al.*, 2010).

Duas normas técnicas regem a extração de caldo de cana, a ABNT NBR 16221 (2019) e ABNT NBR 16222 (2019). A primeira norma especifica os requisitos para a extração do caldo de cana-de-açúcar por prensa hidráulica automática, para análises químicas e físicas. Já a segunda especifica o método para a extração do caldo de cana-de-açúcar, em água, sob agitação, com refrigeração e tempo controlados (ABNT, 2019).

O alto consumo de caldo de cana por moradores da cidade do Rio de Janeiro em feiras livres, associado às precárias condições higiênico-sanitárias de manipulação, do local do preparo e a falta de treinamento e conhecimento de Boas

Práticas de Manipulação (BPM) por parte dos manipuladores podem levar a uma alta contaminação do caldo de cana durante a sua produção, representando riscos à saúde da população e possíveis ocorrências de DTHA (SILVA *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2021).

Os estudos conduzidos por Oliveira *et al.* (2006) indicam que os comerciantes frequentemente enfrentam dificuldades ao compreender a importância das práticas higiênicas e de que forma aplicá-las em suas atividades diárias. Eles lidam com múltiplas responsabilidades, como a extração e comercialização do produto, manuseio de dinheiro e descarte do lixo gerado. Além disso, devido às condições precárias de higiene, estes fatores podem levar a contaminações que representam riscos significativos, causando doenças gastrointestinais nos consumidores. Os sintomas incluem náuseas, diarreias, vômitos, dores abdominais e, em casos mais severos, até mesmo óbito.

Existem vários fatores de contaminação durante o processamento da cana-de-açúcar, sendo um deles frequentemente desconhecido, mas relevante: o intervalo de tempo entre a colheita da cana-de-açúcar e sua moagem. É sabido que períodos prolongados favorecem a proliferação de microrganismos e conseqüentemente o processo de deterioração (SOLOMON & SINGH, 2009) e essa deterioração ao longo do tempo contribui para a contaminação, relacionada à microbiota da planta. A planta possui uma ampla e diversificada microbiota, que é transferida para o caldo de cana durante o processamento, impactando diretamente no nível de contaminação e na própria transformação do produto final (PRADO *et al.*, 2010; BREZOVSKY *et al.*, 2016.).

O Quadro 1 apresenta uma seleção de estudos, nacionais e internacionais, dos últimos dezoito anos que analisaram a qualidade microbiológica e a presença de possíveis microrganismos patógenos em caldo de cana. Dentre os microrganismos encontrados podemos destacar coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*. Com relação às fontes para esta contaminação destaca-se a falta de boas práticas de manipulação da cana-de-açúcar.

Quadro 1: Contaminantes de caldo de cana descritos na literatura nacional e internacional.

Ano	Título	Principais microrganismos identificados	Possíveis origens dos microrganismos, apontadas pelos autores	Autores
2006	Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil	Coliformes totais e termotolerantes, bactérias heterotróficas	Equipamentos e utensílios com condições higiênicas inadequadas, utensílios deixados descobertos, latas de lixo deixadas abertas e em locais inadequados e pouca frequência de lavagem das mãos.	OLIVEIRA <i>et al.</i>
2007	Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna-BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Armazenamento de canas-de-açúcar diretamente no chão e/ou ao ar livre, sem limpeza antes de moê-la; manipulação de dinheiro e do caldo de cana sem higienizar as mãos, e uso de gelo de origem duvidosa.	CARVALHO, L. R.; MAGALHÃES, J. T.
2008	Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Vibrio cholerae</i>	Não lavagem da matéria-prima, indisponibilidade de água corrente, conservação prolongada sem refrigeração, ambientes anti-higiênicos com enxames de moscas e poeira transportada pelo ar	MAHALE, D. P.; KHADE, R. G.; VAIDYA, V. K.
2010	Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana <i>in natura</i> comercializado por ambulantes.	Coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras	Manipulação ou mesmo na contaminação cruzada através de equipamentos e utensílios utilizados para a obtenção do caldo.	PRADO, <i>et al.</i>

2010	Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado na orla marítima da cidade de Salvador-Bahia.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.	Baixa capacitação profissional dos manipuladores, pouco conhecimento sobre as condições higiênico-sanitárias adequadas, falta de infraestrutura; qualidade inadequada da matéria-prima.	SILVA, <i>et al.</i>
2012	Análise qualitativa e quantitativa de caldos de cana comercializados na região da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à poluição por <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Procedimentos inadequados de higiene, como servir o caldo de cana e manipular dinheiro; uso de panos aparentemente sujos para limpar as mãos; roupas, unhas e mãos sujas, e produtos encontrados prontos para a venda sem refrigeração.	NORBERG, A. N. <i>et al.</i>
2014	Análise parasitológica do caldo de cana e das condições higiênico-sanitárias do seu comércio no centro da cidade de Fortaleza, Ceará	Ovos de <i>Ascaris</i> sp., <i>Trichuris</i> sp., <i>Ancylostoma</i> sp., <i>Entamoeba</i> sp., <i>Enterobius</i> sp., <i>Taenia</i> sp.	Baixa frequência de higienização das mãos dos manipuladores, não higienização da cana antes do processamento, baixa frequência de limpeza da moenda.	DE AZEVEDO, <i>et al.</i>
2016	Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em Curitiba, Paraná	Bolores e leveduras, bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais e termotolerantes, <i>Escherichia coli</i>	Gelo sem procedência conhecida; uso de matéria prima com sujidades; utilização de fontes de água desconhecidas; falta de asseio pessoal e hábitos higiênicos precários dos produtores; manipulação de dinheiro sem posterior higienização das mãos; falta de higienização dos utensílios usados em todo o processo produtivo; acondicionamento inadequado do produto;	SPRENGER, L. K., <i>et al.</i>

			matéria-prima e produto exposto a grandes variações de temperatura e falta de proteção dos locais de venda contra perigos físicos e biológicos.	
2016	Avaliação Microbiológica e Microscópica do Caldo de Cana Comercializado em Ji-Paraná	Coliformes totais, <i>Salmonella</i> sp., <i>Shigella</i> sp., <i>Endolimax nana</i> e Leveduras.	Más condições higiênico-sanitárias de manipulação.	BREZOVSKY <i>et al.</i>
2016	Análise Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado Por Ambulantes na Cidade de Natal-RN	Coliformes totais e termotolerantes	Má manipulação do alimento no momento da preparação, a falta de higiene com os utensílios e equipamentos utilizados na preparação do alimento, má estocagem e acondicionamento.	CARVALHO <i>et al.</i>
2017	Avaliação das condições higiênico-sanitárias de caldo de cana comercializado por ambulantes no município de Bauru/SP, Brasil.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>Escherichia coli</i> .	Não cumprimento das práticas higiênico-sanitárias tanto dos equipamentos para a moagem, quanto dos próprios manipuladores.	SIMIONATO & MAFEI.
2017	Análise da qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado em um município da região oeste do Paraná	Coliformes totais e termotolerantes.	Manipuladores não utilizavam proteção para os cabelos; descarte do bagaço da cana no chão ou em lixo sem tampa; manuseio do caldo e dinheiro ao mesmo tempo, e falta de percepção da necessidade de lavar as mãos.	GASSEN, G. S. <i>et al.</i>

2018	Análise Parasitológica de Caldos de Cana Comercializados em Feiras Livres em uma Cidade no Interior da Bahia.	Cistos de <i>Entamoeba coli</i> , ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> , cistos de <i>Giardia lamblia</i> , oocistos de <i>Isospora belli</i>	Grande deficiência higiênico-sanitária nos estabelecimentos.	PINA, ESPINHEIRA, DE SOUZA.
2018	Condições higiênico-sanitárias do caldo de cana de açúcar comercializado em Teresina–Piauí.	Coliformes totais e termotolerantes.	Ausência de condições higiênico-sanitárias em todas as etapas de produção, transporte, armazenamento, manipulação e preparação.	XAVIER, <i>et al.</i>
2019	Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Ilhéus-BA.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>Escherichia coli.</i> , Enterobactérias.	Falhas de boas práticas de manipulação da bebida e estocagem indevida da matéria-prima.	REIS & SOUSA
2019	Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes no município de Campo Mourão-PR	Bolores e leveduras, bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais e termotolerantes.	Matéria-prima excessivamente contaminada; higienização insuficiente na produção; limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas e condições impróprias de tempo e temperatura durante a conservação dos alimentos.	GALVÃO, <i>et al.</i>
2020	Análise parasitológica de caldo-de-cana comercializados no Distrito Federal.	Ovos de <i>Giardia sp.</i> , <i>Entamoeba sp.</i> , <i>Ascaris sp.</i> , <i>Taenia sp.</i> e Leveduras	Falta de medidas como uma monitorização mais eficaz do material, o cuidado na manutenção e armazenamento, ações acrescentadas ao treinamento correto na manipulação do alimento.	DA MOTA, <i>et al.</i>

2019	Qualidade microbiológica de Caldo de cana-de-açúcar comercializado em feira livre de União dos Palmares, Alagoas	Coliformes totais e termotolerante, leveduras e protozoários.	Má higienização dos utensílios e manipulação inadequada do alimento.	ATAÍDE, <i>et al.</i>
2022	Condições Higiênico-sanitárias e qualidade microbiológica do caldo de cana “in natura” comercializado em Sinop–MT.	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Precariedade das condições higiênico-sanitárias na fabricação, manipulação, estocagem, acondicionamento e armazenamento desta bebida.	CARVALHO, <i>et al.</i>
2022	Análise dos Perigos Microbiológicos em Amostras de Caldo de Cana	Coliformes totais e termotolerante, <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i> e <i>Hafnia alvei</i>	Manipuladores não praticavam higiene das mãos ou, quando esta era realizada, ocorria de forma precária. As moendas e os recipientes ficavam tampados por apenas um pano, o lixo apresentava-se sem tampa ou alocado em sacos plásticos próximos à moenda. Parte dos vendedores manipulou dinheiro antes do preparo do caldo.	NAZÁRIO & ALMEIDA E BORGES
2023	Análise Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado por Ambulantes em Cidades do Sul Fluminense – RJ	Coliformes totais e termotolerantes	Más condições higiênico - sanitárias por parte dos manipuladores.	DA SILVA, <i>et at.</i>

Fonte: autoria própria.

2.3 SEGURANÇA DE ALIMENTOS COM FOCO EM CALDO DE CANA

O termo segurança de alimentos, ou "food safety" em inglês, refere-se à garantia da qualidade dos produtos oferecidos no mercado, assegurando que estão livres de contaminantes que possam afetar a saúde dos consumidores (PRANGE, 2017).

A ABNT NBR ISO 22000 de 2018 traz a definição de segurança de alimentos em seu item 3.21: "Garantia de que o alimento não causará efeitos adversos à saúde do consumidor quando preparado e/ou consumido conforme o uso pretendido". Essa norma define as diretrizes para implementar um sistema de gestão de segurança de alimentos, assegurando que todas as etapas da cadeia produtiva atendam aos requisitos necessários para garantir a produção de alimentos seguros (ABNT, 2018).

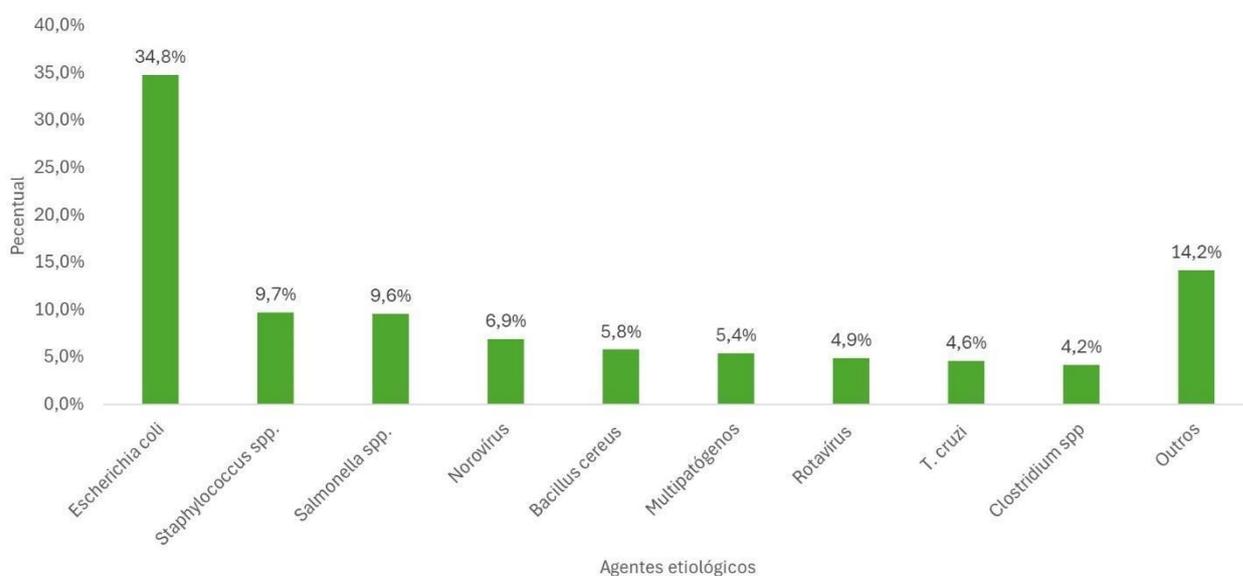
Segundo o informe de 2024 de Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) do Ministério da Saúde, em 2023 a taxa de letalidade de DTHA foi de 0,16, sendo mais afetada a região Sudeste. Verificando-se os dados coletados entre 2014 e 2023, o local com maior ocorrência foram as residências, sendo a água a principal causadora dos surtos (BRASIL, 2024). As principais vítimas foram crianças com menos de cinco anos, idosos e indivíduos cujas defesas naturais estavam comprometidas devido à desnutrição ou outras condições que enfraquecem o sistema imunológico, como a AIDS e o câncer. A preocupação com a segurança dos alimentos é constante e levanta diversas discussões entre organizações governamentais, instituições de ensino e empresas alimentícias sobre iniciativas que garantam a saúde da população. Como resultado, as DTHA são uma preocupação diária para as autoridades de saúde pública (CARVALHO & MAGALHÃES, 2014).

No Brasil, no período de 2014 a 2023, as bactérias mais frequentemente associadas a surtos de DTHA foram *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp. Mais recentemente um protozoário tem se destacado como contaminante de alimentos, como caldo de cana e açaí, o *Trypanosoma cruzi*. Devido à gravidade das doenças causadas por este microrganismo um alerta recaí sobre tais alimentos (BRASIL, 2024) (Figura 6).

Em 1990 já existiam relatos da presença do *T. cruzi* no caldo de cana, o que poderia implicar na transmissão da doença de Chagas por via oral (PINTO *et al.*, 1990; CARDOSO *et al.*, 2006). No entanto, somente a partir de 2005 é que as autoridades de saúde pública passaram a se preocupar efetivamente com o consumo do caldo de cana, devido a vários casos de doença de Chagas ocorridos em Santa Catarina, associados ao consumo dessa bebida que continha formas viáveis do protozoário (ANVISA, 2015).

No Brasil, a transmissão oral da doença de Chagas é a mais prevalente, contribuindo significativamente para o aumento da morbidade e mortalidade. Assim, essa forma de transmissão tornou-se uma das mais importantes do ponto de vista da saúde pública. Entre 2000 e 2011, foram registrados 1.252 casos de doença de Chagas aguda, sendo que 70% destes casos foram atribuídos à transmissão oral (DE MATTOS *et al.*, 2017). O estudo de Suzuki *et al.* (2024) concluiu que o *T. cruzi* pode sobreviver e permanecer infeccioso quando armazenado a -80 °C sem conservantes, o que torna essa condição inadequada para a preservação de alimentos potencialmente carreadores do parasito.

Figura 6: Agentes etiológicos mais identificados em surtos de DTSA no Brasil entre os anos de 2014 e 2023.



Fonte: BRASIL (2024).

Após o surto registrado em Santa Catarina, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a Resolução – RDC nº 218, em 29 de julho de 2005. Esta resolução estabelece normas higiênico-sanitárias para a manipulação de alimentos e bebidas preparados com vegetais, aplicáveis tanto a estabelecimentos fixos quanto temporários. Segundo a resolução, os produtores de vegetais devem ser previamente cadastrados pelos pontos de venda. Este cadastro deve incluir o nome do produtor, endereço e local de origem da matéria-prima, a fim de facilitar a rastreabilidade. Além disso, as matérias-primas devem ser armazenadas em recipientes ou sobre paletes, estrados ou prateleiras, que devem ser mantidos limpos e protegidos contra vetores e pragas, sem contato direto com o chão (BRASIL, 2005).

Além das preocupações mencionadas anteriormente, é crucial considerar questões importantes relacionadas aos manipuladores de alimentos, destacadas no item 4.2 da RDC nº 218. Segundo este item, os manipuladores devem manter higiene pessoal, manter as unhas curtas e sem esmalte ou base, e evitar o uso de adornos como anéis e brincos. O cabelo deve estar preso e protegido por touca, boné ou rede, e os manipuladores devem usar vestimentas adequadas, conservadas e limpas. É essencial lavar as mãos cuidadosamente antes e depois de manipular alimentos, além de evitar fumar, cantar, espirrar, tossir ou realizar qualquer ação que possa contaminar os alimentos durante o preparo. Os utensílios e equipamentos utilizados devem estar limpos durante todo o processo de preparo. Os manipuladores precisam empregar técnicas que minimizem o risco de contaminação, como a correta lavagem das mãos, uso de luvas descartáveis, capacitação em higiene pessoal, manipulação higiênica dos alimentos e controle das doenças transmitidas por alimentos (BRASIL, 2005).

A mesma legislação também estabelece que o ambiente de preparo de alimentos deve ser protegido contra vetores e pragas e mantido limpo durante todo o processo de produção, quantas vezes for necessário. Equipamentos e utensílios devem estar sempre limpos, em perfeito estado de funcionamento, sem ranhuras, rachaduras, ferrugem ou outros defeitos e, quando não estiverem em uso, devem ser devidamente protegidos. No caso específico do caldo de cana, a cana-de-açúcar deve ser lavada e sanitizada antes da extração do caldo, que deve ocorrer imediatamente antes do consumo (BRASIL, 2005).

Levando em conta que o caldo de cana é frequentemente servido com gelo, a mesma legislação destaca que a água usada na produção deve ser potável. Em locais onde não há acesso à rede de abastecimento de água, a água deve ser armazenada em recipientes apropriados e fechados, sendo obrigatório o uso de copos descartáveis. O gelo utilizado deve ser feito com água potável e em condições higiênico-sanitárias adequadas. Deve ser transportado e armazenado de forma a evitar qualquer contaminação. Quanto aos resíduos gerados pelo processo de moagem, eles devem ser recolhidos frequentemente e armazenados em lixeiras com tampas, em áreas específicas, para evitar contaminação e a atração de vetores e pragas (BRASIL, 2005).

Outra legislação que também versa sobre o gelo é a RDC nº 717, de 1º de julho de 2022, que dispõe sobre os requisitos sanitários das águas envasadas e do gelo para consumo humano. O gelo é definido como “água potável em estado sólido”, devendo ser preparado a partir de água que atenda ao padrão de potabilidade da água estabelecido pelo Ministério da Saúde, por meio da Portaria de Consolidação MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, ou outra que lhe vier a substituir.

A segurança microbiológica do gelo comercial utilizado no caldo de cana foi estudada por Mahale, Khade e Vaidya (2008). As amostras de gelo coletadas dos fornecedores apresentaram uma alta contagem de bactérias totais (log 5 - 8,5). Setenta por cento (70%) dessas amostras continham coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Vibrio cholerae*. Isso aponta para condições insalubres, práticas não higiênicas durante ou após a produção e a má qualidade da água utilizada. Se a água for de má qualidade, microrganismos patogênicos e potencialmente patogênicos podem sobreviver no gelo, já que nessa temperatura não ocorre a eliminação deles. Quando o gelo começa a derreter, os microrganismos sobreviventes, mesmo que enfraquecidos, tendem a recuperar sua viabilidade, permitindo que sobrevivam nos sucos (MAHALE, KHADE E VAIDYA 2008).

Em consonância com a RDC nº 218, também se destaca a Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004, que estabelece normas técnicas para boas práticas nos serviços de alimentação. Essas normas visam orientar sobre os cuidados essenciais durante a manipulação dos alimentos, garantindo condições

higiênico-sanitárias adequadas para prevenir qualquer forma de contaminação que possa comprometer a saúde dos consumidores.

A Resolução RDC Nº 275, de 21 de outubro de 2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e serviços de alimentação. Esta normativa visa assegurar a segurança alimentar por meio de diretrizes rigorosas para a higiene pessoal, manipulação, armazenamento, transporte e comercialização de alimentos, seguindo as boas práticas de fabricação (BPF). Ao estabelecer critérios detalhados e específicos, a RDC Nº 275 busca prevenir a contaminação dos alimentos e garantir que os processos operacionais sigam padrões que protejam a saúde dos consumidores.

A verificação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação (BPF) deve seguir um *checklist* (lista de verificação) conforme estabelecido na Resolução nº 275 de 2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Este checklist é utilizado para selecionar fornecedores, realizar inspeções sanitárias e verificar, dentro das próprias instalações de produção de alimentos e bebidas, a conformidade com as BPF. Além disso, o *checklist* pode ser empregado na avaliação da viabilidade de implementação de um Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), o qual se fundamenta nas Boas Práticas de Fabricação (DA SILVA, 2021).

2.4 PADRÕES MICROBIOLÓGICOS E MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA

Os padrões microbiológicos para alimentos e a definição de critérios para interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano são estabelecidos em documentos e legislações nacionais. A atual Resolução da Diretoria Colegiada nº 724, de 01 de julho de 2022 (RDC 724), em conjunto com a Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022, estabelecem estes critérios e padrões. Essa regulamentação não menciona especificamente o caldo de cana, mas o mesmo se enquadra na categoria 12 (Bebidas Não Alcoólicas), subitem f (Sucos e outras bebidas "in natura" ou

reconstituídas). De acordo com essa legislação, é exigida a pesquisa de *Salmonella*, devendo esta estar ausente em 25 mL, bem como a quantificação de *Escherichia coli*, para a qual é apresentado um limite de tolerância de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL.

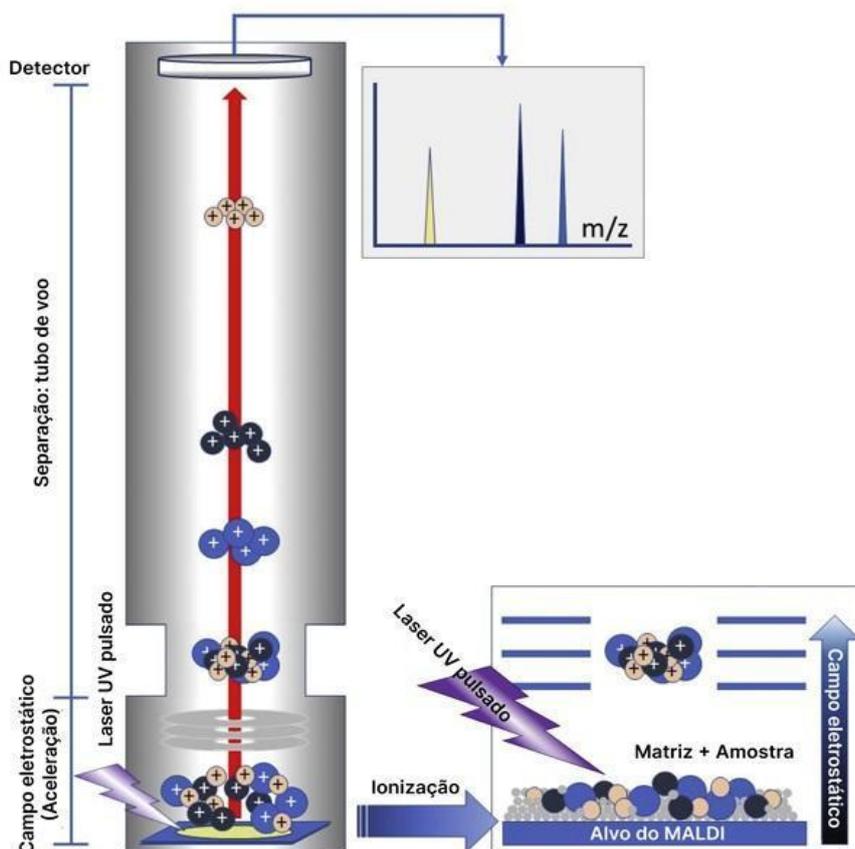
Os métodos tradicionais de detecção de bactérias em alimentos continuam a ser reconhecidos oficialmente em muitos países, inclusive no Brasil. Essas técnicas microbiológicas clássicas envolvem processos de cultivo que são caros e bastante laboriosos, podendo levar até sete dias para confirmar os resultados. Isso ocorre porque são necessárias etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação bioquímica e sorológica. Essas etapas são essenciais para aumentar a recuperação das células em alimentos que possuem microbiota competitiva, células em quantidades reduzidas ou danificadas, o que já aponta uma limitação grande, a necessidade de conseguir isolar e proliferar em laboratório as bactérias de interesse oriundas do alimento em análise. Além disso, a identificação baseada em perfis fenotípicos usada nessas metodologias está sujeita a erros devido à variabilidade destes perfis, o que pode resultar em reações falso-negativas ou em interpretações difíceis e equivocadas (BIER, 2017).

O uso de estudos proteômicos, como a espectrometria de massa, representa um avanço significativo na detecção rápida de patógenos em alimentos, permitindo a caracterização precisa dos microrganismos alvos (BIER, 2017). Atualmente, a espectrometria de massa tem sido aplicada de maneira abrangente, abarcando desde a identificação rápida de bactérias em surtos de doenças de origem alimentar até o controle de qualidade da água, testes de resistência a antibióticos, diagnóstico ágil de doenças infecciosas e a descoberta de biomarcadores capazes de distinguir com precisão organismos intimamente relacionados (CHENG, 2016).

A espectrometria de massas é fundamental para a maioria dos estudos que envolvem análises proteômicas. Os principais métodos de ionização incluem a dessorção/ionização a laser assistida por matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization*, MALDI) e a ionização por electrospray (*Electrospray Ionization*, ESI). Os analisadores mais comuns são o tempo de voo (*time-of-flight*, TOF) e o quadrupolo (Q) (ZAHA, FERREIRA E PASSAGLIA, 2014).

A técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF possibilita comparar o espectro de massas de proteínas de um microrganismo isolado e desconhecido com espectros de referência de cepas conhecidas, como a comparação de impressões digitais. Este método permite classificar e identificar patógenos de forma mais rápida do que os métodos tradicionais (BIER, 2017). As amostras são ionizadas e vaporizadas utilizando um laser. Os íons formados são acelerados através de um campo elétrico ao longo de uma coluna até chegarem ao detector. O tempo de voo de cada íon é determinado pela relação massa/carga (m/z) – íons com menor m/z se movem mais rapidamente. O detector registra o tempo de voo de cada íon e um computador calcula a massa, gerando um espectro característico (Figura 7). Segundo Cuénod *et al.* (2021), a espectrometria de massa MALDI-TOF transformou o diagnóstico de microrganismos, estabelecendo-se como a técnica preferida para a identificação de espécies bacterianas em diagnósticos clínicos, graças ao seu baixo custo, alta precisão e rapidez na obtenção de resultados.

Figura 7: Funcionamento MALDI-TOF.



Fonte: Adaptado de TSUCHIDA; UMEMURA; NAKAYAMA (2020).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Identificar o risco microbiológico associado ao consumo de caldo de cana em feiras livres e propor alternativas que permitam a melhoria da qualidade da bebida.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o perfil bacteriano total das amostras de caldo de cana obtidas em feiras livres das zonas norte e sul da cidade do Rio de Janeiro;
- Determinar a qualidade microbiológica das amostras de caldo de cana de acordo com a legislação vigente;
- Identificar os pontos mais críticos para a contaminação *in loco* da bebida;
- Propor e aplicar um *checklist* de Boas Práticas de Manipulação que se adeque à realidade dos pontos de venda de caldo de cana com base na RDC 275/2002.

4. CAPÍTULO 1: SUGARCANE JUICE AND WATERBORNE AND FOODBORNE DISEASES - TOTAL BACTERIAL PROFILE AND ADAPTED GOOD HANDLING PRACTICES CHECKLIST FOR POINTS OF SALE AT STREET MARKETS

O artigo científico intitulado “Sugarcane juice and waterborne and foodborne diseases - total bacterial profile and adapted good handling practices checklist for points of sale at street markets” **será submetido** à revista científica International Journal of Food Microbiology.

Sugarcane juice and waterborne and foodborne diseases - total bacterial profile and adapted good handling practices checklist for points of sale at street markets

Michelly Milles Baptista dos Santos^a, Vinícius Marins Haddad^b, Aline dos Santos Garcia-Gomes^{c*}

^a Microbiology Laboratory, Food Department, Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio de Janeiro (IFRJ), Senador Furtado Street 121/125, Zip Code 20270-021, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; michellymilles@gmail.com

^b Microbiology Laboratory, Food Department, Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio de Janeiro (IFRJ), Senador Furtado Street 121/125, Zip Code 20270-021, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; vinicius.m.haddad@gmail.com

^{c*} Microbiology Laboratory, Food Department, Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio de Janeiro (IFRJ), Senador Furtado Street 121/125, Zip Code 20270-021, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; aline.gomes@ifrj.edu.br (Corresponding author)

Abstract

Sugarcane juice is a drink traditionally consumed in Brazil, especially in tropical regions such as Rio de Janeiro. Despite being a significant source of energy and nutrients, improper handling and poor hygiene conditions during sale at street markets can result in microbiological contamination, posing a health risk to consumers. This study focused on identifying possible pathogens that could pose a risk to public health, so that we could characterize the microbiological quality of sugarcane juice sold at street markets in Rio de Janeiro city. The microbiological quality of collected samples was assessed in accordance with national regulations and total bacterial profile was evaluated with MALDI-TOF mass spectrometry identification. In addition, considering that good handling practices are essential for maintaining the microbiological safety of handled food, an evaluation and proposal of a checklist was made. *Escherichia coli* was detected in approximately 27% of the samples, with counts above the limit allowed by legislation, making them unsafe for consumption. None of the samples presented *Salmonella* spp. Concerning the total bacterial profile, several species were identified, the most frequent being: *Pantoea dispersa*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter bugandensis*, and *Klebsiella variicola*, presenting possible risks to human health. With regard to the good handling practices applied, the observations made indicate that the main flaws are in poor handling practices, including hygiene habits, waste management, storage of the end product and cleaning equipment and utensils. With the obtained results it is possible to conclude that there are serious flaws in the hygiene conditions and handling of the drink, which culminate in contamination that originates not only from the handler but also from the inadequate market environment, highlighting the urgent need for improvements in the handling and storage practices of sugarcane juice sold at street markets in order to guarantee consumer safety, since the drink proves to be a potential risk for public health.

Keywords: microbiological contamination; hygienic-sanitary conditions, consumer safety, public health.

1. Introduction

Selling food and drink on the street is a socio-economic and cultural activity that has become a source of livelihood for more and more people, especially the unemployed or those with low professional qualifications, offering an income to those who are often excluded from the formal labor market. This trade, considered informal, is widely supported by the population due to its accessibility, overlooking the fact that these places of sale often do not have adequate hygienic-sanitary conditions to guarantee the quality of the products sold, which can result in waterborne and foodborne diseases (Sezgin and Şanlıer, 2016).

The safety of food sold on the street can be compromised by different factors, including poor local infrastructure, inherent characteristics of the product itself, and vendors' lack of knowledge or non-compliance with good handling practices, increasing the risk of disease transmission (Feglo and Sakyi, 2012; Omemu, 2008; Muyanja et al., 2011).

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is one of the most valued vegetable crops globally, especially in tropical and subtropical countries (Homaida et al., 2017). The crop stands out for the variety of products that can be obtained from it, such as cellulose, paper, alcohol, yeast, xylitol, chemical products, drinkable cane juice, bio fertilizer, feed and electricity. This demonstrates the plant's versatility of use (Li and Yang, 2015). Among the many uses of sugarcane, the production of sugarcane juice stands out. The commercialization of this beverage is considered a highly profitable activity by its producers (Oliveira et al., 2006).

Sugarcane juice is widely sold in Brazil, making the country one of the main producers of the beverage in the world (Abdallah et al., 2020). The juice is obtained by grinding the sugarcane in electric or manual mills, then straining it through metal sieves and serving it with ice. It can be consumed pure or added to acidic fruit juice such as lemon (Homaida et al., 2017). Although simple, the process of preparing the drink is critical and can lead to the transfer of microorganisms, from the environment or the handler, or the multiplication of microorganisms already present in the sugarcane, into the drink. The greatest

risks of contamination of sugarcane juice occur during the milling stages and during allocation to containers for sale, due to poor hygiene of equipment, environmental or human contamination or inadequate handling conditions (Oliveira, 2006; Shah et al., 2020). In addition, sugarcane is often deposited on the ground near the mill, increasing contamination and attracting vectors and other animals, elements that can favor the occurrence of waterborne and foodborne diseases (Siregar and Khairrunas, 2021). Finally, the drink is served to consumers after it has been prepared on the streets without any kind of heat treatment or similar to reduce the microbial load (Oliveira et al., 2006).

The relatively low pH (5.0 - 5.5), combined with the high concentrations of sucrose, phenols and high water activity, provide a means and the necessary nutrients for microbial growth, making sugarcane juice susceptible to microbial deterioration, especially by lactic acid bacteria and yeasts, due to their tolerance to the low pH and high sugar content (Mukhtar, 2022).

Studies such as Silva et al., (2016) and Abdallah et al., (2016) point to contamination in sugarcane juice that is harmful to consumer health and highlight the importance of taking care to avoid such contamination. Thus, in view of the potential risk to public health, this study aims to carry out a microbiological analysis of different samples of sugarcane juice sold at street markets in the city of Rio de Janeiro, to characterize the bacteria in this drink sold in the city, and to propose improvements in storage and handling to avoid contamination.

0. Material and Methods

2.1. Sampling

A total of 30 samples, from 29 different markets in the south and north zones of the city of Rio de Janeiro, were collected for convenience between June 25th and December 11th, 2023. All the samples were collected between 10am and 12pm. The samples were collected at the point of sale in their consumer packaging, in a volume of 500 mL, and kept refrigerated until analysis at the Microbiology Laboratory of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio de Janeiro (IFRJ).

2.2 Assessing microbiological quality according to national standards

The Brazilian legislation Resolution of the Collegiate Board No. 724, of July 1st, 2022 (RDC 724), together with Normative Instruction No. 161, of July 1st, 2022, recommends the quantification of *Escherichia coli* and detection of *Salmonella* spp.

For the quantification of *E. coli* after the serial dilution process, 0.1 mL of each dilution was plated on the surface of Violet Red Bile Agar (VRBL) in duplicate. Petri dishes were incubated for 24 hours at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. After this process, typical colonies (violet-red) were counted and one was seeded in Tryptone Soy Broth (TSB) and incubated for 24 hours at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. It was then cryopreserved in sterile glycerol (40% v/v) at -20°C for subsequent identification using MALDI-TOF.

The search for *Salmonella* spp. was carried out in accordance with ABNT NBR ISO 6579-1:2021. Briefly, 25 mL of the sample was collected and transferred to 225 mL of 1% (w/v) peptone water, followed by incubation for 18 hours at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for non-selective pre-enrichment. 0.1 mL was then transferred to a tube containing 10 mL of Rappaport Vassiliadis broth and 1 mL to a tube containing 10 mL of tetrathionate broth, a stage known as selective enrichment, with incubation for 24 hours at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. This was followed by inoculation on Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar and Salmonella-Shigella (SS) agar in duplicates, with incubation for 24 hours at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. One typical colony was processed for cryopreservation as previously described.

2.3 Culturable bacteria profile from sugarcane juice

Serial dilutions of sugarcane juice were made in 1% (w/v) peptone water. After dilution, 0.1 mL of the 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} dilutions were plated on Blood Agar followed by incubation for 24 h at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. After incubation, colonies with different phenotypic characteristics were collected and seeded on Tryptone Soy Broth (TSB), incubated for 24 h at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ and then 0.4 mL of 20% (v/v)

sterile glycerol was added. The colonies were then cryopreserved as previously described.

2.4 Identification of bacterial isolates

The isolates were identified using a MALDI-TOF mass spectrometer (Microflex LT, Bruker, USA) at the Medical Microbiology Research Laboratory of the Health Sciences Center of the Federal University of Rio de Janeiro. To this end, the cryopreserved isolates were seeded on Tryptone Soy Agar (Merck) (TSA), followed by incubation for 24 h at $36 \pm 1^\circ\text{C}$. A fragment of isolated colony was collected and deposited on the surface of MALDI analysis plates with the subsequent addition of 1.0 μL of 70% (v/v) formic acid. After drying, the same volume of matrix (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) was added for crystallization. In order to identify the microorganism, each peak profile generated by the analysis was compared with a reference database, which has spectra from various registered microorganisms.

2.4. Checklist of good handling practices

The sales environment was observed, as were the production and handling of the sugarcane juice. The points of sale were recorded using digital photographs, preserving the identity of the people photographed and the points of sale. The characteristics of the points of sale at the fairs visited were compiled, allowing for the creation of a checklist based on RDC no. 275 of October 21th, 2002 (BRASIL, 2002). The aim of this legislation is to establish Standard Operating Procedures that contribute to guaranteeing the hygienic and sanitary conditions necessary for food processing/industrialization, complementing Good Manufacturing Practices.

0. Results and Discussion

Table 1 shows the days and locations where the 30 sugarcane juice samples were collected in the northern and southern zones of the city of Rio de Janeiro. Two samples were taken at the first point of sale.

Point	Date	Neighborhood	Address
1	25/06/2023 (Sunday)	Praça da Bandeira	Vicente Licínio Street
2	09/07/2023 (Sunday)	Penha	Belisário Pena Street
3	09/07/2023 (Sunday)	Penha	Macapuri Street
4	13/08/2023 (Sunday)	Cacuaia	Sargento João Lopes Street
5	14/08/2023 (Monday)	Tauá	Prof Hilarião da Rocha Street
6	20/08/2023 (Sunday)	Andaraí	Araripe Junior Street
7	20/08/2023 (Sunday)	São Cristóvão	Gal Bruce Street
8	27/08/2023 (Sunday)	Lagoa	Lineu De Paula Machado Avenue
9	27/08/2023 (Sunday)	Copacabana	Praça Serzedelo Correia Square

10	10/09/2023 (Sunday)	Urca	Tenente Gil Guilherme Square
11	10/09/2023 (Sunday)	Glória	Augusto Severo Avenue
12	12/11/2023 (Sunday)	Del Castilho	Bispo Lacerda Street
13	12/11/2023 (Sunday)	Inhaúma	Dona Emília Street
14	24/09/2023 (Sunday)	Coelho Neto	Ouseley Street
15	24/09/2023 (Sunday)	Irajá	Marques De Queluz Street
16	01/10/2023 (Sunday)	Engenho De Dentro	Afonso Ferreira Street
17	02/10/2023 (Monday)	Engenho Novo	Grão Pará Street
18	17/10/2023 (Tuesday)	Botafogo	Barão De Macaúbas Street
19	23/10/2023 (Monday)	Botafogo	Vicente De Souza Street

20	23/10/2023 (Monday)	Bonsucesso	Cardoso de Morais Street
21	07/11/2023 (Tuesday)	Tijuca	Gabriela Prado Maia Street
22	13/11/2023 (Monday)	Tijuca	Aguiar Street
23	21/11/2023 (Tuesday)	Grajaú	Mearim Street
24	21/11/2023 (Tuesday)	Vila Isabel	Jorge Rudge Street
25	28/11/2023 (Tuesday)	Méier	Galdino Pimentel Street
26	28/11/2023 (Tuesday)	Cachambi	Odorico Mendes Street
27	05/12/2023 (Tuesday)	Ipanema	Gal Osório Square
28	05/12/2023 (Tuesday)	Bonsucesso	Mal Foch Street
29	11/12/2023 (Monday)	Ipanema	Epitácio Pessoa Avenue, between Visc. De Pirajá and Nascimento Silva

Table 1: List of sample collection points. All the collection points were concentrated in markets in the south and north of the city of Rio de Janeiro.

3.1 MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SUGARCANE JUICE

The microbiological quality of the samples collected was assessed based on RDC 724/2022 and IN 161/2022 using the parameters of category 12 f ("Juices and other 'fresh' or reconstituted beverages), with a search for *Salmonella* spp. and quantification of *Escherichia coli*. Approximately 27% (6) of the samples analyzed had *Escherichia coli*, and for all the positive samples the bacterial quantity was above the limit of 1.0×10^2 CFU/mL set by Brazilian legislation, which classifies the samples as unfit for consumption. In none of the samples was it possible to identify the presence of *Salmonella* sp. (Table 2). It is interesting to consider that the methodological approach applied requires bacterial cells to grow in culture media in order to be identified. In some cases, bacteria from food samples have great difficulty growing in laboratory media, giving false negative results (Jayan et al., 2020; Jasson et al., 2010). In addition, it should be noted that many cultures on selective and differential media do not result in the expected identifications (Gill, 2017; Kim et al., 2015; Pławińska-Czarnak et al., 2021). In the present work, typical colonies were identified as completely different species and genera by mass spectrometry.

Sample	Count of suspected colonies of <i>E.coli</i> (CFU/mL)	Identification of suspect isolates <i>E.coli</i>	Suspected <i>Salmonella</i> sp.	Identification of suspect isolates <i>Salmonella</i> spp.
F8	$3,6 \times 10^5$	<i>Escherichia coli</i>	-	-
F9	$7,2 \times 10^4$	<i>Escherichia coli</i>	-	-
F10	$>3,0 \times 10^6$	<i>Escherichia coli</i>	Presence	<i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Citrobacter freundii</i>
F11	$>3,0 \times 10^6$	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-
F12	$5,55 \times 10^4$	<i>Escherichia coli</i>	-	-
F13	$8,9 \times 10^4$	<i>Enterobacter bugandensis</i>	-	-
F14	$8,5 \times 10^3$	<i>Escherichia coli</i>	Presence	<i>Escherichia coli</i>
F15	$5,6 \times 10^4$	Não identificada	-	-
F16	$8,95 \times 10^4$	<i>Klebsiella variicola</i>	-	-
F17	$8,1 \times 10^3$	<i>Enterobacter bugandensis</i>	-	-
F18	$3,15 \times 10^5$	<i>Escherichia coli</i>	Presence	<i>Enterobacter kobei</i>

F19	6,5×10 ⁵	<i>Not identified</i>	Presence	<i>Enterobacter kobei</i>
F20	3,2×10 ⁴	<i>Pantoea anthophila</i>	-	-
F21	3,3×10 ⁴	<i>Pantoea dispersa</i>	Presence	<i>Not identified</i>
F22	8,1×10 ⁵	<i>Pantoea ananatis</i>	Presence	<i>Enterobacter kobei</i>
F23	5,05×10 ⁴	<i>Acinetobacter junii</i>	Presence	<i>Escherichia coli</i>
F24	1,65×10 ⁴	<i>Pantoea dispersa</i>	-	-
F25	4,05×10 ⁴	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-
F26	1,18×10 ⁵	<i>Pantoea ananatis</i>	Presence	<i>Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter roggenkampii</i>
F27	5,8×10 ⁴	<i>Enterobacter bugandensis</i>	-	-
F28	1,495×10 ⁵	<i>Enterobacter kobei</i>	-	-
F29	5,55×10 ⁴	<i>Enterobacter sp.</i>	Presence	<i>Enterobacter hormaechei, Enterobacter kobei</i>

Table 2: Quantification and identification of suspected colonies of *E. coli* and *Salmonella* spp. Identification was carried out by MALDI-TOF using isolated colonies from selective and differential media.

According to the 2024 Outbreaks of Waterborne and Foodborne Diseases report, *E.coli* is the etiologic agent responsible for 34.8% of AWD outbreaks in Brazil. In addition, studies such as Khan et al. (2022) and Ameer et al. (2023) point to the importance of *E. coli* in AWDs, linking the microorganism to outbreaks of diarrhea in children under five, as well as abdominal pain, bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome, which in extreme cases can lead to death. Pathogenic *E. coli* can usually be found in soil as a result of contamination by animal feces (McAuley et al., 2014).

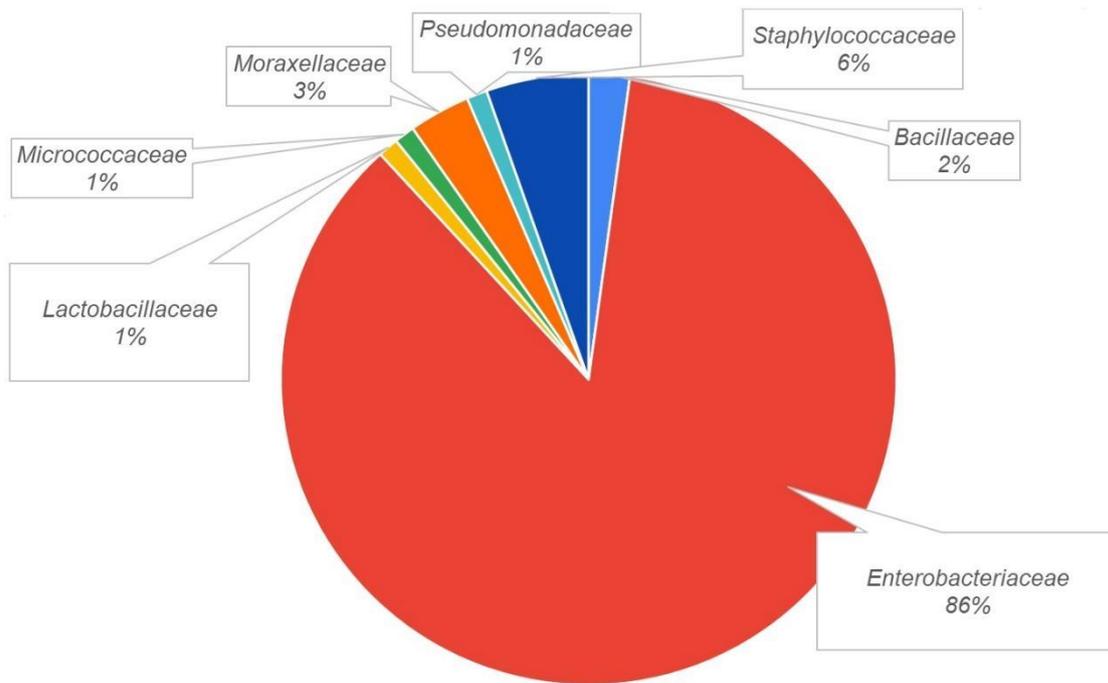
In addition to *E.coli*, *Salmonella* sp. also stands out, causing 9.6% of AWD outbreaks in Brazil. Although *Salmonella* sp. infections are usually self-limiting, they can be life-threatening to vulnerable patients such as infants or the elderly (Sodagari et al., 2020), as well as being associated with an increased risk of developing colon cancer after a severe infection (Mughini-Grass et al., 2018).

It is worth noting that although the other samples complied with current legislation, many had pathogenic microorganisms such as the *Enterobacter* genus, which was present in approximately 45.5% (10) of the samples analyzed. Species of this genus, despite being commonly found in the intestinal microbiota of animals, including humans, are considered opportunistic pathogens and can cause different types of infections such as bacteremia, respiratory tract infection, urinary tract infection and intra-abdominal infections (Mezzatesta et al., 2012; Davin-Regli and Pagès, 2015; Rodríguez-Baño et al., 2018; Lee et al., 2017). Studies such as that by Pati et al. (2018) show that the *E. bugandensis* species, found in approximately 13.6% (3) of the samples analyzed, is highly virulent and possibly the most pathogenic species in the genus. Its antibiotic resistance genes are located in a highly transmissible plasmid and it has efficient ways of staying alive inside the host's body, making it difficult to fight its infection.

3.2 TOTAL BACTERIAL PROFILE OF SUGARCANE JUICE

The bacterial isolates obtained were classified into 7 families: Bacillaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Micrococcaceae, Moraxellaceae, Pseudomonadaceae and Staphylococcaceae (Figure 1).

Figure 1: Distribution of sugarcane juice isolates by family.

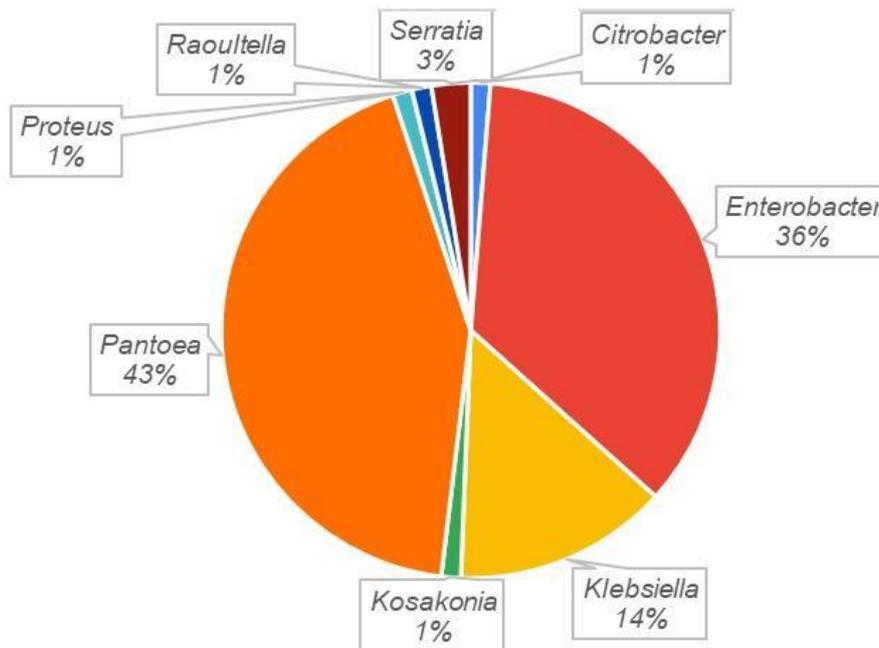


The predominant family was *Enterobacteriaceae*, representing 86% of the isolates. This high prevalence indicates a high risk to food safety, since this family has a large number of potentially pathogenic species.

The *Enterobacteriaceae* family is an extensive and diverse group of Gram-negative, facultatively anaerobic, non-sporulating, rod-shaped bacteria. These bacteria occupy a variety of habitats, such as soil, water and living organisms such as plants, insects, animals and humans. Many members of this family are known for their pathogenic potential in humans and animals, including species such as *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Yersinia pestis* (Adeout et al., 2016).

The genera most commonly found in the samples collected from sugarcane juice, within the *Enterobacteriaceae* family, were *Pantoea*, *Enterobacter* and *Klebsiella* (Figure 2).

Figure 2: Genera of the *Enterobacteriaceae* family found in the sugarcane juice samples collected.



The genus *Pantoea* is a diverse group of Gram-negative rod-shaped bacteria. Originally recognized as plant pathogens, responsible for symptoms such as galls, wilt, soft rot and necrosis in various agricultural crops, *Pantoea* strains are also frequently found in a wide range of aquatic and terrestrial environments, as well as being associated with insects, animals and the microbiota of humans (Walterson & Stavrinides, 2015). Of the isolated analyzed from the *Pantoea* genus, 70% (24) were *Pantoea dispersa*. This species is present in a wide variety of natural environments, such as soil and plants. It is famous for its resistance to a variety of extreme environments, such as places with high salt concentrations and high temperatures. The results of the study by Ramaswami, Duchenne-Moutien, Ramgutti, Suharye & Neetoo (2021) clearly indicate the wide distribution and prevalence of *Pantoea dispersa* in commercially available dried foods in Mauritius. In total, 35% of food samples tested positive for *P. dispersa*, with a prevalence of 100% in wheat flour. The ubiquitous presence of *P. dispersa* in the food supply makes it an emerging pathogen that may be of concern. In humans, the species has been reported in association with acute myeloid leukemia, multiple myeloma and neonatal sepsis. Therefore, caution should be exercised when handling low-moisture foods in neonatal care units, healthcare settings and nursing homes. In humans, the species has been reported in association with acute myeloid leukemia, multiple myeloma and

neonatal sepsis. However, the clinical aspects of the infections caused are still poorly understood due to the limited number of documented cases (Mehar et al., 2013; Preis et al., 2022; Schmid et al., 2003, Yang; Yi; Xia, 2023).

Of the analyzed samples of the *Klebsiella* genus, 64% were *Klebsiella variicola*, a species commonly found in agricultural sources, including plants, surface water, sewage, soil and mucous membranes of herbivorous animals (Long et al, 2017). It is a Gram-negative rod-shaped bacterium, facultative aerobic, without the ability to move, which occurs at temperatures ranging from 11 to 41°C (Lin et al., 2015). Cases of *K. variicola* infection have been reported in people in various parts of the world, such as a bloodstream infection in Stockholm (Maatallah et al. , 2014) and a fatal sepsis in Japan (Seki et al., 2013). The results of the study by Zurfluh, Poirel, Nordmann, Klumpp and Stephan (2015) indicate that the production and international trade of fresh vegetables could be a potential route for the spread of carbapenemase-producing *Klebsiella variicola*. The presence of carbapenemase-producing organisms in the food supply and in ready-to-eat foods is worrying and represents a challenge for food safety.

The *Klebsiella aerogenes* microorganism was detected in 18% of the sugarcane juice isolates analyzed. The *K. aerogenes* T124 strain was identified in pindang, a salty Indonesian boiled fish. This traditional dish, popular in Indonesia, is made with fish from the Scombroid family, such as tuna and mackerel, and has great economic and social value, especially for the country's coastal communities. However, pindang is one of the main causes of histamine poisoning in fish, and *K. aerogenes* T124 is an isolate noted for its high production of histamine in this food (Rachmawati, Powell, Triwibowo, Nichols, Ross & Tamplin, 2022).

The *Klebsiella pneumoniae* microorganism was found in 9% of the sugarcane juice isolates analyzed. This is an opportunistic bacterium present in various microbiological environments, such as soil, skin, intestines and feces of mammals, as well as food. *K. pneumoniae* has been documented as a cause of bacteremia, pneumonia and urinary tract infection (Karlowsky, Jones, Thornsberry, Friedland & Sahm, 2003, Siu, Fung, Chang, Lee, Yeh, Koh & Ip, 2011). Gastrointestinal carriage of *K. pneumoniae* is considered a predisposing

factor for the development of liver abscess (Fung, Lin, Chen, Yeh, Chang, Chuang, Wu, Tseng & Siu, 2012). Although *K. pneumoniae* is more frequently associated with hospital-acquired infections, food has also been identified as a possible vector of transmission (Calbo, Freixas, Xercavins, Riera, Nicolás, Monistrol, Solé Mdel, Sala, Vila & Garau, 2011). *K. pneumoniae* has been isolated from raw meat (Davis, Waits, Nordstrom, Weaver, Aziz, Gauld, Grande, Bigler, Horwinski, Porter, Stegger, Johnson, Liu & Price, 2015; Guo, Zhou, Qin, Pang, Qin, Ren, Pan & Zhou, 2016; Kim, Wei, Tzou & Na, 2005; Wu, Liu, Liu, Pan, Yuan & Hu, 2012), raw vegetables (Falomir, Rico & Gozalbo, 2013; Puspanadan, Afsah-Hejri, Loo, Nillian, Kuan, Goh, Chang, Lye, John, Rukayadi, Yoshitsugu, Nishibuchi & Son, 2012), fruit juice (Ghenghesh, Belhaj, El-Amin, El-Nefathi & Zalmum, 2004) and ready-to-eat foods (Haryani, Noorzaleha, Fatimah, Noorjahan, Patrick, Shamsinar, Laila & Son, 2007; Sabota, Hoppes, Ziegler, DuPont, Mathewson & Rutecki, 1998). Several studies on *K. pneumoniae* in food have also highlighted its worrying antibiotic resistance, with some reporting the presence of foodborne strains that are resistant to three or more classes of antibiotics (multidrug resistance) (Guo, Zhou, Qin, Pang, Qin, Ren, Pan & Zhou, 2016; Haryani, Noorzaleha, Fatimah, Noorjahan, Patrick, Shamsinar, Laila & Son, 2007; Puspanadan, Afsah-Hejri, Loo, Nillian, Kuan, Goh, Chang, Lye, John, Rukayadi, Yoshitsugu, Nishibuchi & Son, 2012).

To a lesser extent, isolates from the *Staphylococcaceae* (6%), *Moraxellaceae* (3%), *Bacillaceae* (2%), *Lactobacillaceae* (1%), *Micrococcaceae* (1%) and *Pseudomonadaceae* (1%) families were found. Each of these bacterial families has species with specific clinical implications.

Members of the *Staphylococcaceae* family are Gram-positive bacteria that do not form spores, are spherical in shape and vary in size from 0.5 to 2.5 µm. They are non-motile and tend to group together in arrangements similar to bunches of grapes. They are facultative anaerobes, generally positive for the enzyme catalase, growing at temperatures between 18 - 40 °C. The most abundant genus in this family is *Staphylococcus*, which includes 55 species and 23 validly described subspecies (Lorys, 2014; Schleifer et al, 2009). This family includes the pathogen *Staphylococcus epidermidis*, found in 40% of the samples collected from sugarcane juice. This species can often be found on the skin of

humans, especially on the skin of the armpit, nostrils and head. It is also frequently isolated from environmental sources, such as soil and natural water, as well as a variety of food products, including meat and dairy products. However, it can cause a number of clinical infections and, if incorrectly diagnosed, can lead to more serious cases such as sepsis and septic shock, with a high mortality rate, and is recognized as one of the main causes of hospital-acquired infections in high-risk patients, such as bloodstream infections associated with catheters and infections associated with implants, such as cardiac devices. This microorganism also can form biofilms. Biofilms adhered to the surfaces of food processing equipment can compromise efficiency, increase resistance to antimicrobials and cause contamination, reducing the shelf life of products and increasing the risk of illness. In the dairy industry, *S. epidermidis* biofilms are of particular concern due to their resistance to heat and CIP processes, representing a constant source of contamination. Enterotoxin production by *S. epidermidis* is a significant risk to food safety. The study by Podkowik, Bystroń & Bania (2012) showed that ready-to-eat products are a relevant source of antibiotic-resistant and potentially virulent strains of *S. epidermidis* (Rupp, 2014; Skovdal, Jorgensen & Meyer, 2022; The Human Microbiome Project Consortium, 2012; Morot-Bizot, Talon, & Leroy, 2010; Podkowik, Seo, Schubert, Tolo, Robinson, Bania & Bystroń, 2016; Soares, Marques, Tavarina, Pereira, Malcata, & Pintado, 2011; Cappitelli, Polo & Villa, 2014; Zou & Liu, 2018).

The microorganism *Staphylococcus saprophyticus* was found in 20% of the sugarcane juice isolates analyzed. This bacterium usually colonizes humans and is found in the gastrointestinal tract, vagina and perineum. It also forms part of the intestinal and rectal flora of animals such as pigs and cattle, and is a frequent contaminant in meat and fermented foods (Becker, Heilmann & Peters, 2014; Rupp, Soper & Archer, 1992). *S. saprophyticus* is responsible for 10% to 20% of uncomplicated urinary tract infections in young women. Due to frequent bacterial contamination along the processing chain, it is believed that meat and other foods can be sources of intestinal colonization and human infection by *S. saprophyticus* (Becker, Heilmann & Peters, 2014; Hedman, Ringertz, Eriksson, Kvarnfors, Andersson, Bengtsson & Olsson, 1990).

The microorganism *Staphylococcus sciuri* was also found in 20% of the

sugarcane juice isolates analyzed. This bacterium is commonly found in various food products of animal origin, such as meat, meat products, milk and dairy products (Gilmour and Harvey, 1990; O'Halloran, Bockelmann, & O'Cuinn, 1998; Rebecchi, Crivori, Sarra, & Cocconcelli, 1998; Vilar, Garcia Fontan, Prieto, Tornadijo, & Carballo, 2000; Papamanoli, Kotzekidou, Tzanetakis & Litopoulou-Tzanetaki, 2002), as well as being detected in food processing facilities (Sommer, Martin-Rouas, & Mettler, 1999). Considering the high biofilm-forming capacity of *S. sciuri* (Stepanovic, Dakic, Opavski, Jezek & Ranin, 2003), it is important to note that Valle, Gomez-Lucia, Piriz, Goyache, Orden, & Vadillo (1990) found that 20% of the *S. sciuri* strains tested produce enterotoxins and exoproteins which, when consumed by humans, can cause symptoms of acute gastroenteritis.

The *Bacillaceae* family, although to a lesser extent, also requires attention. The most striking feature of most members of this family is their ability to form endospores, which confer high resistance to heat, radiation, chemicals and drought, allowing them to survive in adverse conditions for long periods. *Bacillaceae* are widely distributed in natural environments, such as in soil, sediment, air, marine and freshwater ecosystems, activated sludge and in various foods, including fermented foods (Mandic-Mulec; Stefanic; Van Elsas, 2016).

The results of the bacterial profiling of sugarcane juice highlight the need for improvements in hygiene and processing practices to ensure the safety of the final product. The high prevalence of Enterobacteriaceae is particularly worrying and should be addressed with strict quality control measures. The presence of other bacterial families, albeit in smaller quantities, also indicates multiple sources of contamination, including the environment, soil, water and human handling, which need to be controlled. Implementing good manufacturing practices, effective sanitization and regular monitoring are essential steps to ensure the safety of sugarcane juice for consumers.

Hygiene and food safety considerations indicate that the bacterial diversity observed may be the result of cross-contamination during the harvesting, processing and distribution of sugarcane juice, making it crucial to implement strict hygiene measures to minimize this contamination. The treatment of sugarcane juice should include effective sanitization steps to reduce the bacterial load, and methods such as pasteurization can be considered to eliminate

potential pathogens. Regular microbiological analysis is essential to monitor the quality of sugarcane juice and ensure that it is safe for consumption, and strict quality control protocols are required. In addition, proper training of workers involved in the handling and processing of sugarcane juice is essential to ensure good hygiene practices and reduce the risks of contamination.

3.3 GOOD HANDLING PRACTICES CHECKLIST

The new checklist proposed took into account the observations and the relevance and/or suitability of the items on the list in the Brazilian legislation, since the checklist in this resolution is extensive and consists of a large number of items that would not be appropriate to assess at a street market. In the Brazilian legislation there were 5 categories and 37 subcategories, with a total of 172 items to be analyzed. Based on the visual analysis carried out and considering that there is a pattern in sales environments, the checklist was adapted to the reality of the sales environment studied, resulting in 4 categories and 12 subcategories, with a total of 28 items to be analyzed. Some of the subcategories removed from the new checklist refer to the structure of the premises, such as: ceilings, walls and partitions, doors, windows and other openings, staircases, service elevators, elevator trucks and auxiliary structures, lighting and electrical installation, among others. The category that was removed was that relating to documentation, which is not possible to check at a street market.

Therefore, the proposed checklist includes 4 main categories, each with subcategories with the items to be assessed, focusing on the hygiene and health conditions of each market, totaling 28 items, as shown in Table 3.

1. FACILITIES

1.1 OUTDOOR AREA:

1.1.1 The outside area must be clean and free of disused objects, vectors, dust, garbage, stagnant water and other sources of insalubrity.

1.1.2 Internal access routes must be paved, passable, well-drained and clean.

1.2 FLOORS:

1.2.1 Smooth, resistant, waterproof and drained material for easy cleaning.

1.2.2 In good condition, with no defects, cracks, crevices or holes.

1.3 VENTILATION AND AIR CONDITIONING:

1.3.1 Ventilation that guarantees thermal comfort and an environment free of fungi, gases, smoke, dust and vapors.

1.4 INTEGRATED VECTOR AND URBAN PEST CONTROL:

1.4.1 Absence of vectors, urban pests and signs of their presence, such as feces and nests.

1.4.2 Measures to prevent and correct the attraction, harboring, access and proliferation of vectors and urban pests.

1.5 WASTE MANAGEMENT:

1.5.1 Internal waste containers must be clean, identified and use suitable bags; where necessary, they must have a lid without manual operation.

1.5.2 Frequent removal of waste from the processing area to avoid contamination.

1.5.3 A suitable area for storing waste.

2. EQUIPMENT, FURNITURE AND UTENSILS

2.1 EQUIPMENT:

2.1.1 Arranged to allow easy access and proper sanitization.

2.1.2 Surfaces in contact with food must be smooth, intact, impermeable, resistant to corrosion, easy to clean and non-contaminating.

2.1.3 In an adequate state of repair and operation.

2.1.4 Food preservation and processing equipment must have functional thermometers in appropriate places.

2.2 FURNITURE: (tables, benches, display cases, shelves)

2.2.1 Sufficient, suitable, sturdy, impermeable containers in a good state of repair, with intact surfaces.

2.2.2 Containers with a design that makes them easy to clean, smooth and without any roughness or gaps.

2.3 UTENSILS:

2.3.1 Non-contaminating, corrosion-resistant and easy-to-clean containers, in sufficient numbers and suitable for the operation.

2.3.2 Stored in an appropriate place, organized and protected from contamination.

3. HANDLING

3.1 CLOTHING:

3.1.1 Wear a light-colored work uniform, suitable for the activity and exclusively for the production area.

3.1.2 Clean and in an appropriate state of repair.

3.1.3 Personal grooming includes good presentation, clean body, unadorned hands, short nails, clean-shaven handlers and protected hair.

3.2 HYGIENE HABITS:

3.2.1 Wash hands thoroughly before handling food, especially after interruptions and after using toilets.

3.2.2 Handlers should avoid sneezing, coughing, smoking, handling money or other actions that could contaminate food.

3.2.3 Posters advising on hand washing and hygiene habits should be in appropriate places for handlers.

4. FOOD PRODUCTION AND TRANSPORTATION

4.1 RAW MATERIALS, INGREDIENTS AND PACKAGING:

4.1.1 Organized and appropriate storage on clean pallets or pallets, away from walls and ceilings to facilitate hygiene, lighting and air circulation.

4.1.2 Suitable packaging for use.

4.2 STORAGE OF THE FINAL PRODUCT:

4.2.1 Final product packed in suitable, intact packaging.

4.2.2 No foreign, damaged or toxic material.

Table 3: Categories and items assessed in the Check List.

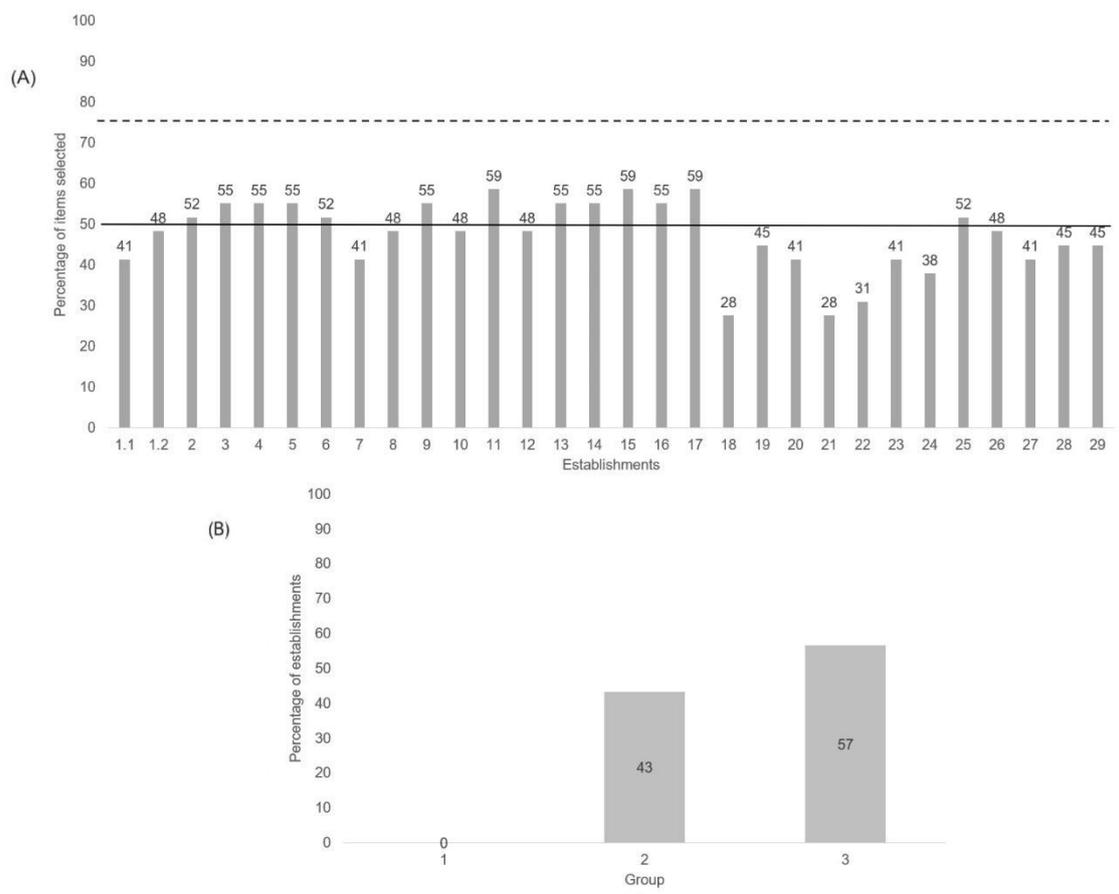
According to Brazilian regulation RDC No. 275/2002, the establishment can be classified according to the number of items that have been met in the checklist (Table 4).

Classification by Group	Percentage of items met
Group 1	76 to 100%
Group 2	51 to 75%
Group 3	0 to 50%

Table 4: Classification of the establishment according to the percentage of compliance with the items in ANVISA's RDC 275/2002.

After applying the checklist to the 30 sugarcane juice stalls, none met category 1, 13 fell into category 2 and 17 into category 3 (Figure 3).

Figure 3 - Adequacy of stalls selling sugarcane juice at street markets in the city of Rio de Janeiro. Percentage of adequacy of the points assessed by the checklist (A) and classification of the points of sale into 3 groups (B). In graph A, the groups are defined by the horizontal lines, with group 3 delimited by the solid line, group two between the solid and dotted lines and group 1 above the dotted line.



Considering that the new checklist can also be used to classify points of sale according to current Brazilian legislation, 57% of the market traders fell into Group 3, with 0-50% of the items met, 43% of the traders fell into Group 2, with 51-75% of the items met and none (0%) of the traders fell into Group 1, with 76-100% of the items met. The result indicates a worrying number of establishments that do not even meet the minimum required to guarantee the safety of the food served, with a low level of compliance with the health requirements established by RDC 275/2002, representing a significant risk to guaranteeing food quality. In addition, 45% of the marketers are in Group 2, meeting between 51 and 75% of the items on the checklist. This shows that almost half of the establishments have

an intermediate level of compliance, meeting more than half of the items, but there is still considerable room for improvement.

The fact that 57% of the traders fall into Group 3 (0-50% compliance with the items on the Good Manufacturing Practices checklist) shows that more than half of the traders assessed are working with a significant level of non-compliance in relation to hygiene and food safety standards. This classification indicates a number of shortcomings and inadequate practices that could pose a risk to public health, such as a significant increase in the incidence of water and food transmitted diseases among consumers. Among the most critical items on the checklist were: the handlers' lack of hygiene habits (there is no frequent hand sanitizing, many handle money and the product at the same time), clothing (uniforms were often dirty, they wore adornments such as earrings and rings, handlers had beards and no protection for their hair), failure to sanitize raw materials, failure to handle waste correctly, attracting vectors and pests, failure to clean equipment frequently and inadequate storage containers. These precarious hygienic-sanitary conditions bring pathogenic microorganisms into the sugarcane juice, as previously seen in the total bacterial profile, as well as making some samples unsuitable for consumption in relation to current microbiological legislation.

A study was carried out in Sete Lagoas, Minas Gerais, on the presence of foreign matter and the physicochemical evaluation of sugarcane juice, which also used a checklist to verify the hygiene conditions at points of sale. Of the 21 samples of fresh sugarcane juice collected, 61.9% contained foreign matter, indicating shortcomings in good practices, while 14.3% presented risks to human health. Only 23.8% of the samples were considered fit for consumption. The main flaws observed included the exposure of sugarcane to vectors, the lack of protection for handlers' hair, the contact of handlers' clothing with the raw material and the incorrect disposal of solid waste generated during processing (Rodrigues, et al., 2019).

In the study by Simionato and Mafei (2017) in Bauru/SP, a checklist was also applied to verify Good Handling Practices procedures. It was observed that 90% of the workers were men who worked alone and handled food and money at the same time. Only 15% wore gloves and 80% did not dispose waste properly,

which increased the presence of insects such as bees. The water supply at the points of sale was mainly made by gallons (90%), which had an unsatisfactory hygienic aspect.

De Sousa, da Silva and Costa (2019) carried out a hygienic and sanitary assessment of the points of sale of sugarcane juice in the municipality of São Luís - MA by applying a checklist. The conditions in which sugarcane juice was sold were considered unsuitable, as the majority of vendors (80%) did not wear gloves or aprons, had adornments on their hands (ring, watch, bracelet, etc.), handled money with the same hand that delivered the drink, did not sanitize their hands, and one of them had large nails. This demonstrates the lack of minimum hygiene care on the part of the handlers. As for the places of sale, the majority (80%) operated in the presence of domestic animals and insects, attracted by the exposed sugarcane bagasse. In addition, the presence of sewage was observed near some of the outlets.

The precarious conditions at the point of sale and processing of the drink are not a problem exclusive to the municipality of Rio de Janeiro. Studies in other regions of Brazil have also revealed a lack of minimum hygiene care on the part of the drink's handlers. The low quality of sugarcane juice is linked to the inadequate storage of the raw material and irregular processing during its manufacture.

4. Conclusions

Based on the data presented, it can be concluded that despite the legislation in force, the city of Rio de Janeiro sells sugarcane juice that does not meet the minimum standards of quality and safety for consumers. This is a reflection of the precarious conditions of the points of sale. Even when the samples analyzed according to current legislation are suitable for consumption, they can still present risks to the health of the population due to the presence of potential pathogens that are not evaluated by the legislation but which accompany the drink, either because they originate in the plant or in the place where it is stored. Identifying the total bacterial profile provides essential guidance

for effective preventive measures and continuous improvement of safety in this context. With regard to good practices, the application of the checklist reveals the need to improve the hygiene and health conditions of the points of sale. The majority are at a worrying level of compliance (Group 3), with a considerable portion at an intermediate level (Group 2) and none at the desired level of high compliance (Group 1). Targeted interventions, including education, enforcement, technical support and possibly financial incentives, will be essential to raise standards and ensure the safety of the beverages sold at street markets.

Acknowledgements

The authors thank the Federal Institute of Rio de Janeiro for providing funding and the Federal University of Rio de Janeiro for providing the MALDI-TOF MS (Microflex LT, Bruker, United States) system.

0. References

- Abdallah, M. F., Audenaert, K., Lust, L., Landschoot, S., Bekaert, B., Haesaert, G., De Boevre, M., & De Saeger, S. 2020. Risk characterization and quantification of mycotoxins and their producing fungi in sugarcane juice: A neglected problem in a widely-consumed traditional beverage. *Food Control*, 108, 106811. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106811>
- Abdallah, M., Krska, R., & Sulyok, M. 2016. Mycotoxin contamination in sugarcane grass and juice: First report on detection of multiple mycotoxins and exposure assessment for aflatoxins B1 and G1 in humans. *Toxins*, 8(11), 343. <https://doi.org/10.3390/toxins8110343>
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. 2016. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(12), 5575-5599.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870-926.
- BRASIL. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2024. Ministério da Saúde. Março de 2024.
- Calbo, E., N. Freixas, M. Xercavins, M. Riera, C. Nicolás, O. Monistrol, M. Solé Mdel, M. R. Sala, J. Vila, and J. Garau. 2011. Foodborne nosocomial outbreak of SHV1 and CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and control. *Clin. Infect. Dis.* 52(6):743–749.
- Cappitelli, F., Polo, A., & Villa, F. 2014. Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. *Food Engineering Reviews*, 6, 29-42.

Ceyhun Sezgin, A., & Şanlıer, N., 2016. Street food consumption in terms of the food safety and health. *Journal of Human Sciences*, 13(3), 4072–4083.

Davin-Regli, A., & Pagès, J. 2015. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>

Davis, G. S., K. Waits, L. Nordstrom, B. Weaver, M. Aziz, L. Gauld, H. Grande, R. Bigler, J. Horwinski, S. Porter, M. Stegger, J. R. Johnson, C. M. Liu, and L. B. Price. 2015. Intermingled *Klebsiella pneumoniae* populations between retail meats and human urinary tract infections. *Clin. Infect. Dis.* 61(6):892–899.

de Sousa, C. B., da Silva, A. D. S., & Costa, F. N. 2019. Avaliação higienicossanitária do caldo de cana comercializado no município de São Luís-MA. *Revista Interdisciplinar*, 12(2), 68-75.

Falomir, M. P., H. Rico, and D. Gozalbo. 2013. *Enterobacter* and *Klebsiella* species isolated from fresh vegetables marketed in Valencia (Spain) and their clinically relevant resistances to chemotherapeutic agents. *Foodborne Pathog. Dis.* 10:1002–1007.

Feglo, P., & Sakyi, K., 2012. Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 1(1), 1–8. <https://www.ajol.info/index.php/jmbs/article/download/77101/67563>

Fung, C. P., Y. T. Lin, J. C. Lin, T. L. Chen, K. M. Yeh, F. Y. Chang, H. C. Chuang, H. S. Wu, C. P. Tseng, and L. K. Siu. 2012. *Klebsiella pneumoniae* in gastrointestinal tract and pyogenic liver abscess. *Emerg. Infect. Dis.* 18(8):1322–1325.

Gill, A. 2017. The importance of bacterial culture to food Microbiology in the Age of Genomics. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00777>

Gilmour A., Harvey J. 1990. Staphylococci in milk and milk products. *J. Appl. Bacteriol.*, 69 (Symposium suppl 19): 147S-166S.

Ghenghesh, K. S., K. Belhaj, W. B. El-Amin, S. E. El-Nefathi, and A. Zalmum. 2004. Microbiological quality of fruit juices sold in TripoliLibya. *Food Control* 16(10):855–858.

Guo, Y., H. Zhou, L. Qin, Z. Pang, T. Qin, H. Ren, Z. Pan, and J. Zhou. 2016. Frequency, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* in food samples. *PLoS ONE* 11(4):e0153561.

Haryani, Y., A. S. Noorzaleha, A. B. Fatimah, B. A. Noorjahan, G. B. Patrick, A. T. Shamsinar, R. A. S. Laila, and R. Son. 2007. Incidence of *Klebsiella pneumoniae* in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling, and RAPD-PCR analysis. *Food Control* 18: 847–853.

Hedman, P., Ringertz, O., Eriksson, B., Kvarnfors, P., Andersson, M., Bengtsson, L., & Olsson, K. 1990. *Staphylococcus saprophyticus* found to be a common contaminant of food. *Journal of Infection*, 21(1), 11-19.

Homaida, M. A., Yan, S., & Yang, H. 2017. Effects of ethanol treatment on inhibiting fresh-cut sugarcane enzymatic browning and microbial growth.

Jasson, V., Jacxsens, L., Luning, P., Rajkovic, A., & Uyttendaele, M. 2010. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. *Food Microbiology*, 27(6), 710–730. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.04.008>

Jayan, H., Pu, H., & Sun, D. 2020. Recent development in rapid detection techniques for microorganism activities in food matrices using bio-recognition: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 95, 233–246. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.007>

Karlowsky, J. A., M. E. Jones, C. Thornsberry, I. R. Friedland, and D. F. Sahn. 2003. Trends in antimicrobial susceptibilities among Enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients in the United States from 1998 to 2001. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:1672–1680.

Kim, S. H., C. I. Wei, Y. M. Tzou, and H. An. 2005. Multidrugresistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from farm environments and retail products in Oklahoma. *J. Food Prot.* 68(10):2022–2029.

Kim, H., Kim, Y., Chon, J., Kim, D., Kim, K., & Seo, K. 2015. *Citrobacter braakii*: A Major Cause of False-Positive Results on MacConkey and Levine's Eosin Methylene Blue Selective Agars Used for the Isolation of *Escherichia Coli* from Fresh Vegetable Samples. *Journal of Food Safety*, 36(1), 33–37. <https://doi.org/10.1111/jfs.12210>

Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology, 77, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.063>

Lin, L., Wei, C., Chen, M., Wang, H., Li, Y., Li, Y., Yang, L. & An, Q. 2015. Complete genome sequence of endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E. *Standards in genomic sciences*, 10, 1-7.

Li, Y., & Yang, L. 2014. Sugarcane agriculture and sugar industry in China. *Sugar Tech/Sugar Tech*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12355-014-0342-1>

Long, S. W., Linson, S. E., Ojeda Saavedra, M., Cantu, C., Davis, J. J., Brettin, T., & Olsen, R. J. 2017. Whole-genome sequencing of human clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates reveals misidentification and misunderstandings of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*. *Msphere*, 2(4), 10-1128.

Lory S. The family Staphylococcaceae. 2014. In Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F. (editors) *The Prokaryotes: Firmicutes and Tenericutes* 573, 4th ed. Springer Reference.

Maatallah, M., Vading, M., Kabir, M. H., Bakhrouf, A., Kalin, M., Naucner, P., Brisse, S. & Giske, C. G. 2014. *Klebsiella variicola* is a frequent cause of bloodstream infection in the Stockholm area, and associated with higher mortality compared to *K. pneumoniae*. *PloS one*, 9(11), e113539.

Mandic-Mulec, Ines; Stefanic, Polonca; van Elsas, Jan Dirk. 2016. Ecology of bacillaceae. *The bacterial spore: From molecules to systems*, p. 59-85.

McAuley, C. M., McMillan, K., Moore, S. C., Fegan, N., & Fox, E. M. 2014. Prevalence and characterization of foodborne pathogens from Australian dairy farm environments. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7402–7412. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8735>

Mehar, V., Yadav, D., Sanghvi, J., Gupta, N., & Singh, K. 2013. *Pantoea dispersa*: an unusual cause of neonatal sepsis. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17, 726-728.

Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. 2012. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(7), 887–902. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.61>

Morot-Bizot, S. C., Talon, R., & Leroy, S. 2010. Development of a multiplex PCR for the identification of *Staphylococcus* genus and four staphylococcal species isolated from food. *Journal of Applied Microbiology*, 97(5), 1087-1094.

Mukhtar, K., Nabi, B. G., Arshad, R. N., Roobab, U., Yaseen, B., Ranjha, M. M. a. N., Aadil, R. M., & Ibrahim, S. A. 2022. Potential impact of ultrasound, pulsed electric field, high-pressure processing and microfluidization against thermal treatments preservation regarding sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106194. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106194>

Mughini-Gras, L., Schaapveld, M., Kramers, J., Mooij, S., Neefjes-Borst, E. A., Van Pelt, W., & Neefjes, J. 2018. Increased colon cancer risk after severe *Salmonella* infection. *PLoS One*, 13(1), e0189721. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189721>

Muyanja, C., Nayiga, L., Brenda, N., & Nasinyama, G. 2011. Practices, knowledge and risk factors of street food vendors in Uganda. *Food Control*, 22(10), 1551–1558. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.016>

O'Halloran, R. U. T. H., Bockelmann, W. I. L. H. E. L. M., & O'Cuinn, G. E. R. A. R. D. 1998. Purification of an extracellular proteinase from *Staphylococcus sciuri* found on the surface of Tilsit cheese.

Oliveira, A. C. G., Seixas, A. S. S., Sousa, C. P., & Souza, C. W. O. 2006. Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. *Cadernos De Saúde Pública*, 22(5), 1111–1114. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2006000500024>

Omemu, A., & Aderoju, S. 2008. Food safety knowledge and practices of street food vendors in the city of Abeokuta, Nigeria. *Food Control*, 19(4), 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.04.021>

Papamanoli, E., Kotzekidou, P., Tzanetakis, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. 2002. Characterization of Micrococcaceae isolated from dry fermented sausage. *Food Microbiology*, 19(5), 441-449.

Pati, N. B., Doijad, S. P., Schultze, T., Mannala, G. K., Yao, Y., Jaiswal, S., Ryan, D., Suar, M., Gwozdzinski, K., Bunk, B., Mraheil, M. A., Marahiel, M. A., Hegemann, J. D., Spröer, C., Goesmann, A., Falgenhauer, L., Hain, T., Imirzalioglu, C., Mshana, S. Overmann, J & Chakraborty, T. 2018. *Enterobacter bugandensis*: a novel enterobacterial species associated with severe clinical infection. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23069-z>

Plawińska-Czarnak, J., Wódcz, K., Kizerwetter-Świda, M., Nowak, T., Bogdan, J., Kwieciński, P., Kwieciński, A., & Anusz, K. 2021. *Citrobacter braakii* Yield False-Positive Identification as *Salmonella*, a Note of Caution. *Foods*, 10(9), 2177. <https://doi.org/10.3390/foods10092177>

Podkowik, M., Bystroń, J., & Bania, J. 2012. Genotypes, antibiotic resistance, and virulence factors of staphylococci from ready-to-eat food. *Foodborne pathogens and disease*, 9(1), 91-93.

Podkowik, M., Seo, K. S., Schubert, J., Tolo, I., Robinson, D. A., Bania, J., & Bystroń, J. 2016. Genotype and enterotoxigenicity of *Staphylococcus epidermidis* isolate from ready to eat meat products. *International journal of food microbiology*, 229, 52-59.

Preis, S., Schröder, K., Biedermann, T., & Zink, A. 2022. Folliculitis caused by *Pantoea dispersa* as a souvenir from a self-discovery excursion in bat caves. *JAAD Case Reports*, 25, 15-17.

Puspanadan, S., L. Afsah-Hejri, Y. Y. Loo, E. Nillian, C. H. Kuan, S. G. Goh, W. S. Chang, Y. L. Lye, Y. H. T. John, Y. Rukayadi, N. Yoshitsugu, M. Nishibuchi, and R. Son. 2012. Detection of *Klebsiella pneumoniae* in raw vegetables using most probable number-polymerase chain reaction (MPN-PCR). *Int. Food Res. J.* 19(4):1757–1762

Rachmawati, N., Powell, S. M., Triwibowo, R., Nichols, D. S., Ross, T., & Tamplin, M. L. (2022). Modelling growth and histamine formation of *Klebsiella aerogenes* T124 isolated from Indonesian pindang. *International Journal of Food Microbiology*, 362, 109459.

- Ramaswami, L., Duchenne-Moutien, R., Ramgutti, H., Suharye, M., & Neetoo, H. 2021. Prevalence of Emerging Pathogens Cronobacter spp. and Pantoea dispersa in Low Moisture Foods. *Food Protection Trends*, 41(4).
- Rebecchi, Crivori, Sarra, & Cocconcelli. 1998. Physiological and molecular techniques for the study of bacterial community development in sausage fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 84(6), 1043-1049.
- Rodrigues, D. E., Gonçalves, C. A., Silva, L. B., Silva, L. S., da Silva, A. M., da Silva Junqueira, M., & Trombete, F. M. 2019. Pesquisa de matérias estranhas e avaliação físico-química de caldo-de-cana comercializado na região de Sete Lagoas-MG. *Caderno de Ciências Agrárias*, 11, 1-6.
- Rodríguez-Baño, J., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Machuca, I., & Pascual, A. 2018. Treatment of infections caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AMPC-, and Carbapenemase-Producing enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(2). <https://doi.org/10.1128/cmr.00079-17>
- Rupp, M. E., Soper, D. E., & Archer, G. L. 1992. Colonization of the female genital tract with *Staphylococcus saprophyticus*. *Journal of clinical microbiology*, 30(11), 2975-2979.
- Rupp, M. E. 2014. Clinical characteristics of infections in humans due to *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus epidermidis: methods and protocols*, 1-16.
- Sabota, J. M., W. L. Hoppes, J. R. Ziegler, H. DuPont, J. Mathewson, and G. W. Rutecki. 1998. A new variant of food poisoning: enteroinvasive *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* sepsis from a contaminated hamburger. *Am. J. Gastroenterol.* 93:118–119.
- Schleifer, K. H., & Bell, J. A. 2009. Family VIII. Staphylococcaceae fam. nov. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 3, 392.
- Schmid, H., Schubert, S., Weber, C., & Bogner, J. R. 2003. Isolation of a *Pantoea dispersa*-Like Strain from a 71-Year-Old Woman with Acute Myeloid Leukemia and Multiple Myeloma. *Infection*, 31(1).
- Seki, M., Gotoh, K., Nakamura, S., Akeda, Y., Yoshii, T., Miyaguchi, S., Inohara, H., Horii, T., Oishi, K., Iida, T. & Tomono, K. 2013. Fatal sepsis caused by an unusual *Klebsiella* species that was misidentified by an automated identification system. *Journal of medical microbiology*, 62(5), 801-803.
- Shah, Y. A., Afzaal, M., Ahmadn M., Mustafa, J. 2020. Microbiological Quality and Safety Assessment of Sugar Cane Juice and Ice Sold by Vendors in Faisalabad City, Pakistan. *Acta Scientific Microbiology* 3.7 : 60-64.
- Silva, C. O., & Gallo, F. A. 2016. Sugarcane juice processing: Microbiological monitoring. *Journal of Food Processing & Technology*, 7(8). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000607>
- Simionato, E. M. R. S., & Mafei, T. D. T. 2017. Avaliação das condições higienicossanitárias de caldo de cana comercializado por ambulantes no município de Bauru/SP, Brasil. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research*, 19(2), 21-28.
- Siregar, S. M. F., & Khairunnas, K. 2021. Education of Hygiene Sanitation Processing Cane Water Traders as a prevention of Food Borne Disease Prevention. *The Indonesian Journal of Public Health*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.35308/j-kesmas.v8i1.2966>
- Siu, L. K, C. P. Fung, F. Y. Chang, N. Lee, K. M. Yeh, T. H. Koh, and M. Ip. 2011. Molecular typing and virulence analysis of serotype K1 *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from liver abscess patients and stool samples from noninfectious subjects in Hong Kong, Singapore, and Taiwan. *J. Clin. Microbiol.* 49(11):3761–3765.

Skovdal, S. M., Jørgensen, N. P., & Meyer, R. L. 2022. JMM profile: *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Medical Microbiology*, 71(10), 001597.

Soares, J. C., Marques, M. R., Tavora, F. K., Pereira, J. O., Malcata, F. X., & Pintado, M. M. 2011. Biodiversity and characterization of *Staphylococcus* species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. *International journal of food microbiology*, 146(2), 123-129.

Sodagari, H. R., Habib, I., Shahabi, M. P., Dybing, N. A., Wang, P., & Bruce, M. 2020. A review of the public health challenges of salmonella and turtles. *Veterinary Sciences*, 7(2), 56. <https://doi.org/10.3390/vetsci7020056>

Sommer, P., Martin-Rouas, C., & Mettler, E. 1999. Influence of the adherent population level on biofilm population, structure and resistance to chlorination. *Food microbiology*, 16(5), 503-515.

Stepanovic, S., Dakic, I., Opavski, N., Jezek, P., & Ranin, L. 2003. Influence of the growth medium composition on biofilm formation by *Staphylococcus sciuri*. *Annals of Microbiology*, 53(1), 63-74.

The Human Microbiome Project Consortium. 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*; 486(7402):207–214

Valle, J., Gomez-Lucia, E., Piriz, S., Goyache, J., Orden, J. A., & Vadillo, S. 1990. Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(5), 1323-1326.

Vilar, I., Garcia Fontan, M. C., Prieto, B., Tornadijo, M. E., & Carballo, J. 2000. A survey on the microbiological changes during the manufacture of dry-cured lacón, a Spanish traditional meat product. *Journal of Applied Microbiology*, 89(6), 1018-1026.

Walterson, A. M., & Stavrinides, J. 2015. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS microbiology reviews*, 39(6), 968-984.

Wu, H., B. G. Liu, J. H. Liu, Y. S. Pan, L. Yuan, and G. Z. Hu. 2012. Phenotypic and molecular characterization of CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase and plasmid-mediated ACT-like AmpC β -lactamase produced by *Klebsiella pneumoniae* isolates from chickens in Henan Province, China. *Genet. Mol. Res.* 11(3):3357–3364.

Yang, W. T., Yi, Y. J., & Xia, B. 2023. Unveiling the duality of *Pantoea dispersa*: a mini review. *Science of The Total Environment*, 873, 162320.

Zou, M., & Liu, D. 2018. A systematic characterization of the distribution, biofilm-forming potential and the resistance of the biofilms to the CIP processes of the bacteria in a milk powder processing factory. *Food Research International*, 113, 316-326.

Zurfluh, K., Poirel, L., Nordmann, P., Klumpp, J., & Stephan, R. 2015. First detection of *Klebsiella variicola* producing OXA-181 carbapenemase in fresh vegetable imported from Asia to Switzerland. *Antimicrobial resistance and infection control*, 4, 1-3.

5. CAPÍTULO 2: ALERTA À QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CALDO DE CANA

A revisão bibliográfica intitulada "Alerta à Qualidade Microbiológica de Caldo de Cana" foi **apresentado** no I Congresso Latino-Americano de Segurança de Alimentos, tornando-se posteriormente um capítulo de livro.



Assista a apresentação deste trabalho apontando sua câmera para o Qr-code



Capítulo 33

DOI: 10.53934/08082023-33

ALERTA À QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CALDO DE CANA

Michelly Milles Baptista dos Santos ; João Victor de Andrade dos Santos ;
Aline dos Santos Garcia-Gomes

*aline.gomes@ufjf.edu.br

Resumo: O caldo de cana é uma bebida popular no Brasil devido às suas características de refrescância e sabor doce, sendo consumido frequentemente por indivíduos de todas as idades e classes, e comumente comercializada por vendedores ambulantes em vias públicas. A alta atividade de água, pH adequado, elevada concentração de açúcares e temperatura ambiente de comercialização favorecem a proliferação microbiana. A produção do caldo de cana é a etapa em que há os maiores riscos de contaminação da bebida devido à falta de higiene dos equipamentos e condições inadequadas de manipulação ou estocagem. Assim, o objetivo deste trabalho foi discorrer sobre a qualidade microbiológica do caldo de cana. Foi realizado um levantamento bibliográfico de publicações científicas nacionais e internacionais, utilizando como base de dados as plataformas Science Direct, Periódicos CAPES, PubMed, SciELO e Google Scholar, utilizando-se os descritores "benefícios do caldo de cana", "manipulação e caldo de cana", "contaminação microbiana e caldo de cana" e "qualidade microbiológica caldo de cana" nas versões em inglês e português. O processo de revisão de dados da literatura no permite apontar que essa bebida apresenta um alto nível de contaminação bacteriana, com destaque para bactérias do grupo coliformes, estando acima dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Os resultados mostram a necessidade da conscientização e educação constante dos manipuladores em boas práticas de fabricação, bem como de desenvolver metodologias de conservação adequadas a esse tipo de bebida, que possam inclusive ser feitas, de forma simples, pelos próprios vendedores.

Palavras-chave: caldo de cana; contaminação microbiana; higiene; manipulação

Abstract: Sugarcane juice is a popular beverage in Brazil due to its refreshing characteristics and sweet taste, being frequently consumed by individuals of all ages and classes, and commonly sold by street vendors on public streets. The high water activity, adequate pH, high concentration of sugars, and ambient temperature of commercialization favor microbial proliferation. The production of sugarcane juice is the stage in which there are the greatest risks of contamination of the beverage due to the lack of hygiene of the equipment and inadequate handling or storage conditions. Thus, the objective of this work was to discuss the microbiological quality of sugarcane juice. A

409

Patrocinador diamante



Patrocinadores do E-book





Assista a apresentação deste trabalho apontando sua câmera para o Qr-code

bibliographic survey of national and international scientific publications was carried out using as databases the platforms Science Direct, Periódicos CAPES, PubMed, SciELO, and Google Scholar, using the descriptors "benefits of sugarcane juice," "handling and sugarcane juice," "microbial contamination and sugarcane juice," and "microbiological quality of sugarcane juice" in English and Portuguese versions. The literature data review process allows us to point out that this beverage presents a high level of bacterial contamination, especially bacteria of the coliform group, being above the standards established by the legislation in force. The results show the need for awareness and constant education of the manipulators in good manufacturing practices, as well as the need to develop suitable conservation methodologies for this type of beverage, which can even be done, in a simple way, by the vendors themselves.

Keywords: sugarcane juice; microbial contamination; hygiene; manipulation

INTRODUÇÃO

O caldo de cana, também chamado no Brasil de garapa, é uma bebida não alcoólica, refrescante, que possui sabor doce, agradável ao paladar da população, sendo muito popular entre brasileiros devido ao seu baixo valor econômico e às características citadas. É frequentemente apreciado por pessoas de todas as idades e classes sociais, principalmente nas estações mais quentes do ano (1).

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é um dos cultivos mais importantes do mundo, especialmente em países tropicais e subtropicais (2). Apesar de sua origem no sudeste da Ásia, passou a ser cultivada em outros continentes através das grandes navegações ainda no período colonial (1, 3, 4, 5).

No Brasil a cana-de-açúcar foi trazida pelos portugueses, em 1502, resultando rapidamente em uma das fontes de riquezas do país. Com o programa PROÁLCOOL do Governo Federal, em 1975, que possuía o objetivo de reduzir o uso de combustível derivado de petróleo, a produção de álcool etílico a partir de cana-de-açúcar se acentuou, trazendo um grande impacto econômico no cenário nacional. Na atualidade o cultivo comercial de cana-de-açúcar é realizado em mais de 70 países. O Brasil se destaca como o maior produtor do mundo, seguido pela Índia e China (1, 3, 4, 5, 6).

Dentre as diversas aplicações da cana-de-açúcar, destaca-se a produção de alimentos, como é o caso da bebida caldo de cana. A comercialização do caldo é vista como uma atividade altamente lucrativa pelos produtores desta

bebida (1, 3, 4, 5). Apesar da cultura da cana-de-açúcar já ser reconhecida por sua relevância no campo econômico, ela também é valorizada por seu poder medicinal. A medicina tradicional indiana (também conhecida como ayurveda) e chinesa são modelos históricos do uso de alimentos como alternativa terapêutica. No antigo Ayurveda indiano, a cana-de-açúcar é empregada como um remédio, sendo utilizada também em combinações com outras ervas e plantas (7). O estudo de Karthikeyan & Samipillai (8) mostra que o caldo de cada vem sendo empregado como um remédio natural para vários problemas de saúde na Índia, podendo citar hemorragia, anúria, icterícia, disúria, câncer, doenças cardiovasculares e urinárias.

O caldo de cana é descrito como um líquido opaco, viscoso, de cor parda ao verde escuro, e sua composição pode ser modificada dependendo de vários aspectos, como a variedade, idade e saúde da cana, meio ambiente (solo e condições climáticas, como temperatura e chuvas), estruturação agrícola (maturação, colheita, manuseio, transporte e armazenamento) além de pragas e doenças (9).

Devido à sua alta concentração de carboidratos (em especial a sacarose), esta bebida é considerada como uma bebida de alto valor energético (5). Segundo Madhavi et al. (10), uma porção de 28,35 gramas de caldo de cana contém: 26,56 kcal (ou 111.13 kJ), 27,51 g de carboidratos, 0,27 g de proteínas, 11,23 mg de cálcio, 0,37 mg de ferro, 41,96 mg de potássio e 17,01 mg de sódio, distribuídos em 71% de água, 14% de açúcar solúvel, 12% de fibras e 3% de não açúcar.

Dentre suas características físico-químicas o pH é $5,46 \pm 0,02$; $24,50 \pm 0,1\%$ de sólidos solúveis; $0,047 \pm 0,001\%$ de acidez total titulável; $585,11 \pm 10,32$ de relação Brix/Acidez e $3,19 \pm 0,01$ mg/100ml de ácido ascórbico (9).

Apesar dos benefícios que a bebida pode trazer aos que a consomem, ela é altamente suscetível ao processo de deterioração microbiana, muito relacionada ao seu valor de pH em conjunto com as altas concentrações de açúcares, que favorecem a proliferação de bactérias lácticas e leveduras (4). Por outro lado, devido ao contato direto da cana com o solo e as condições de armazenamento e manipulação previamente à feitura de seu suco, que é consumido sem nenhum tipo de tratamento para redução da carga microbiana,

a bebida pode ser um potencial veiculador de patógenos e um causador de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), sendo assim este trabalho teve como objetivo realizar um levantamento bibliográfico no qual pretende-se destacar as possíveis fontes de contaminação microbiana do caldo de cana, bem como apontar alternativas para produção de um caldo de cana seguro à população que o consome.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão de literatura foi realizada a partir do levantamento bibliográfico de publicações científicas nacionais e internacionais. Foram utilizados 61 artigos, entre os anos de 1971 e 2022 publicados nas bases de dados Science Direct, Periódicos CAPES, PubMed, SciELO e Google Scholar. Como descritores, em conjunto ou isolados, foram utilizados: “benefícios do caldo de cana”, “manipulação e caldo de cana”, “contaminação microbiana e caldo de cana” e “qualidade microbiológica caldo de cana” nas versões em português e inglês.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O caldo de cana é sem dúvidas uma bebida amplamente consumida no país, sendo seu consumo feito em sua forma *in natura*. Uma das dificuldades encontradas em relação ao consumo de caldo de cana fresco é a sua elevada perecibilidade, o que resulta em um prazo de validade muito curto. Isto se relaciona às altas quantidades de compostos fenólicos e açúcares que sofrem, respectivamente, degradação enzimática pelas enzimas polifenol oxidase e peroxidase, e fermentação microbiana (11, 12).

Desde o cultivo até a extração do caldo de cana microrganismos potencialmente patogênicos podem ser inseridos na bebida sendo assim seu consumo *in natura* pode ocasionar prejuízo à saúde de seus consumidores. O contato com o solo por si só é fonte de microrganismos. O solo é um ambiente com uma grande diversidade microbiana e essa diversidade pode ser inerente ao solo ou adicionada a ele por fontes diversas, como irrigação da plantação com

água não tratada. Os constituintes dessa diversidade podem ter uma relação neutra, positiva ou negativa com homens e animais, neste último caso sendo considerados patógenos (13, 14, 15).

No caso do processo de extração do caldo de cana, apesar de simples, este é um ponto crítico de contaminação dele, tendo em vista que pode ocorrer a introdução de novos microrganismos, do ambiente e do próprio manipulador, na bebida. As maiores contaminações do caldo de cana ocorrem durante a etapa de moagem e durante o armazenamento em recipientes para venda. Adiciona-se a estes pontos as falhas de manipulação, devido à ausência da adequada higienização por parte dos comerciantes (4, 16).

O estudo de Oliveira et al. (1) aponta que a maioria das não adequações às legislações de segurança de alimentos em ambientes de produção e venda do caldo de cana *in natura* deve-se, principalmente, à insuficiência de capacitação e treinamento em manipulação de alimentos em boas práticas, desconhecimento sobre o que são e qual a importância das condições higiênico-sanitárias adequadas, e DTHA, além de falta de infraestrutura, como rede de fornecimento de água, energia elétrica e sanitários. O acúmulo de funções, tais como extrair o produto para a comercialização, realizar a manipulação de dinheiro e retirar o lixo produzido também é um fator que pode prejudicar a qualidade microbiológica da bebida.

Muitos são as causas de contaminação no processamento da cana-de-açúcar, mas uma que muitas vezes é ignorada é o período de tempo entre a colheita da cana-de-açúcar e a moagem, já que manter esta matéria-prima por períodos longos à temperatura ambiente contribui para a multiplicação de microrganismos através do processo de deterioração (17). Acrescenta-se ao processo de deterioração do caldo de cana, uma vasta e diversificada microbiota natural da planta, que será inserida no caldo de cana, aumentando também o nível de contaminação deste produto final (4, 16).

A Tabela 1 apresenta alguns estudos dos últimos doze anos que detectaram a presença de microrganismos em caldo de cana de diferentes regiões do território brasileiro. Dentre os microrganismos mais pesquisados, podemos destacar os grupos coliformes totais e coliformes termotolerantes, bolores e leveduras, além da espécie *Escherichia coli*. Com relação às fontes

para esta contaminação destaca-se a falta de boas práticas de manipulação da cana-de-açúcar. A presença de *Escherichia coli* e enterococos indicam contaminação fecal do caldo de cana, podendo causar doenças gastrointestinais no consumidor com sintomas como náuseas, diarreias, vômitos, dores abdominais e, em casos mais graves, podendo até levar a óbito (12).

Tabela 1 – Perfil microbiológico de caldo de cana em diversos Estados do Brasil.

Ano	Principais microrganismos identificados	Possível origem dos microrganismos	Referência
2007	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Armazenamento de canas-de-açúcar diretamente no chão e/ou ao ar livre, sem limpeza antes de moê-las; manipulação de dinheiro e o produto sem higienizar as mãos, e uso de gelo de origem duvidosa.	18
2010	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp.	Baixa capacitação profissional dos manipuladores, pouco conhecimento sobre as condições higiênico-sanitárias adequadas, falta de infraestrutura; qualidade inadequada da matéria-prima.	23
2012	<i>Staphylococcus aureus</i>	Procedimentos inadequados de higiene, como servir o caldo de cana e manipular dinheiro; uso de panos aparentemente sujos para limpar as mãos; roupas, unhas e mãos sujas, e produtos encontrados prontos para a venda sem refrigeração.	3

2016	Bolors e leveduras, bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Falta de higienização dos utensílios usados em todo o processo produtivo; acondicionamento inadequado do produto; matéria-prima e produto exposto a grandes variações de temperatura e falta de proteção dos locais de venda contra perigos físicos e biológicos.	25
2017	Coliformes totais e termotolerantes.	Manipuladores não utilizavam proteção para os cabelos; descarte do bagaço da cana no chão ou em lixo sem tampa; manuseio do caldo e dinheiro ao mesmo tempo, e falta de percepção da necessidade de lavar as mãos.	21
2017	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Não cumprimento das práticas higiênico-sanitárias tanto dos equipamentos para a moagem, quanto dos próprios manipuladores.	24
2018	Coliformes totais e termotolerantes.	Ausência de condições higiênico-sanitárias em todas as etapas de produção, transporte, armazenamento, manipulação e preparação.	26
2019	Bolors e leveduras, bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais e termotolerantes.	Matéria-prima excessivamente contaminada; higienização insuficiente na produção; limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas e condições impróprias de tempo e temperatura durante a conservação dos alimentos.	20

2019	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> , Enterobactérias.	Falhas de boas práticas de manipulação da bebida e estocagem indevida da matéria-prima.	22
2022	Coliformes totais e termotolerantes, <i>E. coli</i> .	Precriedade das condições higiênico-sanitárias na fabricação, manipulação, estocagem, acondicionamento e armazenamento desta bebida.	19

Fonte – autoria própria

Atualmente, a Resolução – RDC nº 724, de 1º de julho de 2022 (27), que dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação e, de maneira complementar, a Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 (28), que estabelece os padrões microbiológico dos alimentos, são as legislações que visam a segurança dos alimentos no Brasil. Nesta nova legislação, não há a especificação do caldo de cana (como acontecia na antiga RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (29)), devendo haver a categorização dessa bebida de acordo com similaridade com as categorias pré-estabelecidas, neste caso pode-se encaixar o caldo de cana na categoria 12 (Bebidas Não Alcoólicas) categoria específica F (Sucos e outras bebidas "in natura" ou reconstituídas). Neste sentido se preconiza a pesquisa de *Salmonella*/25 mL, devendo haver ausência na amostra analítica, *Escherichia coli*/mL para a qual existe um limite mínimo aceitável de $1,0 \times 10$ UFC/mL e limite máximo aceitável de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL. Desta forma, observa-se que diversas amostras não estão de acordo com a legislação vigente, oferecendo risco aos consumidores.

Devido à falta de emprego e baixa qualificação profissional, vem sendo cada vez mais comum verificarmos a venda de alimentos e bebidas em vias públicas, sendo considerada como uma atividade socioeconômica e cultural, pois garante uma renda e meio de sobrevivência para uma categoria de pessoas excluídas socialmente. Este comércio tido como ilegal conta, em sua maior parte, com o apoio da população. Por um lado, há a confiança da população de que produtos *in natura*, ou caseiros, são mais saudáveis, mas, por outro lado, há a ausência da conscientização de que os locais de venda destes tipos de alimentos possuem, em sua maioria, condições higiênico-sanitárias impróprias para garantir a segurança do produto para o consumidor e de que, com isso, estes alimentos produzidos podem transmitir doenças (3, 5, 16).

Devido à grande sensibilidade do caldo de cana ao processo de deterioração, bem como a carga microbiana inerente da cana e do próprio manipulador e ambiente de estocagem e/ou processamento, o aprimoramento de meios de preservação deste produto se torna essencial para aumentar sua vida-de-prateleira e, desta forma, aumentar também o seu consumo a longo prazo e a segurança aos consumidores (12).

Os resultados do estudo de Yusof, Shian, & Osman (30) apontam que é

recomendável armazenar a cana-de-açúcar em baixa temperatura para obter um melhor rendimento. O armazenamento das canas à 27°C por mais de 4 dias diminui o rendimento de caldo radicalmente além de alterar a cor e sabor quando comparado a caldos obtidos de canas armazenadas a 10°C. Em relação ao caldo de cana recém-extraído e não pasteurizado, verificou-se que este pode ser mantido a 5°C por no máximo 4 dias. Em tempos superiores se observa a deterioração pela alteração de cor, sabor e aumento da viscosidade. Já quando armazenado a uma temperatura de 27°C a qualidade global do caldo de cana é comprometida em apenas um dia. Em relação à qualidade microbiológica, a contagem total de bactérias viáveis e lácticas no caldo armazenado (5°C ou 27°C) aumentou com o decorrer do tempo. Com relação aos fungos a refrigeração parece ter atuado de forma a prevenir o desenvolvimento.

Diversos métodos de conservação podem ser aplicados com o objetivo de prolongar a vida de prateleira dessa bebida. Estes métodos podem ser divididos em cinco classes: (i) uso de agentes clarificantes, (ii) uso de conservantes, (iii) técnicas de processamento térmico, (iv) técnicas de processamento não térmico, e (v) combinação dos métodos citados anteriormente (tecnologia dos obstáculos), que possui como propósito combinar os benefícios de dois ou mais processos e superar as limitações individuais dos mesmos. (12).

O uso de agentes clarificantes promove a destruição de substâncias cromáticas que possuem ferro, evitando dessa forma a erosão de equipamentos utilizados no processo produtivo; a extração de polissacarídeos como a dextrana, que é produzida por microrganismos deteriorantes, uma vez que inibe estes microrganismos, evitando desta forma obstruções nas linhas de produção; a inibição de enzimas (polifenol oxidase e peroxidase); e a extração de compostos fenólicos, que previnem o escurecimento enzimático. (12). O estudo de Sartori, Magri e Aguiar (31) mostra que o uso de peróxido de hidrogênio no caldo de cana apresentou resultados positivos quanto à clarificação da bebida em temperaturas altas (maiores que 50°C), em concentrações de H₂O₂ superiores a 600 ppm e em valores de pH menores que 7, ou seja, em meio ácido. A bicarbonatação em alternativa ao tradicional método da sulfitação, também apresenta bons resultados, o que de fato justifica seu uso, uma vez que

a sulfitação apresenta grande toxicidade devido ao enxofre e seus derivados (32).

A adição de conservantes químicos, como por exemplo permanganato de potássio e benzoato de sódio, aumentam o prazo de validade do produto. No entanto estes são considerados aditivos tóxicos quando consumidos por um longo período, o que pode causar prejuízo à saúde dos consumidores se estes forem consumidos acima do nível permitido (12).

Métodos convencionais de processamento térmico, como o processamento asséptico, UHT (do inglês *ultra-high temperature*) e pasteurização vêm sendo pesquisados para prolongar a vida útil do caldo de cana. Uma grande vantagem do processo de pasteurização é a garantia da segurança microbiológica, pois realiza a eliminação de microrganismos patogênicos. No entanto, variações drásticas de temperatura alteram as características sensoriais e nutricionais do caldo de cana o caldo de cana por induzir, por exemplo, o processo de Maillard e diminuir a quantidade de clorofila (33). O tratamento térmico também destrói muitos compostos relevantes para a saúde, como antioxidantes, ácidos graxos, proteínas, muitas vitaminas hidrossolúveis, minerais, e outros fitonutrientes, por ação de reações induzidas entre os aminoácidos e açúcares redutores (34). Com base no exposto fica claro o porquê de até o momento, apesar da eficácia dos tratamentos térmicos, estes não serem uma escolha tão simples quando se trata de caldo de cana.

Um dos principais obstáculos da área de conservação de alimentos é associar a preservação de alimentos à manutenção da qualidade e dos atributos nutricionais e sensoriais. Com isso, novas técnicas de processamento vêm sendo desenvolvidas, como as tecnologias não-térmicas.

Atualmente o aquecimento ôhmico vem sendo amplamente estudado em alimentos, este é considerado um método não convencional no qual uma corrente elétrica é passada pela matriz alimentar promovendo um aquecimento instantâneo e homogêneo da amostra (35, 36), no entanto este tratamento em caldo de cana resultou em destruição de flavonóides e compostos fenólicos que ocorrem também no processamento térmico convencional (37, 38).

Na técnica de *spray drying* a bebida é pulverizada sobre uma grande corrente de ar aquecido, formando uma partícula sólida através da evaporação

do solvente. Neste caso, o caldo de cana passaria a ser reconstituído quando fosse servido ao consumidor, apresentando uma significativa aceitabilidade sensorial (12, 39, 40, 41, 42, 43). A concentração por congelamento é mais uma técnica que pode ser utilizada para aumentar a vida útil do caldo de cana. Entretanto, seu uso comercial depende da otimização dos parâmetros do equipamento, como a bomba de calor (12).

Considerando técnicas não térmicas promissoras é importante destacar o processamento hidrostático, técnica que pode ser utilizada para reduzir a contagem de microrganismos vegetativos, assim como enzimas que causam o escurecimento (44, 45). Ademais, em caldo de cana, foram percebidas poucas alterações nas propriedades físico-químicas, o que garante uma maior conservação de nutrientes (46). Outra técnica que tem se mostrado eficiente para aumentar a vida útil do caldo de cana é o processamento por membrana, processo que desacelera a deterioração microbiana e enzimática (47). Devido à sua capacidade de aumentar a escala, custo reduzido e menor degradação do produto, a tecnologia de membranas também é vista como uma grande expectativa para manter o sabor original, aroma e perfil nutricional do caldo de cana (12).

Apesar de todos os benefícios citados, essas técnicas também podem apresentar limitações. No caso do processamento com membranas, a principal limitação seria a formação de incrustações na linha de produção, que diminuiriam o rendimento do produto (48).

Outras tecnologias não térmicas já se mostraram incompatíveis com a bebida. O tratamento com ultravioleta parece não ter um resultado satisfatório e sua ineficiência parece estar relacionada à alta turbidez da bebida (49). O processamento por ultrassom leva ao prejuízo das propriedades físico-químicas, como sabor desagradável, descoloração e modificação de compostos (50). A tecnologia de plasma frio detém limitações em relação ao tamanho de amostra do lote e ao custo (51). A irradiação pode se defrontar com algumas dificuldades regulatórias e alguns empecilhos em relação à resistência do consumidor devido a desinformações sobre radioatividade e relação, inadequada, como danos às propriedades nutritivas e sensoriais (52). O tratamento com gás ozônio, em altas concentrações, pode apresentar instabilidade e toxicidade do próprio gás (53).

Apesar das diversas metodologias explicitadas, a preocupação com a conservação do caldo de cana vai além do objetivo primário de aumentar a sua vida-de-prateleira, sendo essencial no desenvolvimento de uma bebida mais segura a seus consumidores. Considerando a preservação da qualidade global dessa bebida, as boas práticas não devem jamais ser subestimadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A compilação dos dados de literatura aponta que o caldo de cana possui um enorme potencial para disseminação de microrganismos, inclusive os potencialmente patogênicos. No entanto, os estudos focam em microrganismos que indicam apenas contaminação de origem fecal, oriunda da manipulação inadequada dessa cana por ausência de condições higiênico-sanitárias adequada nos ambientes de preparação da bebida, ainda sendo necessário se atentar à microbiota que acompanha a cana de açúcar e que não possui relação com contaminação de origem fecal.

Considerando, portanto, que existe um risco biológico no consumo dessa bebida, técnicas de conservação dela garantiriam sua qualidade microbiológica. Todavia as técnicas de conservação expostas neste trabalho precisam de local e equipamentos específicos para serem aplicadas, ou seja, não conseguem ser realizadas por garapeiros em comércios de rua. Desta forma, por essa ser uma bebida amplamente difundida no mercado nacional via comércio de rua, se faz necessário elaborar estratégias metodológicas para a elaboração de técnicas de conservação que sejam factíveis de serem colocadas em prática por estes comerciantes.

Na ausência dessas técnicas *in loco* fica clara a necessidade de intervenções no comércio de rua por órgãos fiscalizadores com o intuito de cumprir as legislações e conceder uma bebida segura aos consumidores. No entanto é importante ressaltar que muitos produtores da bebida desconhecem os riscos associados à manipulação inadequada e falta de higienização da cana. Deste modo parece essencial criar estratégias de conscientização e educação constante dos manipuladores em boas práticas de fabricação de forma a manter a qualidade no comércio de alimentos de rua, algo natural do cotidiano dos brasileiros.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ) pelo espaço e apoio constante ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- (1) Nogueira, F. A. G., Zanão, C. F. P., Souza, C. W. O., Spoto, M. H. F. Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. *Segurança Alimentar e Nutricional*. 2006; 13(2): 6-18.
- (2) Homaida, M. A., Yan, S., Yang, H. Effects of ethanol treatment on inhibiting fresh-cut sugarcane enzymatic browning and microbial growth. *LWT*. 2017; 77: 8-14.
- (3) Norberg, A. N., de Oliveira, J. T. M., Monteiro, A. N., Sanches, F. G., Ribeiro, P. C., Serra-Freire, N. M. Análise qualitativa e quantitativa de caldos de cana comercializados na região da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à poluição por *Staphylococcus aureus*. *Ciência & Tecnologia*. 2012; 12(2): 54-59.
- (4) Prado, S. D. P. T., Bergamini, A. M. M., Ribeiro, E. G. A., Castro, M. D. C. S., de Oliveira, M. A. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana in natura comercializado por ambulantes. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 2010; 69(1): 55-61.
- (5) dos Santos, J. V. D. A., da Silva, G. R., Gandra, L. P., Kwiatkowski, A., Gomes, A. D. S. G. Propriedades da cana-de-açúcar e qualidade da bebida brasileira caldo de cana. *Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB*. 2021; 1(56): 238-247.
- (6) Nocelli, R. C. F., Zambon, V., Guilherme, O., da Silva, M., de Castro Morini, M. S. Histórico da cana-de-açúcar no Brasil: contribuições e importância econômica. *Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica*. 2017; 1: 13-30.
- (7) Anis, M., Iqbal, M. Antipyretic utility of some Indian plants in traditional medicine. *Fitoterapia*. 1986; 57(1): 52-55.
- (8) Karthikeyan, J., Samipillai, S. Sugarcane in therapeutics. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. 2010; 4 (1): 9-14.
- (9) Prati, P., Camargo, G. A. Características do caldo de cana e sua influência na estabilidade da bebida. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas*. 2008; 2 (1): 37-44.
- (10) Madhavi, R., Gauri, D., Snehal, B., Milita, V. A step towards enhancement of shelf life of sugarcane juice. *Editorial Board*. 2020; 9 (6): 106-112.
- (11) Eggleston, G. Positive aspects of cane sugar and sugar cane derived products in food and nutrition. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018; 66 (16): 4007-4012.
- (12) Panigrahi, C., Shaikh, A. E. Y., Bag, B. B., Mishra, H. N., De, S. A technological review on processing of sugarcane juice: Spoilage, preservation, storage, and packaging aspects. *Journal of Food Process Engineering*. 2021; 44(6): 1-19.
- (13) Baumgardner, D. J. Soil-related bacterial and fungal infections. *The Journal of the American Board of Family Medicine*. 2012; 25 (5), 734-744.
- (14) Steffan, J. J., Brevik, E. C., Burgess, L. C., Cerdà, A. The effect of soil on human health: an overview. *European journal of soil Science*. 2018; 69 (1): 159-171.

- (15) Steffan, J. J., Derby, J. A., Brevik, E. C. Soil pathogens that may potentially cause pandemics, including severe acute respiratory syndrome (SARS) coronaviruses. *Current Opinion in Environmental Science & Health*. 2020; 17: 35-40.
- (16) Brezovsky, F. R., Valiatti, T. B., Romão, N. F., Passoni, G. P., Sobral, F. D. O. S. Avaliação microbiológica e microscópica do caldo de cana comercializado em Ji-Paraná. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*. 2016; 20 (2): 111-115.
- (17) Solomon, S., Singh, P. Efficacy of electrolyzed water to minimize postharvest sucrose losses in sugarcane. *Sugar Technology*. 2009; 11 (2): 228–230.
- (18) Carvalho, L. R. Magalhães, J. T. Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna-BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 2007; 31 (2): 238-245.
- (19) de Carvalho, K. A. R., Sandmann, P. H. D., Mozzaquattro, V., Deecken, B. P., Bassetto, K. V., da Silva, G. V. F., Vieira, T. B. Condições Higiénico-sanitárias e qualidade microbiológica do caldo de cana “in natura” comercializado em Sinop–MT. *Scientific Electronic Archives*. 2022; 15 (2): 63-71.
- (20) Galvão, K. N. C., Teixeira, V. M. C., Campos-Shimada, L. B., Bagatin, M. C., de Oliveira Valoto, A. L. Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes no município de campo Mourão-PR. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*. 2019; 14 (1): 21-26.
- (21) Gassen, G. S., de Peder, L. D., & da Silva, C. M. Análise da qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado em um município da região oeste do paraná. *Colloquium Vitae*. 2017; 9 (3): 07-12.
- (22) Reis, M. M., Sousa, Z. L. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Ilhéus-BA. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*. 2019; 14 (2): 18-24.
- (23) Silva, A. S., Galvão, L. G. V., Santos, J. C., & Campos, M. C. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado na orla marítima da cidade de Salvador-Bahia. *Revista Virtual*. 2010; 6 (2): 74-85.
- (24) Simionato, E. M. R. S. Mafei, T. D. T. Avaliação das condições higienicossanitárias de caldo de cana comercializado por ambulantes no município de Bauru/SP, Brasil. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research*. 2017; 19 (2): 21-28.
- (25) Sprenger, L. K., Risolia, L. W., Hamdar, S. Z., Molento, M. B. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em Curitiba, Paraná. *Archives of Veterinary Science*. 2016; 21 (4): 1-7.
- (26) da Silva Xavier, C. G., Bacelar, R. G. A., dos Santos, E. J. R., Ianiceli, J. A., Brito, M. C., Murtori, M. C. S. Condições higienicossanitárias do caldo de cana de açúcar comercializado em Teresina–Piauí. *Pubvet*. 2018; 12 (11): 1-6.
- (27) Brasil. Resolução RDC nº 724, de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. *Diário Oficial da União*. 01 jul 2022.
- (28) Brasil. Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. *Diário Oficial da União*. 01 jul 2022.
- (29) Brasil. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*. 02 jan 2001.

- (30) Yusof, S., Shian, L. S., Osman, A. Changes in quality of sugar-cane juice upon delayed extraction and storage. *Food Chemistry*. 2000; 68: 395–401.
- (31) Sartori, J. A. D. S., Magri, N. T. C., Aguiar, C. L. D. Clarificação de caldo de cana-de-açúcar por peróxido de hidrogênio: efeito da presença de dextrana. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2015; 18: 299-306.
- (32) Araújo, F. D. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. *Revista Ciências e Tecnologia*. 2007; 1: 1-5.
- (33) Chauhan, O. P., Singh, D., Tyagi, S. M., Balyan, D. K. Studies on preservation of sugarcane juice. *International Journal of Food Properties*. 2002; 5 (1): 217–229.
- (34) Burri, J., Bertoli, C., Stadler, R. H. Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks. *Food processing and nutritional aspects*. 2009; 645-678.
- (35) Cappato, L. P., Ferreira, M. V., Guimaraes, J. T., Portela, J. B., Costa, A. L. R., Freitas, M. Q., Cunha, R.L., Oliveira, C.A.F., Mercali, G.D., Marzack, L.D.F., Cruz, A. G. Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends in Food Science & Technology*. 2017; 62: 104–112.
- (36) Alkanan, Z. T., Altemimi, A. B., Al-Hilphy, A. R., Watson, D. G., Pratap-Singh, A. Ohmic Heating in the Food Industry: Developments in Concepts and Applications during 2013–2020. *Applied sciences*. 2021; 11(6), 2507.
- (37) Sakr, M., Liu, S. A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014; 39: 262–269.
- (38) Brochier, B., Mercali, G. D., & Marczak, L. D. F. Influence of moderate electric field on inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase and on phenolic compounds of sugarcane juice treated by ohmic heating. *LWT Food Science and Technology*. 2016; 74: 396–403.
- (39) Broadhead, J., Edmond Rouan, S. K., Rhodes, C. T. The spray drying of pharmaceuticals. *Drug development and industrial pharmacy*. 1992; 18 (11-12): 1169-1206.
- (40) Masters, K. *Spray Drying Handbook*. 4. ed. Londres: George Godwin, 1985.
- (41) Nonhebel G., Moss A.A.H. *Drying of Solids in the Chemical Industry*. Butterworths. 1971; 253-263.
- (42) Rankell, A.S., Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. *Calouste Gulbenkian*. 2001; 1: 83-112.
- (43) Shaw, F. V. Spray drying as an alternative granulation technique. *Drugs and the pharmaceutical sciences*. 1997; 81: 75-98.
- (44) Sreedevi, P., Jayachandran, L. E., Rao, P. S. Kinetic modeling of high pressure induced inactivation of polyphenol oxidase in sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Journal of the Science of Food & Agriculture*. 2019; 99: 2365–2374.
- (45) Sreedevi, P., Rao, P. S. Microbial destruction kinetics of high pressure processed sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Journal of Food Process Engineering*. 2018; 41: e12850.
- (46) Sreedevi, P., Jayachandran, L. E., Rao, P. S. Browning and bioactive composition of sugarcane juice (*Saccharum officinarum*) as affected by high hydrostatic pressure processing. *Journal of Food Measurement & Characterization*. 2018; 12: 1962–1971.

- (47) Panigrahi, C., Mondal, M., Karmakar, S., Mishra, H. N., De, S. Shelf life extension of sugarcane juice by cross flow hollow fibre ultrafiltration. *Journal of Food Engineering*. 2020; 274: 109880.
- (48) Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., Dutta, S. Fruit juice processing using membrane technology: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2017; 43: 136–153.
- (49) Guerrero-Beltrán, J. A., Barbosa-Cánovas, G. V. Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*. 2004; 10: 137–147.
- (50) Ravikumar, M., Suthar, H., Desai, C., Gowda, S. A. Ultrasonication: An advanced technology for food preservation. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. 2017; 5: 363–371.
- (51) Pankaj, S. K., Wan, Z., Keener, K. M. Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods*. 2018; 7 (1): 4.
- (52) Ornellas, C. B. D., Gonçalves, M. P. J., Silva, P. R., Martins, R. T. Consumer attitude towards food irradiation. *Food Science & Technology*. 2006; 26: 211–213.
- (53) Prabha, V. I. T. H. U., Barma, R. D., Singh, R. A. N. J. I. T., Madan, A. Ozone technology in food processing: A review. *Trends in Biosciences*. 2015; 8: 4031–4047.

6. CAPÍTULO 3: MICROBIAL RISK RELATED TO SUGAR CANE JUICE CONSUMPTION

O resumo intitulado “Microbial Risk Related to Sugar Cane Juice Consumption” foi **apresentado** no 15º Simpósio Latino-Americano de Ciência de Alimentos e Nutrição.



MICROBIAL RISK RELATED TO SUGAR CANE JUICE CONSUMPTION

¹SANTOS, M.M.B.; ²HADDAD, V.M.; ³GOMES DA COSTA, K.; ⁴GARCIA-GOMES, A.S.

¹Instituto Federal do Rio de Janeiro – RJ, michellymilles@gmail.com

²Instituto Federal do Rio de Janeiro – RJ, vinicius.m.haddad@gmail.com

³ Instituto Federal do Rio de Janeiro – RJ, kelvingcosta@gmail.com

⁴ Instituto Federal do Rio de Janeiro – RJ, aline.gomes@ifrj.edu.br

Palavras-chave: sugar cane, microbial contamination, good handling practices

Sugarcane juice is a popular and highly consumed drink in Brazil due to its refreshing and sweet taste characteristics. Several studies indicate its high degree of microbial contamination. This contamination may be related to the sugarcane microbiota and to storage and handling conditions, indicating failures related to Good Handling Practices (GHP). In view of the above, this study aims to (1) create a GHP checklist suited to the reality of sugarcane juice sellers, and (2) describe the microbial profile of the beverage sold at street markets in the city of Rio de Janeiro. An adapted checklist, based on RDC 275/2002, targeted to the typical characteristics of street markets was created. So far, 12 sales points have been analyzed, as well as one drink sample of each of these points. Sugarcane juice was collected in original packaging and maintained under refrigeration until microbial analysis. Microbial quality was assessed by the search for IN 161/2022 standards, additionally the total bacterial profile was evaluated by cultivation on blood agar. Observational checklist showed that 100% of the sales point do not follow GHP, and stand out, for example: garbage piled up in the surrounding area; low frequency of hand washing; money and food handling by the same person, and wearing beards and ornaments). All juice samples presented high amount of *E. coli*, and some, *Salmonella* spp. These results together indicate that neither the environment, nor the drink, are suitable with current legislation, pointing to the urgent need for adaptations at sales points and local processing alternatives in order to guarantee the microbiological safety of the drink. As future perspectives, it is still necessary to define a total microbial profile (bacteria and protozoa) in order to design conservation strategies for this drink.

7. CAPÍTULO 4: ANALYSIS OF THE MICROBIAL LOAD OF SUGARCANE JUICE COLLECTED IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO

O resumo intitulado “Analysis of the Microbial Load of Sugarcane Juice Collected in the City of Rio De Janeiro” foi **submetido e aceito para ser apresentado** no 29º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.



ANALYSIS OF THE MICROBIAL LOAD OF SUGARCANE JUICE COLLECTED IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO

Michelly Milles Baptista DOS SANTOS¹; Vinicius Marins HADDAD²; Aline dos Santos GARCIA-GOMES^{3*}

¹ Student of the Professional Master's Degree in Food Science and Technology, Federal Institute of Rio de Janeiro - RJ

² Undergraduate student in Biological Sciences, Federal Institute of Rio de Janeiro - RJ

³ Professor of the Professional Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal Institute of Rio de Janeiro - RJ.

*E-mail for correspondence: aline.gomes@ifrj.edu.br

ABSTRACT:

Sugarcane juice is a drink consumed on a large scale in Brazil by people of all ages and social classes, especially during the hottest periods of the year. Its composition (high sugar concentration and water activity) favors microbial proliferation. Allied to this, the sugarcane juice production stage is where the greatest risks of contamination of the drink occur, due to poor equipment hygiene, inadequate storage of the sugarcane, or unsuitable handling conditions. Given the above, this study aims to (1) assess the microbiological quality according to current Brazilian legislation, and (2) identify the total bacterial profile of the drink. A total of 29 samples were collected, each from a market in Rio de Janeiro city, in their original packaging. The samples were kept refrigerated until the moment of the microbiological analysis, and the search for microorganisms recommended by IN 161/2022 was conducted, as well as the identification of the total bacterial profile (aerobic mesophilic) by cultivation on blood agar with subsequent identification by MALDI-TOF mass spectrometry. Of the samples analyzed, 100% (29) showed growth characteristics of *E. coli* and approximately 41% (12) showed colonies typical of *Salmonella* sp. Confirmation of the identity of the isolates is being carried out by MALDI-TOF. To date, the presence of *E. coli* has been confirmed in approximately 21% (6) of the samples collected; *Salmonella* sp. has not been confirmed. Concerning the total bacterial profile, several species were identified, the most frequent being: *Pantoea dispersa*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter bugandensis*, and *Klebsiella variicola*. The data obtained when compared with the legislation indicates that 21% of the samples are unsafe for consumption. However, the total profile data indicates the presence of potentially pathogenic bacteria even in samples considered fit for consumption, which indicates a risk to consumer health. Some isolates are still awaiting identification. This work highlights the need for training of handlers, since the vast majority of bacteria identified originate from the gastrointestinal tract, and also serves as a warning to inspection bodies about the need for frequent inspections at points of sale of this drink to comply with legislation.

Keywords: sugarcane juice; microbiological contamination; hygienic-sanitary conditions.



8. CONCLUSÃO

A partir dos dados analisados, conclui-se que, apesar da legislação vigente, ainda ocorre o consumo de caldo de cana impróprio microbiologicamente na cidade do Rio de Janeiro. Além disso, amostras que atendem aos padrões legais e são consideradas adequadas para consumo humano podem ainda representar riscos à saúde, especialmente a populações vulneráveis, por apresentarem microrganismos potencialmente patogênicos, evidenciando a ineficiência das estratégias governamentais na fiscalização dos pontos de venda para o adequado controle sanitário.

A análise do perfil bacteriano total do caldo de cana ressalta a importância crucial de práticas rigorosas de higiene e controle sanitário durante o processamento e armazenamento do produto, visando reduzir os riscos à saúde pública. A identificação das famílias bacterianas fornece informações essenciais para a implementação de medidas preventivas eficazes e a melhoria contínua da segurança alimentar neste contexto.

Em relação ao *checklist* aplicado, os resultados indicam uma necessidade significativa de melhorias nas condições higiênico-sanitárias dos feirantes. A maioria encontra-se em um nível preocupante de conformidade (Grupo 3), uma parte considerável está em um nível intermediário (Grupo 2) e nenhum atinge o nível desejado de alta conformidade (Grupo 1). Intervenções direcionadas, incluindo educação, fiscalização, suporte técnico e possivelmente incentivos financeiros, serão essenciais para elevar os padrões e garantir a segurança dos alimentos vendidos pelos feirantes.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT NBR ISO 22000:2018: **Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos – Requisitos para qualquer organização na cadeia alimentar.** Rio de Janeiro, 2018. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.

ABNT NBR 16221. **Cana-de-açúcar: extração do caldo pelo método de prensa hidráulica automática e determinação do peso do bolo úmido (PBU).** Brasil, 2019.

ABNT NBR 16222. **Cana-de-açúcar: extração do caldo pelo método do extrator a frio.** Brasil, 2019.

ANIS, M., & IQBAL, M. (1986). **Antipyretic utility of some Indian plants in traditional medicine.** *Fitoterapia*, 57, 52–55.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plantando Saúde: resolução estabelece normas de higiene para alimentos e bebidas à base de vegetais.** *Rev Saúde Públ.* 2005; 39(5): 861-4.

ATAÍDE, C. B. *et al.* **Qualidade microbiológica de Caldo de cana-de-açúcar comercializado em feira livre de União dos Palmares, Alagoas.** *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.* v. 14, n. 5, p. 650-653, 2019.

BIER, D. *et al.* Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* isolados de carcaças bovinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1373-1379, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022. **Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Portaria MAPA nº 123, de 13 de maio de 2021. **Estabelece os padrões de identidade e qualidade para bebida composta, chá, refresco, refrigerante, soda e, quando couber, os respectivos preparados sólidos e líquidos.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n.º 275, de 21 de outubro de 2002. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n.º 216, de 15 de setembro de 2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 218, de 29 de julho de 2005. **Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos higiênicosanitários para manipulação de alimentos e bebidas preparados com vegetais.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 717, de 01 de julho de 2022. **Dispõe sobre os requisitos sanitários das águas envasadas e do gelo para consumo humano.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 724, de 01 de julho de 2022. **Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação.** Diário Oficial da União, Brasília.

BRASIL. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2024.** Ministério da Saúde. Março de 2024.

BREZOVSKY, F. R. *et al.* Avaliação Microbiológica e Microscópica do Caldo de Cana Comercializado em Ji-Paraná. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 20, n. 2, p. 111-115, 2016.

CARDOSO A. V. N., *et al.* **Survival of Trypanosoma cruzi in sugar cane used to prepare juice.** Rev Inst Med Trop São Paulo. 2006; 48(5): 287-9.

CARVALHO, L. R.; MAGALHÃES, J. T. **Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna-BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores.** Revista Baiana de Saúde Pública, v. 31, n. 2, p. 238-245, 2007.

CARVALHO, L. R.; MAGALHÃES, J. T. Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna-BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 238, 2014.

CARVALHO, K. A. R. *et al.* **Condições Higiênico-sanitárias e qualidade microbiológica do caldo de cana “in natura” comercializado em Sinop-MT.** Scientific Electronic Archives, v. 15, n. 2, 2022.

CARVALHO, C. T. *et al.* **Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Natal-RN.** Revista Científica da Escola da Saúde, v. 5, n. 1, p. 95-104, 2016

CHENG, K. *et al.* Recent development of mass spectrometry and proteomics applications in identification and typing of bacteria. **PROTEOMICS–Clinical Applications**, v. 10, n. 4, p. 346-357, 2016.

CUÉNOD, Aline *et al.* Factors associated with MALDI-TOF mass spectral quality of species identification in clinical routine diagnostics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 646648, 2021.

DA MOTA, P. F. *et al.* Análise parasitológica de caldo-de-cana comercializados no Distrito Federal. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, v. 9, n. 1, p. 65-76, 2020.

DA SILVA, Natália Costa *et al.* **Avaliação das Boas Práticas de Fabricação na fabricação de cachaça de alambique de três regiões de Minas Gerais e do Sul Fluminense.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 4, p. 42441-42456, 2021.

DA SILVA, L. C. G. *et al.* **Análise Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado por Ambulantes em Cidades do Sul Fluminense–RJ.** Episteme Transversalis, v. 14, n. 3, p. 168-176, 2023.

DE AZEVEDO, A. M. F. *et al.* Análise parasitológica do caldo de cana e das condições higiênico-sanitárias do seu comércio no centro da cidade de Fortaleza, Ceará. **Nutrivisa-Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 1, n. 2, p. 20-25, 2014.

DE MATTOS, E. C. *et al.* Molecular detection of *Trypanosoma cruzi* in acai pulp and sugarcane juice. **Acta tropica**, v. 176, p. 311-315, 2017.

DUKE, J. A. **Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants.** Boca Raton, FL: CRC Press. 1992.

GALVÃO, K. N. C. *et al.* **Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes no município de campo Mourão-PR.** SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 14, n. 1, p. 21-26, 2019.

GASSEN, G. S. *et al.* **Análise da qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado em um município da região oeste do paraná.** In: Colloquium Vitae. ISSN: 1984-6436. 2017. p. 07-12.

HOMAIDA, M. A.; YAN, S.; YANG, H. Effects of ethanol treatment on inhibiting fresh-cut sugarcane enzymatic browning and microbial growth. **Food Science and Technology**, v. 77, p. 8-14, 2017.

HUMPHREY, A. M. **Chlorophyll as a color and functional ingredient.** Journal of Food Science, 69(5), C422–C425. 2004.

KARTHIKEYAN, J., & SAMIPILLAI, S. **Sugarcane in therapeutics.** Journal of Herbal Medicine and Toxicology, 4, 9–14. 2010.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock-14ª Edição.** Artmed Editora, 2016.

MADHAVI, R.; GAURI, D; SNEHAL, B; MILITA, V. A step towards enhancement of shelf life of sugarcane juice. **Editorial Board**, v. 9, n. 6, 2020.

MAIA, A. B. Valor nutricional do caldo de cana e potencial nutracêutico do caná–bebida fermentada do caldo de cana. **Research, Society and**

Development, v. 11, n. 3, p. e33811326112-e33811326112, 2022.

MAHALE, D. P.; KHADE, R. G.; VAIDYA, V. K. Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India. **Internet Journal of Food Safety**, v. 10, n. 9, p. 31-34, 2008.

NASCIMENTO, A. R. *et al.* Perfil microbiológico do caldo de cana comercializado na cidade de São Luís, MA. **Higiene Alimentar**, v. 20, n. 141, p. 83-86, 2006.

NAZÁRIO, J. A. J. & ALMEIDA E BORGES, L. F. de. Análise dos perigos microbiológicos em amostras de caldo de cana. **Hig. aliment**, p. e1109-e1109, 2022.

NOCELLI, R. C. F. *et al.* **Histórico da cana-de-açúcar no Brasil: contribuições e importância econômica.** Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica, p. 13, 2017.

NORBERG, A. N. *et al.* Análise qualitativa e quantitativa de caldos de cana comercializados na região da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à poluição por *Staphylococcus aureus*. **Ciência & Tecnologia**, v. 12, n. 2, p. 54-59, 2012.

OLIVEIRA, A. C. G. *et al.* Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 5, p. 1111-1114, 2006.

PANIGRAHI, C. *et al.* **A technological review on processing of sugarcane juice: Spoilage, preservation, storage, and packaging aspects.** Journal of Food Process Engineering, p. e13706, 2021.

PINA, F. A. N.; ESPINHEIRA, M. J. C. L.; DE SOUZA, F. M. Análise Parasitológica de Caldos de Cana Comercializados em Feiras Livres em uma Cidade no Interior da Bahia. **ID on line. Revista de psicologia**, v. 12, n. 40, p. 859-869, 2018.

PINTO P.L.S, *et al.* **Observações sobre a viabilidade do Trypanosoma cruzi no caldo de cana.** Rev Inst Med Trop São Paulo. 1990; 32(5): 325-7.

PRADO, S. P. T. *et al.* Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 55-61, 2010.

PRANGE, A. D. **Elaboração do manual de boas práticas de fabricação para uma microcervejaria.** Engenharia Química-Tubarão, 2017.

PRATI, P.; CAMARGO, G. A. **Características do caldo de cana e sua influência na estabilidade da bebida.** Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas, v. 2, n. 1, p. 37-44, 2008.

REIS, M. M.; SOUSA, Z. L. **Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Ilhéus-BA.** SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 14, n. 2, p. 18-24, 2019.

SANTOS, J. V. A. *et al.* Propriedades da cana-de-açúcar e qualidade da bebida brasileira caldo de cana. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do Instituto Federal da Paraíba**, v. 1, n. 56, p. 238, 2021.

SILVA, A. S. *et al.* **Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado na orla marítima da cidade de Salvador-Bahia.** Revista Virtual, v. 6, n. 2, p. 74-85, 2010.

SIMIONATO, E. M. R. S.; MAFEI, T. D. T. **Avaliação das condições higienicossanitárias de caldo de cana comercializado por ambulantes no município de Bauru/SP, Brasil.** Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research, v. 19, n. 2, p. 21-28, 2017.

SINGH, A. *et al.* **Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects.** Pharmacognosy Reviews, 9, 45. 2015.

SOLOMON, S., & SINGH, P. **Efficacy of electrolyzed water to minimize postharvest sucrose losses in sugarcane.** Sugar Technology, 11, 228–230, 2009.

SPRENGER, L. K. *et al.* **Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em Curitiba, Paraná.** Archives of Veterinary Science, v. 21, n. 4, 2016.

SUZUKI, A. F. *et al.* Oral Infection and Survival of *Trypanosoma cruzi* in Sugarcane Juice Conditioned at Different Temperatures. **Acta Parasitologica**, v. 69, n. 1, p. 251-259, 2024.

TERRITORIAL. Boletim de Análise da Conjuntura. 2018. Disponível em: <<https://fpabramo.org.br/wp-content/uploads/2018/05/Boletim-analise-conjuntura-25-territorial.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2024.

TSUCHIDA, Sachio; UMEMURA, Hiroshi; NAKAYAMA, Tomohiro. Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization–time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4775, 2020.

YUSOF, S., SHIAN, L. S., & OSMAN, A. **Changes in quality of sugar-cane juice upon delayed extraction and storage.** Food Chemistry, 68, 395–401. 2000.

XAVIER, C. G. S. *et al.* **Condições higiênico-sanitárias do caldo de cana de açúcar comercializado em Teresina–Piauí.** Pubvet, v. 12, p. 133, 2018.
ZAHA, A; FERREIRA, H. B.; , PASSAGLIA, L. M. P. **Biologia Molecular Básica-5ª Edição.** Artmed Editora, 2014.

APÊNDICE A – CHECKLIST ADAPTADO PARA BARRACAS DE CALDO DE CANA EM FEIRAS LIVRES E AMBIENTES SIMILARES

1. INSTALAÇÕES	
1.1 ÁREA EXTERNA:	
1.1.1 Área externa livre de focos de insalubridade, de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente, de vetores e outros animais no pátio e vizinhança; de focos de poeira; de acúmulo de lixo nas imediações, de água estagnada, dentre outros.	
1.1.2 Vias de acesso interno com superfície dura ou pavimentada, adequada ao trânsito sobre rodas, escoamento adequado e limpas	
1.2 PISO:	
1.2.1 Material que permite fácil e apropriada higienização (liso, resistente, drenados com declive, impermeável e outros)	
1.2.2 Em adequado estado de conservação (livre de defeitos, rachaduras, trincas, buracos e outros).	
1.3 VENTILAÇÃO E CLIMATIZAÇÃO:	
1.3.1 Ventilação e circulação de ar capazes de garantir o conforto térmico e o ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas	

em suspensão e condensação de vapores sem causar danos à produção.	
1.4 CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS URBANAS:	
1.4.1 Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes, ninhos e outros.	
1.4.2 Adoção de medidas preventivas e corretivas com o objetivo de impedir a atração, o abrigo, o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas.	
1.5 MANEJO DOS RESÍDUOS:	
1.5.1 Recipientes para coleta de resíduos no interior do estabelecimento de fácil higienização e transporte, devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados. Quando necessário, recipientes tampados com acionamento não manual.	
1.5.2 Retirada frequente dos resíduos da área de processamento, evitando focos de contaminação.	
1.5.3 Existência de área adequada para estocagem dos resíduos.	
2. EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS	
2.1 EQUIPAMENTOS:	

2.1.1 Dispostos de forma a permitir fácil acesso e higienização adequada.	
2.1.2 Superfícies em contato com alimentos lisas, íntegras, impermeáveis, resistentes à corrosão, de fácil higienização e de material não contaminante.	
2.1.3 Em adequado estado de conservação e funcionamento.	
2.1.4 Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores, congeladores, câmaras frigoríficas e outros), bem como os destinados ao processamento térmico, com medidor de temperatura localizado em local apropriado e em adequado funcionamento.	
2.2 MÓVEIS: (mesas, bancadas, vitrines, estantes)	
2.2.1 Em número suficiente, de material apropriado, resistentes, impermeáveis; em adequado estado de conservação, com superfícies íntegras.	
2.2.2 Com desenho que permita uma fácil higienização (lisos, sem rugosidades e frestas).	
2.3 UTENSÍLIOS:	
2.3.1 Material não contaminante, resistentes à corrosão, de tamanho e forma que permitam fácil higienização: em adequado	

estado de conservação e em número suficiente e apropriado ao tipo de operação utilizada.	
2.3.2 Armazenados em local apropriado, de forma organizada e protegidos contra a contaminação.	
3. MANIPULADORES	
3.1 VESTUÁRIO:	
3.1.1 Utilização de uniforme de trabalho de cor clara, adequado à atividade e exclusivo para área de produção.	
3.1.2 Limpos e em adequado estado de conservação.	
3.1.3 Asseio pessoal: boa apresentação, asseio corporal, mãos limpas, unhas curtas, sem esmalte, sem adornos (anéis, pulseiras, brincos, etc.); manipuladores barbeados, com os cabelos protegidos.	
3.2 HÁBITOS HIGIÊNICOS:	
3.2.1 Lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação de alimentos, principalmente após qualquer interrupção e depois do uso de sanitários.	

3.2.2 Manipuladores não espirram sobre os alimentos, não cospem, não tosse, não fumam, não manipulam dinheiro ou não praticam outros atos que possam contaminar o alimento.	
3.2.3 Cartazes de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem das mãos e demais hábitos de higiene, afixados em locais apropriados.	
4. PRODUÇÃO E TRANSPORTE DO ALIMENTO	
4.1 MATÉRIA-PRIMA, INGREDIENTES E EMBALAGENS:	
4.1.1 Armazenamento em local adequado e organizado; sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados e limpos, ou sobre outro sistema aprovado, afastados das paredes e distantes do teto de forma que permita apropriada higienização, iluminação e circulação de ar.	
4.1.2 Acondicionamento adequado das embalagens a serem utilizadas.	
4.2 ARMAZENAMENTO DO PRODUTO FINAL:	
4.2.1 Produto final acondicionado em embalagens adequadas e íntegras.	
4.2.2 Ausência de material estranho, estragado ou tóxico.	

ANEXO A – CHECKLIST DA RDC Nº 275 DE 2002

ANEXO II

LISTA DE VERIFICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO EM
ESTABELECIMENTOS PRODUTORES/INDUSTRIALIZADORES DE
ALIMENTOS

NÚMERO: /ANO		
A - IDENTIFICAÇÃO DA EMPRESA		
1-RAZÃO SOCIAL:		
2-NOME DE FANTASIA:		
3-ALVARÁ/LICENÇA SANITÁRIA:	4-INSCRIÇÃO ESTADUAL / MUNICIPAL:	
5-CNPJ / CPF:	6-FONE:	7-FAX:
8-E - mail:		
9-ENDEREÇO (Rua/Av.):	10-Nº:	11-Compl.:

12-BAIRRO:	13-MUNICÍPIO:	14-UF:	15-CEP:
16-RAMO DE ATIVIDADE:	17-PRODUÇÃO MENSAL:		
18-NÚMERO DE FUNCIONÁRIOS:	19-NÚMERO DE TURNOS:		
20-CATEGORIA DE PRODUTOS:			
Descrição da Categoria:			
21-RESPONSÁVEL TÉCNICO:	22-FORMAÇÃO ACADÊMICA:		
23-RESPONSÁVEL LEGAL/PROPRIETÁRIO DO ESTABELECIMENTO:			
24-MOTIVO DA INSPEÇÃO: () SOLICITAÇÃO DE LICENÇA SANITÁRIA () COMUNICAÇÃO DO INÍCIO DE FABRICAÇÃO DE PRODUTO DISPENSADO DA OBRIGATORIEDADE DE REGISTRO () SOLICITAÇÃO DE REGISTRO			

() PROGRAMAS ESPECÍFICOS DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA () VERIFICAÇÃO OU APURAÇÃO DE DENÚNCIA () INSPEÇÃO PROGRAMADA () REINSPEÇÃO
() RENOVAÇÃO DE LICENÇA SANITÁRIA () RENOVAÇÃO DE REGISTRO () OUTROS

B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
1. EDIFICAÇÃO E INSTALAÇÕES			
1.1 ÁREA EXTERNA:			
1.1.1 Área externa livre de focos de insalubridade, de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente, de vetores e outros animais no pátio e vizinhança; de focos de poeira; de acúmulo de lixo nas imediações, de água estagnada, dentre outros.			
1.1.2 Vias de acesso interno com superfície dura ou pavimentada, adequada ao trânsito sobre rodas, escoamento adequado e limpas			
1.2 ACESSO:			
1.2.1 Direto, não comum a outros usos (habitação).			
1.3 ÁREA INTERNA:			

1.3.1 Área interna livre de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente.			
1.4 PISO:			
1.4.1 Material que permite fácil e apropriada higienização (liso, resistente, drenados com declive, impermeável e outros).			
1.4.2 Em adequado estado de conservação (livre de defeitos, rachaduras, trincas, buracos e outros).			
1.4.3 Sistema de drenagem dimensionado adequadamente, sem acúmulo de resíduos. Drenos, ralos sifonados e grelhas colocados em locais adequados de forma a facilitar o escoamento e proteger contra a entrada de baratas, roedores etc.			
B – AVALIAÇÃO			
1.5.1 Acabamento liso, em cor clara, impermeável, de fácil limpeza e, quando for o caso, desinfecção.			
1.5.2 Em adequado estado de conservação (livre de trincas, rachaduras, umidade, bolor, descascamentos e outros).			
1.6 PAREDES E DIVISÓRIAS:			

1.6.1 Acabamento liso, impermeável e de fácil higienização até uma altura adequada para todas as operações. De cor clara.			
1.6.2 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.6.3 Existência de ângulos abaulados entre as paredes e o piso e entre as paredes e o teto.			
1.7 PORTAS:			
1.7.1 Com superfície lisa, de fácil higienização, ajustadas aos batentes, sem falhas de revestimento.			
1.7.2 Portas externas com fechamento automático (mola, sistema eletrônico ou outro) e com barreiras adequadas para impedir entrada de vetores e outros animais (telas milimétricas ou outro sistema).			
1.7.3 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.8 JANELAS E OUTRAS ABERTURAS:			
1.8.1 Com superfície lisa, de fácil higienização, ajustadas aos batentes, sem falhas de revestimento.			

1.8.2 Existência de proteção contra insetos e roedores (telas milimétricas ou outro sistema).			
1.8.3 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.9 ESCADAS, ELEVADORES DE SERVIÇO, MONTACARGAS E ESTRUTURAS AUXILIARES			
1.9.1 Construídos, localizados e utilizados de forma a não serem fontes de contaminação.			
1.9.2 De material apropriado, resistente, liso e impermeável, em adequado estado de conservação.			
1.10 INSTALAÇÕES SANITÁRIAS E VESTIÁRIOS PARA OS MANIPULADORES:			
1.10.1 Quando localizados isolados da área de produção, acesso realizado por passagens cobertas e calçadas.			
1.10.2 Independentes para cada sexo (conforme legislação específica), identificados e de uso exclusivo para manipuladores de alimentos.			
1.10.3 Instalações sanitárias com vasos sanitários; mictórios e lavatórios íntegros e em proporção adequada ao número de			

empregados (conforme legislação específica).			
1.10.4 Instalações sanitárias servidas de água corrente, dotadas preferencialmente de torneira com acionamento automático e conectadas à rede de esgoto ou fossa séptica.			
1.10.5 Ausência de comunicação direta (incluindo sistema de exaustão) com a área de trabalho e de refeições.			
1.10.6 Portas com fechamento automático (mola, sistema eletrônico ou outro).			
1.10.7 Pisos e paredes adequadas e apresentando satisfatório estado de conservação.			
1.10.8 Iluminação e ventilação adequadas.			
1.10.9 Instalações sanitárias dotadas de produtos destinados à higiene pessoal: papel higiênico, sabonete líquido inodoro anti-séptico ou sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de papel não reciclado para as mãos ou outro sistema higiênico e seguro para secagem.			
1.10.10 Presença de lixeiras com tampas e com acionamento não manual.			
1.10.11 Coleta freqüente do lixo.			

1.10.12 Presença de avisos com os procedimentos para lavagem das mãos.			
1.10.13 Vestiários com área compatível e armários individuais para todos os manipuladores.			
1.10.14 Duchas ou chuveiros em número suficiente (conforme legislação específica), com água fria ou com água quente e fria.			
1.10.15 Apresentam-se organizados e em adequado estado de conservação.			
1.11 INSTALAÇÕES SANITÁRIAS PARA VISITANTES E OUTROS:			
1.11.1 Instaladas totalmente independentes da área de produção e higienizados.			
1.12 LAVATÓRIOS NA ÁREA DE PRODUÇÃO:			
1.12.1 Existência de lavatórios na área de manipulação com água corrente, dotados preferencialmente de torneira com acionamento automático, em posições adequadas em relação ao fluxo de produção e serviço, e em número suficiente de modo a atender toda a área de produção			
1.12.2 Lavatórios em condições de higiene, dotados de sabonete líquido inodoro anti-séptico ou sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de papel não reciclado ou outro sistema higiênico e seguro de			

secagem e coletor de papel acionados sem contato manual.			
B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
1.13 ILUMINAÇÃO E INSTALAÇÃO ELÉTRICA:			
1.13.1 Natural ou artificial adequada à atividade desenvolvida, sem ofuscamento, reflexos fortes, sombras e contrastes excessivos.			
1.13.2 Luminárias com proteção adequada contra quebras e em adequado estado de conservação.			
1.13.3 Instalações elétricas embutidas ou quando exteriores revestidas por tubulações isolantes e presas a paredes e tetos.			
1.14 VENTILAÇÃO E CLIMATIZAÇÃO:			
1.14.1 Ventilação e circulação de ar capazes de garantir o conforto térmico e o ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas em suspensão e condensação de vapores sem causar danos à produção.			
1.14.2 Ventilação artificial por meio de equipamento(s) higienizado(s) e com manutenção adequada ao tipo de equipamento.			

1.14.3 Ambientes climatizados artificialmente com filtros adequados.			
1.14.4 Existência de registro periódico dos procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes do sistema de climatização (conforme legislação específica) afixado em local visível.			
1.14.5 Sistema de exaustão e ou insuflamento com troca de ar capaz de prevenir contaminações.			
1.14.6 Sistema de exaustão e ou insuflamento dotados de filtros adequados.			
1.14.7 Captação e direção da corrente de ar não seguem a direção da área contaminada para área limpa.			
1.15 HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES:			
1.15.1 Existência de um responsável pela operação de higienização comprovadamente capacitado.			
1.15.2 Frequência de higienização das instalações adequada.			
1.15.3 Existência de registro da higienização.			

1.15.4 Produtos de higienização regularizados pelo Ministério da Saúde.			
1.15.5 Disponibilidade dos produtos de higienização necessários à realização da operação.			
1.15.6 A diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso/aplicação obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante.			
1.15.7 Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.			
1.15.8 Disponibilidade e adequação dos utensílios (escovas, esponjas etc.) necessários à realização da operação. Em bom estado de conservação.			
1.15.9 Higienização adequada.			
1.16 CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS URBANAS:			
1.16.1 Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes, ninhos e outros.			
1.16.2 Adoção de medidas preventivas e corretivas com o objetivo de impedir a atração, o abrigo, o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas.			

1.16.3 Em caso de adoção de controle químico, existência de comprovante de execução do serviço expedido por empresa especializada.			
1.17 ABASTECIMENTO DE ÁGUA:			
1.17.1 Sistema de abastecimento ligado à rede pública.			
1.17.2 Sistema de captação própria, protegido, revestido e distante de fonte de contaminação.			
1.17.3 Reservatório de água acessível com instalação hidráulica com volume, pressão e temperatura adequados, dotado de tampas, em satisfatória condição de uso, livre de vazamentos, infiltrações e descascamentos.			
1.17.4 Existência de responsável comprovadamente capacitado para a higienização do reservatório da água.			
1.17.5 Apropriada freqüência de higienização do reservatório de água.			
1.17.6 Existência de registro da higienização do reservatório de água ou comprovante de execução de serviço em caso de terceirização.			
1.17.7 Encanamento em estado satisfatório e ausência de infiltrações e interconexões,			

evitando conexão cruzada entre água potável e não potável.			
1.17.8 Existência de planilha de registro da troca periódica do elemento filtrante.			
1.17.9 Potabilidade da água atestada por meio de laudos laboratoriais, com adequada periodicidade, assinados por técnico responsável pela análise ou expedidos por empresa terceirizada.			
1.17.10 Disponibilidade de reagentes e equipamentos necessários à análise da potabilidade de água realizadas no estabelecimento.			
1.17.11 Controle de potabilidade realizado por técnico comprovadamente capacitado.			
1.17.12 Gelo produzido com água potável, fabricado, manipulado e estocado sob condições sanitárias satisfatórias, quando destinado a entrar em contato com alimento ou superfície que entre em contato com alimento.			
1.17.13 Vapor gerado a partir de água potável quando utilizado em contato com o alimento ou superfície que entre em contato com o alimento.			
B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
1.18 MANEJO DOS RESÍDUOS:			

<p>1.18.1 Recipientes para coleta de resíduos no interior do estabelecimento de fácil higienização e transporte, devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados. Quando necessário, recipientes tampados com acionamento não manual.</p>			
<p>1.18.2 Retirada freqüente dos resíduos da área de processamento, evitando focos de contaminação.</p>			
<p>1.18.3 Existência de área adequada para estocagem dos resíduos.</p>			
<p>1.19 ESGOTAMENTO SANITÁRIO:</p>			
<p>1.19.1 Fossas, esgoto conectado à rede pública, caixas de gordura em adequado estado de conservação e funcionamento.</p>			
<p>1.20 LEIAUTE:</p>			
<p>1.20.1 Leiaute adequado ao processo produtivo: número, capacidade e distribuição das dependências de acordo com o ramo de atividade, volume de produção e expedição.</p>			
<p>1.20.2 Áreas para recepção e depósito de matéria-prima, ingredientes e embalagens distintas das áreas de produção, armazenamento e expedição de produto final.</p>			

OBSERVAÇÕES			
B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
2. EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS			
2.1 EQUIPAMENTOS:			
2.1.1 Equipamentos da linha de produção com desenho e número adequado ao ramo.			
2.1.2 Dispostos de forma a permitir fácil acesso e higienização adequada.			
2.1.3 Superfícies em contato com alimentos lisas, íntegras, impermeáveis, resistentes à corrosão, de fácil higienização e de material não contaminante.			
2.1.4 Em adequado estado de conservação e funcionamento.			
2.1.5 Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores, congeladores, câmaras frigoríficas e outros), bem como os destinados ao processamento térmico, com medidor de temperatura localizado em local apropriado e em adequado funcionamento.			
2.1.6 Existência de planilhas de registro da temperatura, conservadas durante período adequado.			

2.1.7 Existência de registros que comprovem que os equipamentos e maquinários passam por manutenção preventiva.			
2.1.8 Existência de registros que comprovem a calibração dos instrumentos e equipamentos de medição ou comprovante da execução do serviço quando a calibração for realizada por empresas terceirizadas.			
2.2 MÓVEIS: (mesas, bancadas, vitrines, estantes)			
2.2.1 Em número suficiente, de material apropriado, resistentes, impermeáveis; em adequado estado de conservação, com superfícies íntegras.			
2.2.2 Com desenho que permita uma fácil higienização (lisos, sem rugosidades e frestas).			
2.3 UTENSÍLIOS:			
2.3.1 Material não contaminante, resistentes à corrosão, de tamanho e forma que permitam fácil higienização: em adequado estado de conservação e em número suficiente e apropriado ao tipo de operação utilizada.			
2.3.2 Armazenados em local apropriado, de forma organizada e protegidos contra a contaminação.			

2.4 HIGIENIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS E MAQUINÁRIOS, E DOS MÓVEIS E UTENSÍLIOS:			
2.4.1 Existência de um responsável pela operação de higienização comprovadamente capacitado.			
2.4.2 Frequência de higienização adequada.			
2.4.3 Existência de registro da higienização.			
2.4.4 Produtos de higienização regularizados pelo Ministério da Saúde.			
2.4.5 Disponibilidade dos produtos de higienização necessários à realização da operação.			
2.4.6 Diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso/aplicação obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante.			
2.4.7 Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.			
2.4.8 Disponibilidade e adequação dos utensílios necessários à realização da operação. Em bom estado de conservação.			
2.4.9 Adequada higienização.			

OBSERVAÇÕES			
B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
3. MANIPULADORES			
3.1 VESTUÁRIO:			
3.1.1 Utilização de uniforme de trabalho de cor clara, adequado à atividade e exclusivo para área de produção.			
3.1.2 Limpos e em adequado estado de conservação.			
3.1.3 Asseio pessoal: boa apresentação, asseio corporal, mãos limpas, unhas curtas, sem esmalte, sem adornos (anéis, pulseiras, brincos, etc.); manipuladores barbeados, com os cabelos protegidos.			
3.2 HÁBITOS HIGIÊNICOS:			
3.2.1 Lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação de alimentos, principalmente após qualquer interrupção e depois do uso de sanitários.			
3.2.2 Manipuladores não espirram sobre os alimentos, não cospem, não tosem, não fumam, não manipulam dinheiro ou não praticam outros atos que possam contaminar o alimento.			

3.2.3 Cartazes de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem das mãos e demais hábitos de higiene, afixados em locais apropriados.			
3.3 ESTADO DE SAÚDE:			
3.3.1 Ausência de afecções cutâneas, feridas e supurações; ausência de sintomas e infecções respiratórias, gastrointestinais e oculares.			
3.4 PROGRAMA DE CONTROLE DE SAÚDE:			
3.4.1 Existência de supervisão periódica do estado de saúde dos manipuladores.			
3.4.2 Existência de registro dos exames realizados.			
3.5 EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL:			
3.5.1 Utilização de Equipamento de Proteção Individual.			
3.6 PROGRAMA DE CAPACITAÇÃO DOS MANIPULADORES E SUPERVISÃO:			
3.6.1 Existência de programa de capacitação adequado e contínuo			

relacionado à higiene pessoal e à manipulação dos alimentos.			
3.6.2 Existência de registros dessas capacitações.			
3.6.3 Existência de supervisão da higiene pessoal e manipulação dos alimentos.			
3.6.4 Existência de supervisor comprovadamente capacitado.			
OBSERVAÇÕES			
B - AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
4. PRODUÇÃO E TRANSPORTE DO ALIMENTO			
4.1 MATÉRIA-PRIMA, INGREDIENTES E EMBALAGENS:			
4.1.1 Operações de recepção da matéria-prima, ingredientes e embalagens são realizadas em local protegido e isolado da área de processamento.			
4.1.2 Matérias - primas, ingredientes e embalagens inspecionados na recepção.			
4.1.3 Existência de planilhas de controle na recepção (temperatura e características			

sensoriais, condições de transporte e outros).			
4.1.4 Matérias-primas e ingredientes aguardando liberação e aqueles aprovados estão devidamente identificados.			
4.1.5 Matérias-primas, ingredientes e embalagens reprovados no controle efetuado na recepção são devolvidos imediatamente ou identificados e armazenados em local separado.			
4.1.6 Rótulos da matéria-prima e ingredientes atendem à legislação.			
4.1.7 Critérios estabelecidos para a seleção das matérias-primas são baseados na segurança do alimento.			
4.1.8 Armazenamento em local adequado e organizado; sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados e limpos, ou sobre outro sistema aprovado, afastados das paredes e distantes do teto de forma que permita apropriada higienização, iluminação e circulação de ar.			
4.1.9 Uso das matérias-primas, ingredientes e embalagens respeita a ordem de entrada dos mesmos, sendo observado o prazo de validade.			
4.1.10 Acondicionamento adequado das embalagens a serem utilizadas.			

4.1.11 Rede de frio adequada ao volume e aos diferentes tipos de matérias-primas e ingredientes.			
4.2 FLUXO DE PRODUÇÃO:			
4.2.1 Locais para pré - preparo ("área suja") isolados da área de preparo por barreira física ou técnica.			
4.2.2 Controle da circulação e acesso do pessoal.			
4.2.3 Conservação adequada de materiais destinados ao reprocessamento.			
4.2.4 Ordenado, linear e sem cruzamento.			
B – AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
4.3 ROTULAGEM E ARMAZENAMENTO DO PRODUTO-FINAL:			
4.3.1 Dizeres de rotulagem com identificação visível e de acordo com a legislação vigente.			
4.3.2 Produto final acondicionado em embalagens adequadas e íntegras.			
4.3.3 Alimentos armazenados separados por tipo ou grupo, sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados			

e limpos ou sobre outro sistema aprovado, afastados das paredes e distantes do teto de forma a permitir apropriada higienização, iluminação e circulação de ar.			
4.3.4 Ausência de material estranho, estragado ou tóxico.			
4.3.5 Armazenamento em local limpo e conservado			
4.3.6 Controle adequado e existência de planilha de registro de temperatura, para ambientes com controle térmico.			
4.3.7 Rede de frio adequada ao volume e aos diferentes tipos de alimentos.			
4.3.8 Produtos avariados, com prazo de validade vencido, devolvidos ou recolhidos do mercado devidamente identificados e armazenados em local separado e de forma organizada.			
4.3.9 Produtos finais aguardando resultado analítico ou em quarentena e aqueles aprovados devidamente identificados.			
4.4 CONTROLE DE QUALIDADE DO PRODUTO FINAL:			
4.4.1 Existência de controle de qualidade do produto final.			

4.4.2 Existência de programa de amostragem para análise laboratorial do produto final.			
4.4.3 Existência de laudo laboratorial atestando o controle de qualidade do produto final, assinado pelo técnico da empresa responsável pela análise ou expedido por empresa terceirizada.			
4.4.4 Existência de equipamentos e materiais necessários para análise do produto final realizadas no estabelecimento.			
4.5 TRANSPORTE DO PRODUTO FINAL:			
4.5.1 Produto transportado na temperatura especificada no rótulo.			
4.5.2 Veículo limpo, com cobertura para proteção de carga. Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes, ninhos e outros.			
4.5.3 Transporte mantém a integridade do produto.			
4.5.4 Veículo não transporta outras cargas que comprometam a segurança do produto.			
4.5.5 Presença de equipamento para controle de temperatura quando se transporta alimentos que necessitam de condições especiais de conservação.			

OBSERVAÇÕES			
B - AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
5. DOCUMENTAÇÃO			
5.1 MANUAL DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO:			
5.1.1 Operações executadas no estabelecimento estão de acordo com o Manual de Boas Práticas de Fabricação.			
5.2 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS:			
5.2.1 Higienização das instalações, equipamentos e utensílios:			
5.2.1.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.1.2 POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.2 Controle de potabilidade da água:			
5.2.2.1 Existência de POP estabelecido para controle de potabilidade da água.			
5.2.2.2 POP descrito está sendo cumprido.			

5.2.3 Higiene e saúde dos manipuladores:			
5.2.3.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.3.2 POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.4 Manejo dos resíduos:			
5.2.4.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.4.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.5 Manutenção preventiva e calibração de equipamentos.			
5.2.5.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.5.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.6 Controle integrado de vetores e pragas urbanas:			
5.2.6.1 Existência de POP estabelecido para este item.			

5.2.6.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.7 Seleção das matérias-primas, ingredientes e embalagens:			
5.2.7.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.7.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
B - AVALIAÇÃO	SIM	NÃO	NA(*)
5.2.8 Programa de recolhimento de alimentos:			
5.2.8.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.8.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
OBSERVAÇÕES			
C - CONSIDERAÇÕES FINAIS			

D - CLASSIFICAÇÃO DO ESTABELECIMENTO

Compete aos órgãos de vigilância sanitária estaduais e distrital, em articulação com o órgão competente no âmbito federal, a construção do panorama sanitário dos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos, mediante sistematização dos dados obtidos nesse item. O panorama sanitário será utilizado como critério para definição e priorização das estratégias institucionais de intervenção.

() GRUPO 1 - 76 A 100% de atendimento dos itens () GRUPO 2 - 51 A 75% de atendimento dos itens () GRUPO 3 - 0 A 50% de atendimento dos itens

E - RESPONSÁVEIS PELA INSPEÇÃO

Nome e assinatura do responsável Matrícula:	Nome e assinatura do responsável Matrícula:

F - RESPONSÁVEL PELA EMPRESA

Nome e assinatura do responsável pelo estabelecimento

(*) NA: Não se aplica