**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Qualidade microbiológica de amostras de açúcar mascavo

Daniele Almeida de Jesus

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos**

**Piracicaba
2010**

**Daniele Almeida de Jesus
Engenheira Agrônoma**

Qualidade microbiológica de amostras de açúcar mascavo

**Orientador:
Prof. Dr. CLAUDIO ROSA GALLO**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos**

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Jesus, Daniele Almeida de

Qualidade microbiológica de amostras de açúcar mascavo / Daniele Almeida de Jesus. - -
Piracicaba, 2010.
95 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Açúcar mascavo - Qualidade 2. Água - Atividade 3. Análise de alimentos 4. Microbiologia
de alimentos I. Título

CDD 664.13
J58p

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Ao meu filho Luís Otávio
Por ser a maior razão da minha felicidade
Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e por me ajudar a superar momentos difíceis durante a caminhada.

Ao Prof. Dr. Claudio Rosa Gallo pela oportunidade, orientação e amizade.

Ao meu marido Wagner por estar sempre ao meu lado me dando apoio e carinho.

Ao meu querido filho Luís Otávio, por fazer minha vida mais feliz.

À minha mãe Maria José e minha irmã Cristiane, pelo carinho e incentivo.

Ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Esalq/USP pela contribuição com os materiais utilizados.

Às técnicas Cecília, Cleomar e Rosalina, pela colaboração nas análises microbiológicas.

Ao pesquisador Dr. Eduardo Micotti da Glória e ao laboratório de Micotoxinas, pela colaboração com as análises de atividade de água.

Aos Professores do CCA/UFSCar: Clóvis Parazzi, Octávio Antônio Valsechi, Jorge Corrêa Lopes, Cláudio H. Lopes e Marta Regina Verruma Bernardi pelo incentivo no ingresso ao mestrado e pela ajuda sempre que necessário.

Ao Prof. Dr. Norberto Antônio Lavorenti pela ajuda com as análises estatísticas.

À Maria Helena Sachi do Amaral do CCA/UFSCar pela ajuda nas correções bibliográficas.

À Thais Helena Zanin de Mello, pela ajuda e amizade.

Às amigas, Bruna, Marina, Tarsila, Tatiane e Jéssica pela amizade.

Ao colega José Paulo, pela amizade e companhia nas viagens diárias.

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano”.

Isaac Newton

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Cana-de-açúcar.....	21
2.2 Açúcar mascavo.....	22
2.3 Aspectos microbiológicos do açúcar	31
2.4 Microrganismos de interesse na pesquisa	35
2.4.1 Esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”	35
2.4.2 Esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S (<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>)	36
2.4.3 Esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H ₂ S (<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>).....	37
2.4.4 Fungos (Bolores e Leveduras)	38
2.4.5 Bactérias mesófilas	39
2.4.6 Coliformes totais e termotolerantes.....	40
2.4.7 <i>Salmonella</i>	41
3 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 Obtenção das amostras	45
3.2 Análises microbiológicas	46
3.2.1 Preparo das amostras para as análises microbiológicas.....	46
3.2.2 Contagem de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”	47
3.2.3 Detecção de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S (<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>)	48
3.2.4 Contagem de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H ₂ S (<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>)	49
3.2.5 Contagem de bactérias mesófilas totais (aeróbias).....	50
3.2.6 Contagem de fungos (leveduras e bolores).....	51
3.2.7 <i>Salmonella</i>	52

3.2.8 Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes	55
3.3 Análises de umidade e atividade de água	56
3.3.1 Umidade	56
3.3.2 Atividade de água	56
3.3.3 Análise Estatística.....	57
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1 Resultados das análises microbiológicas para bactérias mesófilas.....	59
4.2 Resultados das análises microbiológicas para bolores e leveduras	62
4.3 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S.....	64
4.4 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”	66
4.5 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H ₂ S, <i>Salmonella</i> , coliformes totais e termotolerantes	68
4.6 Percentual de adequação das marcas analisadas	71
4.7 Resultados da determinação de umidade.....	75
4.8 Resultados da determinação da atividade de água	79
5 CONCLUSÕES.....	83
REFERÊNCIAS	85
APÊNDICE	92

RESUMO

Qualidade microbiológica de amostras de açúcar mascavo

Amostras de açúcar mascavo disponíveis em diferentes estabelecimentos comerciais no município de Araras - SP foram adquiridas para análises. No total foram coletados 49 pacotes de açúcar durante um período de quatro meses. As análises foram realizadas com o objetivo de avaliar a qualidade desse produto oferecido ao consumidor. As análises microbiológicas foram realizadas considerando a pesquisa dos seguintes microrganismos: bactérias mesófilas, bolores e leveduras, esporos de bactérias termófilas “flat-sour”, esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H₂S, esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S, *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes. Ainda foram determinadas a umidade (%) e atividade de água das amostras. Os resultados das análises apresentaram variações nas concentrações dos microrganismos estudados, cabendo às bactérias mesófilas e aos esporos de termófilas “flat-sour” as contagens mais elevadas, seguidos por bolores e leveduras. Todas as marcas apresentaram ausência de *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes, atendendo a legislação brasileira. Em relação ao padrão da National Canners Association apenas as marcas A, G, H e J estavam adequadas a essas exigências, as demais estavam em desacordo. Para o padrão da International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA), nenhuma marca obteve resultado satisfatório em relação à qualidade microbiológica. Os teores de umidade variaram de 1,94 a 3,63% e os valores de atividade de água variaram de 0,55 a 0,64, havendo diferença significativa ao nível de 5% de significância. Pelos resultados obtidos considera-se que as marcas comercializadas estão de acordo com a legislação vigente no país, porém a maioria das marcas não atende aos padrões internacionais.

Palavras-chave: Açúcar mascavo; Qualidade microbiológica; Atividade de água; Umidade

ABSTRACT

Microbiological quality of samples of brown sugar

Samples of brown sugar available in different establishments in the city of Araras - SP were acquired for analysis. In the total 49 packages of sugar were collected during a period of four months. The analyses were performed to evaluate the quality of that product for the consumer. Microbiological tests were performed to search the following microorganisms: mesophilic bacteria, yeasts and molds, thermophilic flat-sour spores, thermophilic anaerobic H₂S-producing spores, thermophilic anaerobic non-producing H₂S spores, *Salmonella* and total and thermotolerant coliforms. Also humidity (%) and water activity were determined for the samples. The analysis results presented variations in the concentrations of microorganisms studied, being the mesophilic bacteria and thermophilic "flat-sour" spores the ones with highest scores, followed by yeasts and molds. All brands showed absence of *Salmonella* and total and thermotolerant coliforms, in accordance with the Brazilian legislation. Regarding the National Canners Association standards, only brands A, G, H and J were suited to these demands, the others being in disagreement. For the International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA), standards no brands obtained satisfactory results in relation to microbiological quality. The moisture content ranged from 1.94 to 3.63% and the values of water activity ranged from 0.55 to 0.64, significant difference at 5% significance level. By the results it is considered that the brands are marketed under the law of the country, but most brands do not meet international standards. Humidity rates ranged from 1.94 to 3.63% and water activity ranged from 0.55 to 0.64, with significant difference at 5% significance level. By the results obtained it is considered that all brands sold are in accordance to the laws of the country, but most brands do not meet the international standards.

Keywords: Brown sugar, Microbiological quality, Water activity; Humidity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da fabricação do açúcar mascavo granulado	24
Figura 2 - Fluxograma da fabricação do açúcar mascavo cristalizado	25
Figura 3 - Taxas generalizadas de reações de deterioração em alimentos como função da atividade de água em temperatura ambiente	32
Figura 4 – Preparo das amostras	47
Figura 5 – Esquema de análise para contagem de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”	48
Figura 6 – Esquema de análise para detecção de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S	49
Figura 7 – Esquema de análise para contagem de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H ₂ S	50
Figura 8 – Esquema de análise para contagem de bactérias mesófilas	51
Figura 9 – Esquema de análise para contagem de bolores e leveduras	52
Figura 10 – Câmara de inoculação	53
Figura 11 – Câmara de motilidade	53
Figura 12 - Procedimento para detecção de <i>Salmonella</i> spp.	54
Figura 13 – Imunobanda característica de positividade para <i>Salmonella</i>	55
Figura 14 - Estimativa de coliformes totais e termotolerantes pelo método do número mais provável	56
Figura 15 – Aparelho utilizado para avaliação da atividade de água	57
Figura 16 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bactérias mesófilas pela National Canners Association	61
Figura 17 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bactérias mesófilas pela ICUMSA.....	62
Figura 18 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bolores e leveduras pela National Canners Association	63

Figura 19 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bolores e leveduras pela ICUMSA.....	64
Figura 20 – Presença de esporos de bactérias termófilas não produtoras de H ₂ S (formação de gás).....	65
Figura 21 - Percentual de amostras que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S pela National Canners Association e ICUMSA.....	66
Figura 22 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias aeróbias “flat-sour” pela National Canners Association e ICUMSA.....	68
Figura 23 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H ₂ S, <i>Salmonella</i> , coliformes totais e termotolerantes pela ANVISA, National Canners Association e ICUMSA.....	71
Figura 24 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão ANVISA.....	72
Figura 25 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão National Canners Association.....	72
Figura 26 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão ICUMSA.....	73
Figura 27 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões microbiológicos tolerados pela ANVISA (coliformes e <i>Salmonella</i>)	74
Figura 28 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões microbiológicos tolerados pela National Canners Association (mesófilas, bolores e leveduras, H ₂ S (+), H ₂ S (-), esporos “flat-sour”, <i>Salmonella</i> e coliformes).....	74
Figura 29 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados pela ICUMSA (mesófilas, bolores e leveduras, H ₂ S (+), H ₂ S (-), esporos “flat-sour” e coliformes)	75
Figura 30 – Valores de umidade (%) das amostras analisadas.....	77
Figura 31 – Valores de atividade de água das amostras analisadas.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção mundial de açúcar mascavo (1998).....	23
Tabela 2 - Composição tecnológica do açúcar mascavo.....	29
Tabela 3 - Comparação do valor nutritivo (em 100 gramas) dos açúcares refinado, mascavo e cristal.....	30
Tabela 4 - Padrões microbiológicos utilizados para açúcares.....	59
Tabela 5 - Análises microbiológicas de bactérias mesófilas.....	60
Tabela 6 - Análises microbiológicas de bolores e leveduras.....	62
Tabela 7 - Análises de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H ₂ S.....	65
Tabela 8 - Análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”.....	66
Tabela 9 - Resultados das análises de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H ₂ S.....	68
Tabela 10 - Resultados das análises microbiológicas de <i>Salmonella</i>	69
Tabela 11 - Resultados das análises microbiológicas para bactérias do grupo coliformes.....	69
Tabela 12 -Valores obtidos na determinação da umidade.....	76
Tabela 13 - Análise estatística para os valores de umidade (%).....	76
Tabela 14 - Diferença entre médias das marcas para a variável umidade (%).....	77
Tabela 15 - Valores obtidos na determinação da atividade de água.....	79
Tabela 16 - Análise estatística para os valores de atividade de água.....	79
Tabela 17 - Diferença entre médias das marcas para a variável atividade de água.....	80

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a busca pela qualidade em todos os setores da atividade humana é crescente, especialmente para os alimentos. Sendo assim, faz-se necessário que os mesmos sejam produzidos com qualidade e livres de contaminações nocivas à saúde do consumidor.

Cada vez mais as populações têm modificado seus hábitos alimentares procurando consumir produtos que não tenham sido submetidos a rigorosos processamentos industriais, nem tenham recebido adição de muitos produtos químicos em sua fabricação (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007).

Nos últimos anos, têm sido verificadas mudanças tanto na produção quanto na comercialização de açúcar em todo mundo, com reflexos significativos na produção brasileira. O mercado tem-se tornado mais exigente em termos de qualidade e segurança no produto, com preferência em tipos especiais de açúcar (SOARES et al., 2008).

Devido a esse interesse crescente dos consumidores, o setor canavieiro na busca por produtos naturais, redescobriu o açúcar mascavo, que era produzido em larga escala até o início do século XX, quando os pequenos engenhos se transformaram em usinas de açúcar ou fecharam, reduzindo sua produção a quantias insignificantes e restritas a uma atividade industrial familiar (LOPES; BORGES, 1998).

O sucesso do açúcar como alimento e fonte calórica barata de amplo consumo, é decorrente de uma lenta evolução da qual foram ampliando suas formas de uso (RAMOS; STOREL JÚNIOR, 2001). O açúcar, além de seu uso mais comum como adoçante, é também a matéria-prima principal utilizada na elaboração de sobremesas como geléias, compotas, pudins e outros produtos adocicados, que posteriormente podem apresentar deterioração se o açúcar estiver contaminado (HOFFMANN; CRUZ; VINTURIM, 1992).

Os diferentes tipos de açúcar como o cristal, refinado, mascavo e o açúcar líquido trazem consigo características físicas e biológicas distintas, com variável tempo de prateleira, podendo ainda ser mais ou menos favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos.

O teor de umidade dos açúcares com exceção ao líquido é baixo, o que dificulta o desenvolvimento de microrganismos nos mesmos, mas pelo fato do açúcar ser altamente higroscópico, existe então o risco de ocorrer alterações microbianas.

Os compradores de açúcar, principalmente das indústrias de alimentos e bebidas, têm exigido além das especificações tecnológicas, a qualidade microbiológica do açúcar. Recentemente o açúcar passou a ser tratado como um produto alimentício, no qual a qualidade é fundamental, já que muitas vezes é a base essencial para a elaboração de diversos tipos de alimentos e bebidas, além de ser consumido *in natura* (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007).

Sendo assim a microbiologia do açúcar vem assumindo uma importância cada vez maior no setor de bebidas e alimentos. Neste caso, a presença de microrganismos pode afetar a qualidade do produto final no qual será utilizado como ingrediente. O açúcar que estiver fora dos padrões microbiológicos de qualidade e for utilizado como ingrediente no preparo de alimentos poderá causar prejuízos, não só econômicos como também os relacionados à saúde pública, em virtude da posterior deterioração que o produto possa apresentar.

A produção de açúcar mascavo tem na cana-de-açúcar a sua base de produção, sendo grande parte desse produto proveniente da agricultura familiar (TOMASETTO; LIMA; SHIKIDA, 2009). Tem como característica a sua produção, normalmente em pequenas quantidades e praticamente artesanal. Esse açúcar é um produto que não suporta longos períodos de armazenamento, devido principalmente ao seu alto teor de umidade e de impurezas, características das práticas adotadas na fabricação.

A comercialização do açúcar mascavo visa atender às condições de demanda, sobretudo com relação às exigências de um público que busca alimentação à base de produtos naturais (SANTOS; PESSOA; VASCONCELOS, 1997).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de dez marcas de açúcar mascavo comercializadas na cidade de Araras – SP, através de análises microbiológicas, determinação da atividade de água e umidade, visando obter informações sobre a qualidade dos produtos disponíveis aos consumidores, que vem buscando o consumo de alimentos saudáveis e produzidos de forma artesanal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é originária da Nova Guiné e foi levada para o sul da Ásia, onde foi utilizada inicialmente na forma de xarope. A primeira evidência do açúcar em sua forma sólida, data do ano 500, na Pérsia (MOZAMBANI et al., 2006).

No Brasil há indícios de que o cultivo da cana-de-açúcar seja anterior à época do descobrimento, mas seu desenvolvimento se deu posteriormente com a criação de engenhos e plantações com mudas trazidas pelos portugueses (MOZAMBANI et al., 2006).

Atualmente o Brasil é líder na produção canavieira no mundo, seguido da Índia, China e Tailândia (VEIGA FILHO; FRONZAGLIA; TORQUATO, 2008). Segundo a União da Indústria de Cana-de-Açúcar – UNICA (2010), na safra 2008/2009 o Brasil produziu 569 milhões de toneladas de cana numa área de 6,7 milhões de ha. Na mesma safra, a produção de açúcar foi de 31 milhões de toneladas.

A cana-de-açúcar é uma cultura que apresenta grande versatilidade, pois além de ser a principal matéria-prima para a produção do açúcar, álcool, aguardente, açúcar mascavo, rapadura, melado, desde tempos remotos, também pode ser utilizada na alimentação animal (ANJOS; SILVA; CAMPANA, 2008).

A cana-de-açúcar é adaptada às condições de alta intensidade luminosa acompanhada de estação chuvosa e seguida por período seco e menor intensidade luminosa. Em relação à temperatura ideal, pode-se citar 32°C para a germinação e 20 a 28°C para o crescimento. Para a maturação são necessárias temperaturas mais amenas, por volta de 12 a 20°C, que influenciam no acúmulo de sacarose (CASAGRANDE, 1991 apud NATALINO, 2006).

A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que possui sacarose industrializável. A composição química dos colmos é extremamente variável em função de diversos fatores como a idade fisiológica da cultura, condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação, propriedades químicas, físicas e microbiológicas do solo, tipo de cultivo entre outros (PARANHOS, 1987).

Segundo Lavanholi (2008) a cana é composta por fibra e caldo. As fibras são consideradas sólidos insolúveis. O caldo é composto por água e por sólidos solúveis (açúcares e não açúcares). Cerca de 8 a 14% é representado por fibras, o caldo representa de 86 a 92%, constituído, em média de 75 a 82% de água e 18 a 25% de sólidos solúveis. Os sólidos solúveis são açúcares (15 a 24%) e não açúcares (1 a 2,5%). Os açúcares presentes são a sacarose (14 a 24%), a glicose (0,2 a 1%) e a frutose (0,2 a 1%).

Para Delgado e Delgado (1999) a escolha e o manejo da matéria-prima devem merecer cuidados especiais por parte dos produtores de açúcar mascavo. Dentre as características da matéria-prima que mais favorecem a produção de açúcar mascavo, destacam-se variedade de cana-de-açúcar rica em sacarose, com baixos teores de fibra, cinzas e substâncias nitrogenadas. Além disso, a matéria-prima deve ser industrializada dentro do período de melhor maturação, ser colhida e despalhada sem o uso do fogo, ser bem despontada e industrializada dentro do período máximo de 48 horas.

As características ideais para a cana-de-açúcar dependem da região, variedade, tipo de solo, sendo que em geral a cana está apta para produzir açúcar mascavo quando o seu teor de sacarose supera 16%, que é atingido quando o seu teor de sólidos solúveis (°Brix) for superior a 18 (LOPES; BORGES, 1998).

De acordo com Mujica, Guerra e Soto (2008), a variedade da cana-de-açúcar é um fator importante para a qualidade do açúcar mascavo, podendo influenciar significativamente na qualidade do produto em relação aos açúcares redutores, pH e cor do produto. A utilização de variedades não apropriadas para a produção de açúcar mascavo se traduz em baixos rendimentos e baixa qualidade do produto acabado, limitando o acesso aos mercados (DABOIN H; MARTÍNEZ; SEGOVIA, 2005).

2.2 Açúcar mascavo

O açúcar mascavo como é conhecido no Brasil, é denominado em outros países como Peru, México e Chile por *chancaca*, na Colômbia como *panela*, na Costa Rica por *piloncillo*, na Venezuela como *papelón*, na Índia como *gur*, nas Filipinas como *muscovado sugar* e como *black sugar* no Japão e Taiwan (CASTILLO ORTIZ;

GANCHOZO MONCAYO, 2004). No mundo cerca de trinta países produzem açúcar mascavo (VELÁSQUEZ ARREDONDO; CHEJNE JANNA; AGUDELO SANTAMARÍA, 2004). Na Tabela 1, encontra-se a produção mundial de açúcar mascavo.

Segundo Delgado e Delgado (1999) o açúcar mascavo é classificado em granulado (ou batido) e cristalizado de acordo com a maneira que foi produzido (Figuras 1 e 2).

Tabela 1 - Produção mundial de açúcar mascavo (1998)

País	Produção (Mil toneladas)	Participação na Produção (%)	Consumo <i>per capita</i> (kg/ano)
1. Índia	9,857	71,3	10,0
2. Colômbia	1,276	9,2	31,2
3. Paquistão	743	5,4	5,0
4. China	458	3,3	0,4
5. Bangladesh	440	3,2	3,5
6. Myanmar	354	2,6	8,0
7. Brasil	240	1,7	1,4
8. Filipinas	108	0,8	1,5
9. Guatemala	56	0,4	5,2
10. México	51	0,4	0,5
11. Indonésia	39	0,3	0,2
12. Honduras	27	0,2	4,4
Outros países	172	1,2	N.D
TOTAL MUNDIAL	13,821	100,0	

Fonte: Adaptado de Gonzalez Rojas (2003)

Figura 1 - Fluxograma da fabricação do açúcar mascavo granulado

Fonte: Delgado e Delgado (1999)

Figura 2 - Fluxograma da fabricação do açúcar mascavo cristalizado

Fonte: Delgado e Delgado (1999)

O açúcar mascavo cristalizado era conhecido por muitos nomes e a sua qualidade era a mais variável possível, produzindo-se desde os mais escuros, acompanhados às vezes por muito mel, até os mais claros e secos. Este tipo de açúcar é muito semelhante na pureza e na cor ao conhecido açúcar demerara ou bruto. Entretanto, o açúcar que tem sido motivo de muita procura e interesse por parte dos pequenos produtores é o mascavo amorfo chamado também de açúcar batido. Apresenta-se na forma granulada e tem chamado a atenção dos consumidores da Europa, os quais exigem um rígido controle de produção. Portanto, para que esse tipo de produto seja exportado é necessário um certificado de qualidade (DELGADO; DELGADO, 1999).

Segundo Rodríguez Zevallos e Mayela Armas (2004), a ausência de controle de qualidade durante o processamento do açúcar mascavo, resulta em baixos rendimentos e em produtos de baixa qualidade, acarretando uma redução de mercado e preço baixo.

A produção de açúcar a partir de uma matéria-prima como a cana-de-açúcar, extremamente variável, plantada em solos de composição múltipla, insuficiente e/ou inadequado controle de processo de produção, falta de capacitação técnica da mão-de-obra disponível, entre outros, são fatores que contribuem para a dificuldade de se ter um produto único que atenda às exigências dos diferentes segmentos da indústria alimentícia (OLIVEIRA; ESQUIAVETO; SILVA JÚNIOR, 2007).

Segundo Guerra e Mujica (2010) para diminuir a grande variabilidade encontrada entre as marcas e mesmo entre os lotes de açúcar mascavo, principalmente os artesanais, é recomendado a padronização da qualidade do produto, com a normatização do processo através de geração e adaptação de tecnologias.

O açúcar mascavo granulado ou batido é constituído de aglomerados de sacarose, glicose, frutose e demais componentes do caldo que se formam após resfriamento do xarope de cana altamente concentrado. Não se tem cristais de sacarose definidos, mas grânulos de açúcar de cor marrom-claro, formados por todos os componentes solúveis do caldo de cana. A coloração marrom pode variar da tonalidade clara a mais escura. Devido o processo de fabricação (direto no fogo ou vapor) pode ocorrer caramelização, escurecendo o produto (DELGADO; DELGADO, 1999).

De acordo com Verruma-Bernardi et al. (2007) a preferência dos consumidores quanto à aparência das amostras de açúcar mascavo levou a concluir que os produtos mais apreciados sensorialmente são os que apresentam cor marrom intermediária e pouca umidade visual.

Segundo Lopes e Borges (2004) o açúcar mascavo é obtido pelo esmagamento de colmos de cana-de-açúcar sadios e frescos, em moenda para a extração do caldo, gerando um resíduo que é o bagaço. O caldo é inicialmente peneirado para livrá-lo de impurezas que possam ter sido incorporadas na moagem, como pedaços de bagaço. A seguir, a garapa é aquecida e, em muitos casos, tratada com leite de cal para correção da acidez e por último o caldo é concentrado por evaporação até o ponto de cristalização da sacarose. Ainda segundo os autores, durante a fabricação do açúcar a sacarose pode se inverter gerando os açúcares redutores que são prejudiciais ao produto final, por serem altamente higroscópicos, ou seja, retêm umidade.

O caldo de cana é um líquido com características ácidas, com pH entre 5,0 e 5,5. O açúcar da cana que é cristalizado a fim de gerar o açúcar mascavo ou a rapadura é a sacarose, que em meio ácido e pela ação do calor, tende a se transformar em outros dois açúcares, glicose e frutose, que não se cristalizam (LOPES; BORGES, 2004). Ainda segundo os autores, na indústria de açúcar mascavo o caldo não sofre tratamento intenso, portanto a cana deve ser limpa, isenta de impurezas orgânicas e minerais e recém colhida. Jamais se deve utilizar cana queimada ou com sinais de doenças, pois qualquer impureza que acompanhe o colmo poderá aparecer no açúcar.

Em geral, o açúcar mascavo batido tem condições de secar naturalmente quando exposto ao tempo, principalmente se a umidade relativa do ar for inferior a 70%. Se a umidade do ar for maior a secagem não ocorre, podendo ocasionar a umidificação do açúcar (LOPES; BORGES, 1998).

Segundo Delgado e Delgado (1999), para uma boa conservação a umidade do açúcar mascavo deve ser inferior a 1,0-1,5%. Entretanto, nos pequenos engenhos, este açúcar mostra uma umidade em torno de 5%. Ainda de acordo com os autores a composição do açúcar mascavo está relacionada com a umidade do produto. Para o açúcar mascavo granulado, quando o mesmo é seco ao ar, sua umidade varia de 5 a 6%. Com o uso do secador, do tipo empregado pelas usinas açucareiras, a umidade é

reduzida para 1 a 1,5%. O mesmo ocorre para o açúcar cristalizado que, apesar de ser obtido com o uso de uma centrífuga, tem a sua umidade variando de 2,0 a 3,0%. Pela secagem ao ar ou com uso de secador, a umidade deste açúcar cristalizado pode ser reduzida a menos de 1%.

Verruma-Bernardi et al. (2007) analisando amostras de diferentes marcas de açúcar mascavo, observaram teores de umidade entre 1,35 a 4,44%. Os autores ainda ressaltam que embora a legislação vigente não especifique um mínimo ou máximo, seria interessante manter a umidade abaixo de 2,4%, em função da estabilidade do produto. Em estudo semelhante Generoso et al. (2009) determinou a umidade das amostras de açúcar mascavo, que variou de 2,13 a 6,02%, sendo que apenas uma marca, das trinta e uma marcas analisadas, apresentou teor de umidade inferior a 2,4%.

Em estudo realizado por Silva e Parazzi (2003), o teor de umidade das amostras de açúcar mascavo analisadas, foi até quatro vezes maior, que o teor de umidade das amostras de açúcar cristal e refinado.

Para Guidi, Ferreira e Pereira (2009), há poucos estudos disponíveis em relação ao teor de umidade para a conservação de açúcar mascavo, o que dificulta sua comercialização em grande escala e também para mercados mais distantes.

Para fins de classificação do açúcar são utilizados vários critérios ou itens analíticos, obtidos em laboratório químico. Os parâmetros químicos mais utilizados são: polarização ou teor de sacarose, umidade, cor e cinzas (LOPES; BORGES, 2004).

De acordo com a resolução 12/33 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde, açúcar mascavo é um produto que contém um mínimo de 90% de sacarose (ANVISA, 2010).

Verruma-Bernardi et al. (2007) analisaram a polarização de nove marcas de açúcar mascavo, sendo que os resultados dessas análises variaram de 81,2 a 93,1°S. De nove marcas analisadas apenas duas estavam em acordo com a legislação. Generoso et al. (2009) também analisaram o teor de sacarose (Pol) em açúcar mascavo, sendo que os valores variaram de 74,89 a 96,93°S. De trinta e uma marcas analisadas, apenas sete apresentaram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação.

Em relação à quantidade de cinzas presentes no açúcar mascavo, Lopes e Borges (2004) sugerem que esse valor não ultrapasse 2,2% para garantir sua qualidade, pois altos teores de cinzas significam altos teores de potássio, o que confere um sabor desagradável ao açúcar além de dificultar a cristalização. Porém num estudo feito por Verruma-Bernardi et al. (2007) em nove marcas de açúcar mascavo, os valores de cinzas estavam acima do sugerido por Lopes e Borges (2004) em duas marcas. Generoso et al. (2009) também analisaram cinzas em açúcar mascavo e os resultados variaram de 1,15 a 3,45%. De trinta e uma marcas analisadas, três apresentaram valores acima de 2,2%.

A Tabela 2 mostra a composição tecnológica do açúcar mascavo.

Tabela 2 - Composição tecnológica do açúcar mascavo

Componentes (%)	Açúcar mascavo Cristalizado	Açúcar mascavo Granulado
Brix	97,00	94,50
Pol	94,00	84,00
Redutores	2,00	6,00
Cinzas	--	0,80
Umidade	2,50*	5,00*

*Sem uso de secador

Fonte: Delgado e Delgado (1999)

A tecnologia empregada na fabricação do açúcar mascavo e da rapadura preserva praticamente todos os componentes extraídos da cana-de-açúcar, conferindo-lhe altas características nutricionais (DELGADO; DELGADO, 1999).

O açúcar mascavo batido apresenta uma composição final, quanto aos sais minerais e componentes orgânicos, próxima do caldo da cana-de-açúcar (LOPES; BORGES, 1998). Em geral o açúcar mascavo é composto de sacarose, e outros elementos como água, cinzas, proteínas e sólidos insolúveis, além da presença de um importante grupo de minerais (K, Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn, Zn e Cu), o que aumenta os benefícios nutricionais deste produto (GUERRA; MUJICA, 2010).

As diferenças entre o açúcar mascavo e o açúcar branco ocorrem desde a elaboração. O açúcar branco é obtido através de uma série de processos químicos, que destroem todas as vitaminas e praticamente todos os minerais presentes no caldo da cana-de-açúcar (CASTILLO ORTIZ; GANCHOZO MONCAYO, 2004). O açúcar branco possui a composição de sais minerais, inferior em relação ao açúcar mascavo e um teor de sacarose mais alto (LOPES; BORGES, 1998).

O açúcar mascavo é um produto bastante superior ao açúcar cristal branco ou de refinaria, que se caracterizam apenas pelo seu poder adoçante e energético (DELGADO; DELGADO, 1999). Do ponto de vista nutricional o açúcar mascavo leva vantagem em relação aos produtos similares, pois em sua composição estão presentes muitos minerais e vitaminas, conforme mostra a Tabela 3 (SOUZA; BRAGANÇA, 1999).

Tabela 3 – Comparação do valor nutritivo (em 100 gramas) dos açúcares refinado, mascavo e cristal

Açúcar	Calorias	Proteínas (g)	Glicídeos (g)	Lipídeos (g)	Cálcio (mg)
Refinado	398	-	99,50	-	-
Mascavo	356	0,40	90,60	0,50	51
Cristal	398	-	99,50	-	-

Açúcar	Fósforo (mg)	Ferro (mg)	Vitamina C (mg)	Sódio (mg)	Potássio (mg)
Refinado	-	-	0	15,6	6,2
Mascavo	44	4,2	2	30	344
Cristal	-	-	0	30	344

Fonte: Souza e Bragança (1999)

O açúcar mascavo na maioria das vezes é acondicionado em sacos de 50 quilos para comercialização, além das embalagens de 200, 300, 500 gramas ou 1 quilo que são destinadas diretamente ao mercado varejista (CHAVES, 1998).

2.3 Aspectos microbiológicos do açúcar

Os principais fatores que causam a deterioração do açúcar são: falta de assepsia durante o processo, água de lavagem do açúcar contaminada, tamanho irregular dos cristais, retenção excessiva de umidade na película de mel que recobre os cristais, mistura de açúcares de diferentes polarizações, presença de microrganismos e condições anormais de armazenamento (DELGADO; OLIVEIRA; NOVAES, 1970). Segundo Cadavid (2007), o açúcar mascavo está propenso a sofrer alterações na qualidade, quando a concentração de açúcares redutores e a umidade são altas, e o teor de sacarose é baixo.

Para garantir um alto nível de qualidade do açúcar é fundamental manter durante o processo de produção do açúcar mascavo, um controle rigoroso dos diversos itens da especificação do produto, com aplicação direta dos conceitos de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), etc (OLIVEIRA; ESQUIAVETO; SILVA JÚNIOR, 2007).

Segundo Lopes e Borges (2004) é importante evitar que a cana-de-açúcar entre em contato com o solo, para que não ocorra contaminação, principalmente por microrganismos presentes no solo, como por exemplo o *Leuconostoc mesenteroides*, que pode penetrar nas partes segmentadas e nas rachaduras dos colmos da cana, gerando um produto denominado dextrana, prejudicial na fabricação de açúcar. A cana-de-açúcar deteriorada resulta em um xarope bastante viscoso, tornando a cristalização demorada e dificultando a obtenção do ponto final do cozimento. De acordo com Oliveira, Esquiaveto e Silva Júnior (2007) uma vez presente, a melhor forma de eliminação da dextrana é a aplicação de enzimas tipo dextranase, durante a fabricação do açúcar. O elevado preço das dextranases disponíveis no mercado tem um impacto direto no preço do açúcar final.

Segundo Parazzi et al. (2009) o açúcar é classificado como produto alimentício microbiologicamente estável, onde a incidência de contaminações dessa natureza é

muito pequena, pois se trata de um produto com baixa atividade de água, inibindo consequentemente a proliferação de microrganismos. A determinação da atividade de água é uma das medidas mais importantes no processamento e na análise dos alimentos em relação à qualidade e estabilidade (TEXEIRA NETO; QUAST, 1993 apud GUIDI; FERREIRA; PEREIRA, 2009).

A água exerce uma influência importante na conservação dos alimentos. O termo atividade de água foi criado para denominar a água disponível para o crescimento microbiano e reações que possam deteriorar os alimentos (DITCHFIELD, 2000).

A atividade de água varia de 0 a 1, mais precisamente > 0 e < 1 , pois nenhum alimento apresenta atividade de água de 0 e 1. Os valores de atividade de água de alguns grupos de alimentos são: cereais, bolachas, açúcar, sal, leite em pó, 0,10 – 0,20; geléias, frutas secas, queijo parmesão, nozes, 0,60 – 0,85; salsichas fermentadas, carnes secas curadas, leite condensado 0,85 - 0,93; carnes frescas, frutas, peixes, legumes, leite e ovos, 0,98 – 0,99 (RAY; BHUNIA, 2008).

Para Guerra e Mujica (2010) altos valores de atividade de água no açúcar mascavo, podem promover a degradação microbiana e reações bioquímicas indesejáveis. Segundo Ditchfield (2000) o principal fator na estabilidade de um alimento não é o teor de umidade, mas sim a disponibilidade de água para o crescimento de microrganismos e reações químicas denominada como atividade de água (Figura 3).

Figura 3 - Taxas generalizadas de reações de deterioração em alimentos como função da atividade de água em temperatura ambiente
Adaptado de: Ditchfield (2000)

Os grupos de microrganismos apresentam um ótimo, um máximo e um mínimo de atividade de água (A_w) para o crescimento e em geral, os valores de atividade de água mínimo para o crescimento microbiológico são: maioria dos fungos 0,80; fungos xerofílicos 0,60; a maioria das leveduras, 0,85; leveduras osmofílicas, 0,60 – 0,70; a maioria das bactérias Gram-positivas, 0,90; e as Gram-negativas, 0,93; exceto para *Staphylococcus aureus* que cresce com atividade de água de 0,85 e bactérias halofílicas com atividade de água de 0,75 (RAY; BHUNIA, 2008).

De acordo com Guidi, Ferreira e Pereira (2009), para a conservação de alimentos é necessário, em geral, que a atividade de água seja inferior a 0,60, pois a disponibilidade da água nesta condição é limitante para o crescimento dos microrganismos. Ainda segundo os mesmos autores, para a temperatura de 25 °C o valor de umidade do açúcar mascavo deve ser menor que 3,9%, para que a atividade de água seja menor do que 0,60.

A determinação dos microrganismos existentes no açúcar é geralmente limitada a fungos, leveduras e bactérias termófilas. As bactérias termófilas são espécies esporogênicas, que sobrevivem ao processo de fabricação do açúcar e a sua concentração indica a eficiência do processo de purificação do caldo e principalmente o estado de higiene da indústria (PARAZZI et al., 2009).

Em estudo realizado por Verruma-Bernardi et al. (2007) foram observados valores elevados de contaminação por bactérias mesófilas e somente três de nove amostras analisadas de açúcar mascavo apresentaram-se dentro dos limites microbiológicos exigidos pelos padrões internacionais do “*National Food Canners and Processors*” onde se estabelece um limite de 50 UFC.g⁻¹ para bolores e leveduras; 50 UFC.g⁻¹ para bactérias mesófilas totais e até 50 esporos de termófilas “flat-sour” em 10 gramas de açúcar, entendendo-se que o açúcar mascavo foi produzido e/ou embalado em condições higiênicas insatisfatórias.

Em estudo com amostras de açúcar mascavo, Singh et al. (2009) observaram microrganismos dos gêneros *Alcaligenes*, *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Alteromonas*, *Micrococcus* e *Bordetella*, sendo que alguns desses microrganismos isolados apresentaram resistência a antibióticos, o que pode representar um risco à saúde dos consumidores.

De acordo com Silva et al. (2007), quando a contagem de bactérias mesófilas exceder 10 vezes os limites estabelecidos, os açúcares podem ser considerados inaceitáveis para o consumo direto.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2008), o limite de tolerância na amostra indicativa para coliformes a 45°C no açúcar é de 10^2 NMP/g(mL) de acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 e ausência de *Salmonella* sp/25g(mL).

De acordo com Jay (2005) os açúcares raramente sofrem deterioração microbiana, desde que devidamente preparados, processados e armazenados com umidade adequada. A umidade elevada possibilita o desenvolvimento de microrganismos, principalmente bolores e leveduras, que causam a deterioração do açúcar, comprometendo assim o tempo de armazenagem (PARAZZI et al., 2009).

De acordo com Singh et al. (2009), as condições de armazenamento do açúcar mascavo são geralmente anti-higiênicas e expõe o produto a microrganismos patogênicos ou não. Esses microrganismos contaminantes podem causar efeitos adversos sobre a saúde humana, bem como sobre a qualidade do produto através de mudanças na cor, textura e sabor.

Durante o armazenamento podem ser introduzidas quantidades significativas de leveduras osmofílicas por contato físico com açúcar úmido e contaminado, sobre o qual podem crescer estas leveduras (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS, 2001).

Andrés Mosquera, Eliécer Carrera e Samuel Villada (2007) recomendam que o açúcar mascavo seja armazenado em local coberto, seco e bem ventilado, sobre plataformas e de preferência longe das paredes para protegê-los da umidade.

Com intuito de conhecer a vida de prateleira do açúcar mascavo submetido ao armazenamento sob refrigeração (7-9°C) Uppal (2002), realizou análises no produto em diferentes tempos de armazenamento, e observou que com o aumento do tempo, houve diminuição da qualidade do açúcar em relação às características físicas e visuais, não tendo sido realizadas análises microbiológicas. Ainda segundo o autor para o período de um ano e oito meses, o armazenamento é seguro, e não compromete a qualidade.

2.4 Microrganismos de interesse na pesquisa

2.4.1 Esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”

No açúcar a presença de microrganismos esporulados é comum, uma vez que esses são resistentes às condições de processamento e refino do açúcar (HOFFMANN; CRUZ; VINTURIM, 1992).

Esporos de *B. stearothermophilus* tem elevada resistência térmica. O valor $D_{121^{\circ}\text{C}}$ varia entre 4,0 e 5,0 minutos. Para não ocorrer a deterioração deve ser feito o resfriamento logo após o processamento térmico e evitar altas temperaturas durante o período de armazenamento ou de distribuição (OLSON; SORRELLS, 2001).

Esporos de bactérias “flat-sour” mostram excepcional resistência à destruição pelo calor e produtos químicos; portanto, são difíceis de destruir em um produto ou mesmo na planta de processamento. Os métodos para minimizar a contaminação por esporos incluem o controle de população de esporos em ingredientes e produtos que entram na fábrica, bem como a utilização de práticas sanitárias (OLSON; SORRELLS, 2001).

Em alimentos enlatados de baixa acidez, principalmente aqueles com o pH acima de 5,3, a deterioração por termófilos “flat-sour” raramente ocorre, quando mantidos em temperatura abaixo de 43°C. Por outro lado, quando armazenados a temperatura superior a 43°C a deterioração pode ocorrer, devido às condições favoráveis a germinação dos esporos das bactérias termófilas “flat-sour”, nos alimentos (OLSON; SORRELLS, 2001).

A deterioração por termófilos “flat-sour” dos alimentos enlatados de baixa acidez é causada pela germinação de esporos termófilos aeróbios facultativos do gênero *Bacillus*. *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*, são espécies típicas responsáveis por este tipo de prejuízo. Estes organismos caracteristicamente fermentam carboidratos com a produção de ácidos graxos de cadeia curta que “azedam” o produto. Eles não produzem gás suficiente para alterar a habitual aparência “plana” das extremidades do recipiente. Embora as bactérias “flat-sour” sejam consideradas termófilas obrigatórias, na verdade, elas podem crescer em temperaturas tão baixas quanto 30-45°C, especialmente se os organismos forem incubados em

estado vegetativo e se as condições ambientais impostas forem adequadas. A faixa de temperatura limite superior de crescimento é 65 - 75°C (OLSON; SORRELLS, 2001).

De acordo com Olson e Sorrells (2001) o resfriamento inadequado é um dos principais fatores para o desenvolvimento de deterioração do tipo “flat-sour”, Além do aquecimento localizado das seções de pilhas de alimentos enlatados colocados demasiadamente próximos.

2.4.2 Esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S (*Clostridium thermosaccharolyticum*)

Uma das características notáveis destes organismos é a resistência ao calor exibida pelos seus esporos. Não é incomum que os esporos tenham a D₁₂₁°C valores de 3 a 4 minutos ou superior. A sua sobrevivência em alimentos enlatados, por conseguinte, não é inesperada, mas termófilos anaeróbios raramente são encontrados em alimentos processados acima de 121°C, a não ser quando o produto acabado é imprópriamente resfriado ou é mantido por longos períodos em temperaturas elevadas, fazendo o esporo expressar-se (ASHTON; BERNARD, 2001).

A temperatura ótima de crescimento destes organismos é de 55 a 60°C. Eles raramente crescem em temperaturas abaixo de 32°C, mas podem produzir deterioração em 14 dias a 37°C, se o primeiro esporo germinar em uma temperatura mais elevada. Eles têm um ótimo de crescimento com pH 6,2 a 7,2, mas crescem rapidamente em produtos com um pH de 4,7 ou superior. Eles têm sido responsáveis por deterioração dos produtos de tomate com valores de pH 4,1 a 4,5. Ingredientes como açúcar, leite desidratado, amido, farinhas, cereais, massas alimentares tem sido predominantemente as fontes de termófilos anaeróbios (ASHTON; BERNARD, 2001).

Segundo Ashton e Bernard (2001), os termófilos anaeróbios que não produzem H₂S têm sido responsáveis pela deterioração dos produtos enlatados, tais como espaguete com molho de tomate, batata doce, abóbora, feijão verde, e aspargos. Causam também a deterioração dos produtos altamente ácidos tais como as misturas de frutas e ingredientes farináceos. Os esporos de termófilos anaeróbios não produtores de H₂S são classificados na família *Bacillaceae*, gênero *Clostridium*. A principal espécie deste grupo é *Clostridium thermosaccharolyticum*. Estes organismos

são obrigatoriamente anaeróbios e são fortemente sacarolíticos, produzindo ácido e gás a partir de glicose, lactose, sacarose, e amido. Proteínas não são hidrolisadas, e não são produzidos nitritos a partir de nitratos. Células vegetativas são longas, finas, retas ou ligeiramente curvadas, com coloração Gram-negativa. Esporos são terminais e intumescem o esporângio. Não produzem toxinas nem infecções e, por conseguinte, os organismos são de deterioração e normalmente não relacionados a problemas de saúde pública.

2.4.3 Esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H₂S **(*Desulfotomaculum nigrificans*)**

A deterioração causada por esse tipo de bactéria não é comum e não ocorre em alimentos ácidos, porque o desenvolvimento do principal microrganismo responsável por essa deterioração, *Desulfotomaculum nigrificans* ocorre numa faixa de pH de 6,8 a 7,3 não ocorrendo crescimento em pH abaixo de 5,6 e acima de 7,8. A temperatura ótima de crescimento é de 55°C podendo, na maioria das linhagens ocorrer crescimento a 43°C. Por outro lado, algumas espécies podem adaptar-se a menores temperaturas (30-37°C), porém, não ocorre crescimento em temperaturas abaixo de 30°C, uma vez que a maioria é considerada termófila obrigada. A causa da deterioração sulfídrica é a combinação da presença e resistência térmica de esporos, e a manutenção do produto acabado em temperaturas elevadas (ROTEIRO..., 2008).

Segundo Donelly e Hannah (2001) os produtos que sofrem deterioração sulfídrica possuem um forte e desagradável odor. Não há evidências de patogenicidade para o homem ou animais de laboratório que tenham sido associadas à *Desulfotomaculum nigrificans*, o organismo causal, ou com produtos estragados por este organismo.

Embora relativamente rara, deterioração sulfídrica pode ocorrer em milho enlatado, ervilhas, cogumelos, fórmulas infantis e outros alimentos não-ácidos. Ervilhas estragadas por vezes não apresentam qualquer descoloração, mas com maior frequência mostram escurecimento (DONELLY; HANNAH, 2001).

Apesar da legislação brasileira não estabelecer nenhum padrão quanto a contagem de bactérias causadoras de deterioração sulfídrica para açúcar, existem

padrões internacionais para este tipo de microrganismo, que é de 5 esporos por 10 gramas de produto (ROTEIRO..., 2008).

2.4.4 Fungos (Bolores e Leveduras)

A estrutura básica dos bolores é formada por filamentos denominados hifas, que, em conjunto formam o micélio. Hifas podem ser septadas ou não, isto é, divididas em células que se intercomunicam através de poros, ou ter núcleos celulares dispersos ao longo de toda hifa, respectivamente (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

O micélio pode ter duas funções distintas: promover fixação do bolor ao substrato (micélio vegetativo) e promover a reprodução, através da produção de esporos (micélio reprodutivo). Os bolores podem reproduzir-se sexualmente (fungos perfeitos) ou assexuadamente (fungos imperfeitos) ou ainda pelos dois processos, simultaneamente (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

O micélio dos bolores é responsável pelo aspecto característico das colônias que formam. Estas colônias podem ter um aspecto cotonoso, serem secas, úmidas, compactas, aveludadas, gelatinosas, com variadas colorações. Normalmente, uma análise macroscópica da colônia formada é suficiente para a identificação de, pelo menos, o gênero ao qual o bolor pertence (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Quanto às características fisiológicas, verifica-se que são menos exigentes que as leveduras e que as bactérias em relação à umidade, pH, temperatura e nutrientes. É oportuno lembrar que os bolores são, em sua absoluta maioria, aeróbios, razão pela qual seu crescimento nos alimentos limita-se à superfície em contato com o ar (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Já as leveduras do ponto de vista taxonômico não são homogêneas e sua classificação não é estável. Definem-se leveduras como fungos cuja forma predominante é unicelular. Podem ser esféricas, ovóides, cilíndricas ou triangulares. Algumas são bastante alongadas formando filamentos semelhantes às hifas dos bolores. Em alguns casos, pode haver formação de um micélio verdadeiro, quando, após a divisão celular, as células permanecem unidas. Leveduras formadoras de pseudomicélios ou de micélios verdadeiros constituem a fase de transição entre as leveduras unicelulares e os fungos filamentosos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

De acordo com a sua reprodução, as leveduras de interesse em alimentos podem ser subdivididas em dois grupos: as leveduras verdadeiras, nas quais há formação de ascos contendo esporos sexuais (ascósporos) e leveduras falsas, que não produzem ascósporos ou qualquer outro tipo de esporo sexual. Todas as leveduras podem reproduzir-se assexuadamente, sendo este o único processo em 50% delas. A reprodução assexuada ocorre por brotamento ou por fissão celular (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Embora as leveduras possam diferir bastante em suas características fisiológicas, aquelas de importância em alimentos têm algumas características em comum. De modo geral, as leveduras requerem menos umidade que a maioria das bactérias e mais umidade que a maioria dos bolores. A temperatura ideal para seu crescimento varia entre 25°C e 30°C, com algumas exceções. O crescimento é favorecido pelo pH ácido. As leveduras multiplicam-se melhor quando estão em aerobiose, mas os tipos fermentativos também se multiplicam bem em anaerobiose. Açúcares são a melhor fonte de energia, embora leveduras oxidativas sejam capazes de oxidar ácidos orgânicos e álcool (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

A contaminação por bolores, vulgarmente conhecidos como mofo, considerados como deteriorante em potencial de alimentos, está relacionada principalmente a problemas de conservação e armazenamento do produto (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO, 1999).

2.4.5 Bactérias mesófilas

A contagem deste tipo de bactérias é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo que os patógenos estejam ausentes e que não tenham ocorrido alterações nas condições organolépticas do alimento, um número elevado de microrganismos indica que o alimento é insalubre. Exceção deve ser feita aos alimentos fermentados (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Ainda segundo os autores, todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Portanto, uma alta contagem de mesófilos, que crescem à mesma temperatura da do corpo humano, significa que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem.

De acordo com Franco e Landgraf (2006), a contagem elevada desse grupo de bactérias nos alimentos não perecíveis é indicativa do uso de matéria-prima contaminada ou processamento insatisfatório, sob o ponto de vista sanitário. Em alimentos perecíveis pode indicar abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura.

2.4.6 Coliformes totais e termotolerantes

O grupo dos coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubadas a 35 - 37°C, por 48 horas. São bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Fazem parte desse grupo predominantemente bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. Consequentemente a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Os coliformes termotolerantes, também conhecidos como coliformes fecais é um subgrupo dos coliformes totais, que são capazes de fermentar a lactose em 24 horas com produção de gás, quando incubados a 44,5 - 45,5°C. Essa definição objetivou, em princípio, selecionar apenas as enterobactérias originárias do trato gastrointestinal (*E. coli*), mas atualmente, sabe-se que o grupo também inclui membros de origem não fecal. Em função disso o termo coliformes fecais, tem sido gradativamente substituído por coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2007).

Os principais gêneros que compõem o grupo são *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. A *Escherichia coli* é a principal representante do grupo e a única que apresenta como habitat natural o intestino do homem e outros animais homeotérmicos, enquanto que entre os demais gêneros, apenas algumas cepas de *Enterobacter* e

Klebsiella mantém essa característica (FRANCO; LANDGRAF, 2006; SILVA et al., 2007).

A pesquisa de coliformes fecais ou de *E. coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2008), o limite de tolerância para coliformes a 45°C no açúcar mascavo e similares é de 10^2 NMP/g(mL) de acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

2.4.7 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

O gênero *Salmonella* é dividido em espécies e possui uma classificação antigênica que determina os diferentes sorovares, sendo até o momento identificados 2463, que são diferenciados de acordo com seus antígenos somáticos (O) e flagelares (H) (BRENNER et al., 2000; apud ZUCON, 2008).

A temperatura ideal para multiplicação de *Salmonella* é 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima 47°C. Vários estudos indicam, no entanto, que valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (FRANCO; LANDGRAF, 2006). Ainda de acordo com os autores, o pH ótimo para a multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. Dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. A *Salmonella* não tolera concentrações de sal superiores a 9%. O nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido.

A *Salmonella* é amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais o principal reservatório natural. Entre os animais, as aves (galinhas, perus, patos, gansos) são os reservatórios mais importantes. Suínos,

bovinos, eqüinos e animais silvestres (roedores, anfíbios e répteis) também apresentam *Salmonella*. Os animais domésticos (cães, gatos, pássaros, etc.) podem ser portadores de *Salmonella*, representando grande risco, principalmente para crianças. Inúmeros surtos de toxinfecções alimentares causados por *Salmonella* são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos. Verifica-se, no entanto, que alguns alimentos são mais freqüentemente envolvidos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Os alimentos contaminados normalmente apresentam aparência e cheiro normais. Geralmente são de origem animal, como carne bovina, aves, leite ou ovos, mas qualquer alimento, inclusive vegetais, podem tornar-se contaminados. O cozimento elimina a *Salmonella*. Alimentos também podem ser contaminados pelas mãos contaminadas de um manipulador de alimentos, que não lavar as mãos com sabão após usar o banheiro (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2009).

Todo ano, cerca de 40.000 casos de salmonelose são relatados nos Estados Unidos. Muitos casos mais leves não são diagnosticados ou notificados, o número real de infecções pode ser trinta vezes maior (CDC, 2009). Em 2002 o número de surtos provocados por *Salmonella* sp. no Estado de São Paulo, foi cerca de 10,3% do total de surtos envolvendo bactérias em água e alimentos (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA “PROF. ALEXANDRE VRANJAC” - CVE, 2010).

A salmonelose é o nome da infecção causada pela bactéria *Salmonella*. A maioria das pessoas infectadas com *Salmonella* desenvolve diarreia, febre e cólicas abdominais em aproximadamente 12 a 72 horas após a infecção. A doença geralmente dura 4 a 7 dias, e a maioria das pessoas se recupera sem tratamento. No entanto, em algumas pessoas, a diarreia pode ser tão severa que o paciente precisa ser hospitalizado. Nesses pacientes, a infecção por *Salmonella* pode se espalhar dos intestinos para a corrente sanguínea, e depois para outros locais do corpo podendo causar a morte se a pessoa não for tratada rapidamente com antibióticos. Crianças, idosos, e pessoas com o sistema imunológico comprometido são mais propensos a ter problemas mais graves (CDC, 2009).

Pessoas com diarreia geralmente recuperam-se completamente, embora possa demorar vários meses para seus hábitos intestinais voltarem completamente ao normal.

Um pequeno número de pessoas com salmonelose desenvolve dores nas articulações, irritação nos olhos e dor ao urinar. Isso é chamado de síndrome de Reiter. Ela pode durar meses ou anos, e pode levar à artrite crônica que é difícil de tratar (CDC, 2009). De acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 o açúcar mascavo e similares deve apresentar ausência de *Salmonella* sp/25gramas (ANVISA, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das amostras

Com o objetivo de avaliar a qualidade de amostras de açúcar mascavo foi realizado um levantamento das marcas disponíveis aos consumidores nos estabelecimentos comerciais (farmácias de manipulação e supermercados) no município de Araras - SP.

A escolha dos locais visou obter o maior número possível de estabelecimentos que comercializam este tipo de produto, abrangendo diferentes bairros do município.

No total foram visitados 32 estabelecimentos, sendo 22 mercados e 10 farmácias de manipulação, desses estabelecimentos 07 supermercados e 06 farmácias de manipulação comercializavam o produto pesquisado. Algumas marcas estavam disponíveis em mais de um estabelecimento comercial.

A coleta de amostras foi realizada num período de 4 meses (fevereiro de 2009 a junho de 2009) totalizando 49 amostras (10 marcas, 5 pacotes de 9 marcas e 4 de 1 marca). As amostras eram de diferentes lotes para uma maior representatividade.

Os açúcares obtidos estavam em embalagens contendo 500 ou 1000g. Os prazos de validade variaram de 12 a 24 meses.

As amostras foram adquiridas diretamente nos estabelecimentos comerciais em suas embalagens originais, que foram mantidas fechadas e em condições de temperatura ambiente até o momento da análise.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP onde foram realizadas as análises microbiológicas. Em seguida foram encaminhadas para o Laboratório de Processamento e Análise de Pescado, Frutas e Hortaliças, para realização da análise de umidade e para o laboratório de Micotoxinas, onde foi determinada a atividade de água.

As análises foram feitas conforme eram coletadas as amostras, de tal forma que cada marca era analisada individualmente.

Em todos os estabelecimentos comerciais onde foram obtidas as amostras foi preenchida uma ficha (APÊNDICE) para informações adicionais, sobre as condições do produto e do ambiente onde estava sendo comercializado.

Uma questão observada é que o açúcar mascavo era comercializado apenas na região central e em alguns bairros mais nobres da cidade, podendo talvez associar essa questão ao fato de ser um açúcar com preço mais elevado em relação aos outros tipos mais comuns de açúcar (cristal e refinado).

3.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas através de metodologias tradicionais para bactérias do grupo coliformes, bactérias mesófilas totais e contagem de bolores e leveduras de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (1988a; 1988b; 1988c).

Para contagem de esporos de bactérias termófilas “flat-sour” foi utilizado o método descrito por Olson e Sorrells (2001), detecção de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H_2S segundo Ashton e Bernard (2001), e de acordo com Donelly e Hannah, (2001) contagem de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H_2S .

As análises microbiológicas para *Salmonella* foram realizadas conforme o método oficial aprovado pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2000).

3.2.1 Preparo das amostras para as análises microbiológicas

Foram pesados 25 g de amostra para análises de *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes e 20 g para as demais análises microbiológicas, de cada um dos 5 pacotes de açúcar da marca analisada.

As alíquotas de 25 g foram adicionadas a 225 mL de caldo lactosado para a etapa de pré-enriquecimento da análise de *Salmonella*. As demais alíquotas de 25 g foram adicionadas em 225 mL de água destilada esterilizada para a análise de coliformes totais e termotolerantes. As alíquotas de 20 g foram completadas a um volume de 100 mL com água destilada esterilizada, para as demais análises. A Figura 4 ilustra como foi realizado o preparo das amostras.

Figura 4 – Preparo das amostras

3.2.2 Contagem de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”

O inóculo foi submetido ao aquecimento e a partir do início da fervura (aparecimento de pequenas bolhas) foram marcados cinco minutos, suficientes para destruir as células vegetativas, já que o intuito da análise era justamente os esporos. Em seguida foi feito o resfriamento até aproximadamente 20°C utilizando água e gelo. Após o resfriamento foram distribuídos 2 mL do inóculo em 5 placas de Petri, onde foi vertido quantidade suficiente de Meio Glicose Triptona Ágar + Púrpura de Bromocresol (GTA + PB). Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa regulada a 50°C por 48 horas. O mesmo inóculo foi utilizado para as demais análises

de esporos. A Figura 5 ilustra a maneira que foi realizada a análise de esporos de bactérias termófilas “flat-sour”.

Figura 5 – Esquema de análise para contagem de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”

3.2.3 Detecção de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H_2S (*Clostridium thermosaccharolyticum*)

Foram distribuídos 3,3 mL do inóculo submetido ao resfriamento em 6 tubos de rosca contendo 20 mL cada do Meio PE-2. Em seguida o meio foi vedado com uma camada de aproximadamente 1,5 cm de Agar Selo (3%). Após a solidificação do selo os tubos foram incubados em estufa regulada a 50°C. A leitura foi realizada após 48 horas.

A Figura 6 ilustra a maneira que foi realizada a análise de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H_2S .

Figura 6 – Esquema de análise para detecção de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H_2S

3.2.4 Contagem de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H_2S (*Desulfotomaculum nigrificans*)

Foram colocados 3,3 mL do inóculo em seis tubos contendo 20 mL do Meio Agar Sulfito, os quais eram cuidadosamente homogeneizados. Após a solidificação do meio os tubos foram incubados em estufa regulada a 50°C. A leitura foi realizada após 48 horas.

A Figura 7 ilustra a maneira que foi realizada a análise de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H_2S .

Figura 7 – Esquema de análise para contagem de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H_2S

3.2.5 Contagem de bactérias mesófilas totais (aeróbias)

A contagem de bactérias mesófilas totais foi feita através de plaqueamento em profundidade. Dessa forma foi distribuído 1 mL do inóculo em 5 placas de Petri e posteriormente foi adicionado o Meio Plate Count Agar (PCA). Foi feita a homogeneização do meio e inóculo. Após a solidificação do meio as placas foram incubadas em estufa regulada a 35°C por 48 horas.

Após o período de incubação os valores correspondentes às contagens das colônias das cinco placas foram somados e expressos em Unidades Formadoras de Colônias/g de amostra (UFC/g) (ABNT, 1988a).

A Figura 8 ilustra a maneira que foi realizada a análise de bactérias mesófilas.

Figura 8 – Esquema de análise para contagem de bactérias mesófilas

3.2.6 Contagem de fungos (leveduras e bolores)

Foram distribuídas alíquotas de 1 mL do inóculo em placas de Petri, onde posteriormente foi vertido quantidade suficiente do Meio Batata Dextrose Agar (BDA) acidificado. Foi feita a homogeneização do meio e inóculo. Após a solidificação do meio as placas foram invertidas e incubadas em estufa a 30°C por 72 horas.

Os resultados foram obtidos pela soma da contagem das colônias das 5 placas e expressos em UFC de bolores e leveduras/g de amostra (UFC/g) (ABNT, 1988b).

A Figura 9 ilustra a maneira que foi realizada a análise de bolores e leveduras.

Figura 9 – Esquema de análise para contagem de bolores e leveduras

3.2.7 *Salmonella*

Para a detecção de *Salmonella* spp. foi utilizado o Kit “1-2 Test” da Bio Control, por ser um método rápido e qualitativo para as espécies móveis de *Salmonella*. O método é aprovado para todos os tipos de alimentos pela AOAC (2000).

O método tem como princípio a observação da imobilização da *Salmonella* pelos anticorpos polivalentes H (flagelar) contidos no meio de motilidade, com o desenvolvimento de uma imunobanda.

A unidade de teste é composta por uma câmara de inoculação contendo Caldo Tetracionato-Verde-Brilhante, e a câmara de motilidade, contendo um meio de motilidade (não seletivo) à base de Peptona (Figuras 10 e 11). Os compartimentos não se comunicam pelo fato de existir um tampão, sendo que este deve ser removido antes

da adição da amostra. Se o Kit inoculado tiver a presença de *Salmonella* na câmara de inoculação, ela se moverá do Caldo Tetrationato-Verde-Brilhante para o meio de motilidade para reagir com os anticorpos, onde ocorrerá à formação de uma imunobanda, característica de positividade para *Salmonella*.

Figura 10 – Câmara de inoculação

Figura 11 – Câmara de motilidade

Para a realização da análise de *Salmonella* (Figura 12) foi feito um pré-enriquecimento da amostra (25g) em 225 mL de Caldo Lactosado. O material foi colocado em estufa a 35°C por 24 horas. Após as 24 horas, foi realizada a análise, onde 0,1 mL do inóculo foi colocado na câmara de inoculação. Foi retirado o “tip”, presente na câmara de motilidade para a adição da solução de anticorpos.

Figura 12 - Procedimento para detecção de *Salmonella* spp.

Os Kits foram incubados por 24 horas a 35°C. Após este período foi observada a presença ou ausência da imunobanda, característica de positividade ou negatividade para o gênero *Salmonella* como mostra a Figura 13.

Figura 13 – Imunobanda característica de positividade para *Salmonella*

Os resultados obtidos foram comparados com padrões exigidos pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 para açúcar mascavo e similares (ANVISA, 2008).

3.2.8 Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes

A técnica utilizada para a determinação do Número mais Provável foi a técnica dos tubos múltiplos de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1988c).

A primeira etapa da análise (Figura 14) consistiu em um teste presuntivo onde foram adicionados 10, 1 e 0,1mL do inóculo em três séries de três tubos, onde cada tubo continha um volume de 10 mL de caldo lauril sulfato triptose (LST) em concentração dupla na primeira série e nas demais concentração simples. Os tubos inoculados foram incubados em estufa regulada a 35°C por 24 - 48 horas. Após 48h de incubação os tubos foram avaliados em relação a formação de gás (bolhas). Não foi necessária a realização do teste confirmativo já que nenhum tubo apresentou a formação de gás.

Através da combinação dos resultados e com o auxílio da Tabela de NMP tem-se o número mais provável de coliformes totais por grama de açúcar (ABNT, 1988c).

Teste Presuntivo

Figura 14 - Estimativa de coliformes totais e termotolerantes pelo método do número mais provável

3.3 Análises de umidade e atividade de água

3.3.1 Umidade

A Determinação da umidade foi feita através do cálculo da perda de peso por secagem de acordo com o Método GS2/1/3-15 descrito pela International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis - ICUMSA (2005).

3.3.2 Atividade de água

A Atividade de água foi mensurada através do aparelho da marca Testo, modelo 650 (Figura 15). Foram feitas três repetições para cada uma das cinco embalagens de cada marca.

Uma pequena alíquota da amostra foi colocada em um compartimento do aparelho, em seguida este compartimento foi fechado e após um tempo de estabilização foi feita a leitura.

Figura 15 – Aparelho utilizado para avaliação de atividade de água

3.3.3 Análise Estatística

Os dados experimentais de umidade e atividade de água foram analisados estatisticamente utilizando análise de variância (ANOVA), através das ferramentas estatísticas do programa Excel. Não foram realizadas as análises estatísticas de variância dos dados dos ensaios microbiológicos, devido à grande variabilidade encontrada nos dados experimentais, o que fere uma das pressuposições para análise de variância.

Foram realizadas comparações múltiplas de médias para umidade e atividade de água, utilizando o Teste “t” de Student ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das análises foram comparados aos padrões microbiológicos, nacional e internacional. Utilizou-se para comparação o padrão da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, conforme a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA, 2008). Também foram utilizados os padrões da International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis e da National Canners Association (ROTEIRO..., 2008). A Tabela 4 mostra os padrões utilizados para comparação dos resultados obtidos.

Tabela 4 - Padrões microbiológicos utilizados para açúcares

	National Canners		
	ANVISA	Association	ICUMSA
<i>Salmonella</i>	Ausência/25g	Ausência/25g	-
Coliformes totais e termotolerantes	10 ² NMP/g	Ausência	Ausência
Bactérias mesófilas	-	50UFC/g	200UFC/10g
Bolores e Leveduras	-	50UFC/g	20UFC/10g
Esporos “flat-sour”	-	50esp/10g	50esp/10g
Esporos H₂S (+)	-	5esp/10g	5esp/10g
Esporos H₂S (-)	-	< 65% (+)	< 65% (+)

Adaptado de: Roteiro... (2008)

4.1 Resultados das análises microbiológicas para bactérias mesófilas

Foram analisadas 5 lotes de açúcar mascavo de marcas comerciais denominadas como A, B, C, D, E, F, G, H e I e 4 lotes da marca J. Os resultados obtidos para contagem de bactérias mesófilas encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Análises microbiológicas de bactérias mesófilas

Bactérias mesófilas (UFC/g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	1,9x10 ¹	1,6x10 ¹	1,7x10 ¹	1,2x10 ¹	8,0
B	<1	7,0	7,0	2,0	3,0
C	1,3x10 ¹	2,0x10 ¹	1,6x10 ¹	5,5x10 ¹	6,0
D	8,0	5,8x10 ¹	2,8x10 ¹	3,4x10 ¹	3,8x10 ¹
E	1,9x10 ¹	3,6x10 ¹	2,9x10 ¹	5,0	6,0
F	1,14x10 ²	2,0x10 ²	2,2x10 ¹	1,35x10 ²	1,04x10 ²
G	3,0	1,0	9,0	3,0	5,0
H	<1	3,0	3,0	1,0	<1
I	<1	5,3x10 ¹	2,25x10 ²	1,88x10 ²	4,0
J	<1	3,0	3,0	2,0	--

Nota: Sinal convencional utilizado:

-- Não determinado

Em relação aos padrões da National Canners Association, alguns lotes das marcas C, D, F e I, não atenderam ao limite estabelecido, uma vez que os valores não poderiam ultrapassar a 50UFC/g. Os valores encontrados nos lotes 1 (1,14x10²UFC/g), 2 (2,0x10²UFC/g), 4 (1,35x10²UFC/g) e 5 (1,04x10²UFC/g) da marca F e nos lotes 3 (2,25x10²UFC/g) e 4 (1,88x10²UFC/g) da marca I são muito superiores ao limite de 50UFC/g estabelecido, o que indica condição higiênico-sanitária insatisfatória, já que a presença de bactérias mesófilas em alimentos não perecíveis indica utilização de matéria-prima contaminada ou processamento insatisfatório do ponto de vista sanitário (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

As marcas A, B, E, G, H e J estão de acordo com os padrões da National Canners Association que é de 50UFC/g, sendo que o maior valor encontrado entre essas marcas, foi 36UFC/g no lote 2 da marca E, que está dentro do permitido. Segundo Parazzi et al. (2009), a presença dessas bactérias indica o histórico de manipulação que o produto foi submetido, podendo-se inferir que, no caso dessas marcas, a produção do açúcar ocorreu sem contato manual, ou ainda com controle rigoroso de higiene.

Em estudo realizado por Generoso et al. (2009) de trinta e uma amostras de açúcar mascavo analisadas, dez não atendiam ao limite de 50UFC/g para bactérias mesófilas. Verruma-Bernardi et al. (2007), analisaram nove marcas de açúcar mascavo

em relação a bactérias mesófilas e dessas, três apresentaram valores acima do tolerável pelos padrões internacionais.

A Figura 16 mostra o percentual das marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com a National Canners Association, considerando os índices de bactérias mesófilas encontradas.

Figura 16 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bactérias mesófilas pela National Canners Association

Em relação ao padrão da ICUMSA (20UFC/g) alguns lotes das marcas C, D, E, F e I, apresentaram contagem de bactérias mesófilas superiores aos estabelecidos. As marcas A, B, G, H e J apresentaram valores dentro dos limites toleráveis pela ICUMSA, indicando que esses açúcares estão em condições de serem consumidos e/ou utilizados como ingredientes e provavelmente não comprometerão a qualidade dos alimentos.

As amostras das marcas F e I apresentaram as maiores contagens desses microrganismos, o que de acordo com Parazzi et al. (2009) pode significar alto grau de manipulação do produto durante as etapas de fabricação.

Singh et al. (2009), analisaram amostras de açúcar mascavo com diferentes períodos de armazenamento e observaram uma grande variabilidade nas contagens de microrganismos. Segundo os autores essa grande variação na contaminação do produto nas diferentes amostras de açúcar mascavo é consequência de diferenças nos cuidados higiênicos observados durante os processos de produção e armazenamento.

A Figura 17 mostra o percentual das marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com a ICUMSA, considerando os índices de bactérias mesófilas encontradas.

Figura 17 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bactérias mesófilas pela ICUMSA

4.2 Resultados das análises microbiológicas para bolores e leveduras

Os resultados obtidos na contagem de bolores e leveduras das amostras analisadas encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Análises microbiológicas de bolores e leveduras

Bolores e Leveduras (UFC/g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	4,0	3,0	2,0	2,0	<1
B	1,0	3,0	1,0	1,0	2,0
C	1,0	1,0	1,0	1,0	5,0
D	2,0	1,0	2,0	3,0	2,0
E	2,0x10 ¹	5,0	3,0	1,0	1,0
F	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0
G	3,0	2,0	<1	1,0	1,0
H	3,0	2,0	1,0	3,0	2,0
I	2,0	1,0	2,0	2,0	3,0
J	5,0	8,0	4,9x10 ¹	9,0	--

Nota: Sinal convencional utilizado:

-- Não determinado

Todas as marcas apresentaram contagem de bolores e leveduras dentro dos padrões estabelecidos pela National Canners Association para esses contaminantes (50UFC/g).

Esse baixo crescimento de bolores e leveduras pode estar relacionado ao fato de que as amostras analisadas apresentaram teores de umidade relativamente baixos, e valores de atividade de água que variaram de 0,55 a 0,64, que não são considerados como favoráveis ao desenvolvimento microbiano. Segundo Silva e Parazzi (2003) açúcares com elevado teor de umidade apresentam maior crescimento de bolores e leveduras.

A Figura 18 mostra o percentual das amostras que se apresentaram em acordo e desacordo com a legislação para bolores e leveduras.

Figura 18 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bolores e leveduras pela National Canners Association

Já em relação ao padrão ICUMSA apenas a marca F, satisfaz as exigências, que são de 20UFC/10g. Todas as outras marcas apresentaram lotes com valores superiores ao padrão ICUMSA para bolores e leveduras.

Vale ressaltar, que embora apenas a marca (F) tenha satisfeito totalmente as exigências do padrão ICUMSA (2UFC/g), todos os lotes de todas as marcas, apresentaram baixas contagens de bolores e leveduras, com apenas o lote 3 da marca (J) tendo apresentado contagem >20UFC/g. A maioria das marcas analisadas, apresentou lotes que também atendem aos padrões ICUMSA: marca (A) 60% dos lotes,

(B) 80% dos lotes, (C) 80% dos lotes, (D) 80% dos lotes, (E) 40% dos lotes, (F) 100% dos lotes, (G) 80% dos lotes, (H) 60% dos lotes, (I) 80% dos lotes.

Uppal, Thind e Gill, (2005), observaram crescimento de fungos em açúcar mascavo com apenas 45 dias de armazenamento em temperatura ambiente após a produção.

A Figura 19 mostra o percentual das amostras que se apresentaram em acordo e desacordo com a legislação para bolores e leveduras.

Figura 19 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para bolores e leveduras pela ICUMSA

4.3 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S

Os resultados obtidos para as análises de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S das amostras de açúcar mascavo estão expostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Análises de esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S

Esporos de bactérias termófilas não produtoras de H₂S (número de tubos positivos)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	0	0	0	0	0
B	1	1	0	0	1
C	4	1	0	0	0
D	0	0	0	0	0
E	0	0	4	0	0
F	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0
I	1	0	0	2	0
J	0	0	0	0	--

Nota: Sinal convencional utilizado:
 -- Não determinado

A Figura 20 mostra um tubo positivo para a análise de esporos de bactérias termófilas não produtoras de H₂S, com a produção de gás e elevação do selo.

Figura 20 – Presença de esporos de bactérias termófilas não produtoras de H₂S (formação de gás)

Todas as marcas apresentaram resultados dentro dos padrões da National Canners Association e da ICUMSA (< 65% de tubos positivos). Isso mostra que a qualidade dos açúcares analisados foi satisfatória em relação a este tipo de microrganismo. Segundo Ashton e Bernard (2001) esses microrganismos têm sido responsáveis pela deterioração de produtos com valores de pH 4,1 a 4,5, e ingredientes como açúcar, leite desidratado, amido, farinhas, cereais, massas alimentares tem sido

predominantemente as fontes de termófilos anaeróbios. A Figura 21 mostra o percentual das amostras que estavam em acordo e desacordo com os padrões.

Figura 21 - Percentual de amostras que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias termófilas anaeróbias não produtoras de H₂S pela National Cannery Association e ICUMSA

4.4 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”

Os resultados obtidos para as análises de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”, das amostras de açúcar mascavo estão expostos na Tabela 8.

Tabela 8 - Análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour”

Esporos de bactérias termófilas aeróbias “flat-sour” (UFC/10g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	<1	5,0	<1	<1	<1
B	8,5x10 ¹	3,5x 10	2,5x10	1,0x10	4,0x10
C	1,5x10	5,0	<1	1,0x10	<1
D	<1	<1	<1	<1	<1
E	8,5x10 ¹	1,05x10 ²	1,35x10 ²	6,0x10 ¹	3,0x10
F	<1	<1	5,0	<1	<1
G	1,5x10	2,0x 10	5,0	<1	5,0
H	2,0x 10	1,0x 10	1,0x10	5,0	2,5x10
I	1,5x10	1,5x10	5,5x10 ¹	5,0	2,5x10
J	<1	<1	5,0	<1	--

Nota: Sinal convencional utilizado:
-- Não determinado

As marcas A, C, D, F, G, H e J apresentaram resultados dentro dos limites tolerados pela ICUMSA e pela National Canners Association, indicando qualidade satisfatória das amostras analisadas para estes microrganismos. Já as marcas B (lote 1), E (lotes 1, 2, 3 e 4) e I (lote 3) não atenderam aos padrões. A deterioração por esta bactéria é freqüente, principalmente em alimentos enlatados e elaborados com açúcar contaminado, onde ocorre acidificação do produto sem produção de gás.

Das 10 marcas analisadas, a marca (E) foi a que apresentou os maiores índices de contaminação por esporos de bactérias “flat-sour”, com 80% dos lotes analisados ultrapassando os padrões estabelecidos pela ICUMSA e pela National Canners Association.

Das marcas analisadas e que atenderam aos padrões ICUMSA e National Canners Association, a marca D, foi a melhor, já que nenhum lote apresentou contaminação por esporos de bactérias “flat-sour”.

Silva e Parazzi (2003), assim como o presente trabalho, analisaram amostras de mascavo provenientes de estabelecimentos comerciais, e os valores encontrados para esporos de bactérias aeróbias “flat-sour” foi de 800UFC/10g, muito acima dos padrões internacionais exigidos pela National Canners Association e ICUMSA. Esses resultados mostram a importância do controle desses microrganismos, já que se esses açúcares forem utilizados na elaboração de alimentos podem comprometer a qualidade do produto final.

Para Hoffmann, Cruz e Vinturim (1992) a presença desses microrganismos no alimento não tem significância de saúde pública, porém em número excessivo pode sobreviver aos processos térmicos ocasionando a deterioração em alimentos enlatados pouco ácidos.

Pietro e Parazzi (2004), também relataram números elevados (783UFC/10g) de esporos de bactérias aeróbias “flat-sour” em amostras de açúcar mascavo de pequenos produtores, o que reforça a importância de analisar esses microrganismos em açúcar.

A Figura 22 mostra o percentual das amostras que estavam em acordo e desacordo com a legislação.

Figura 22 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias aeróbias “flat-sour” pela National Canners Association e ICUMSA

4.5 Resultados das análises microbiológicas de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H₂S, *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes

Os resultados obtidos nas análises de esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H₂S, *Salmonella* e coliformes totais e termotolerantes das amostras de açúcar mascavo estão expostos nas Tabelas 9, 10 e 11.

Tabela 9 - Resultados das análises de esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H₂S

Esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H ₂ S (UFC/4g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	<1	<1	<1	<1	<1
B	<1	<1	<1	<1	<1
C	<1	<1	<1	<1	<1
D	<1	<1	<1	<1	<1
E	<1	<1	<1	<1	<1
F	<1	<1	<1	<1	<1
G	<1	<1	<1	<1	<1
H	<1	<1	<1	<1	<1
I	<1	<1	<1	<1	<1
J	<1	<1	<1	<1	--

Nota: Sinal convencional utilizado:
 -- Não determinado

Tabela 10 - Resultados das análises microbiológicas de *Salmonella*

<i>Salmonella</i> (25g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-
F	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-
J	-	-	-	-	--

Nota: Sinais convencionais utilizados:

- Ausência
- Não determinado

Tabela 11 - Resultados das análises microbiológicas para bactérias do grupo coliformes

Coliformes (NMP/g)					
Marca	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
A	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
B	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
C	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
D	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
E	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
F	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
G	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
H	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
I	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
J	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	--

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Não determinado

Todas as marcas analisadas apresentaram resultados satisfatórios para as análises de esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H₂S, *Salmonella* e coliformes totais e termotolerantes. Sendo assim todas as marcas analisadas atendem os limites estabelecidos para *Salmonella* e bactérias do grupo coliformes, de acordo

com a RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA, 2008) e para bactérias produtoras de H_2S segundo a National Canners Association e ICUMSA (ROTEIRO..., 2008).

Em estudos anteriormente realizados por Silva e Parazzi (2003) e Generoso et al. (2009) também foi observada a ausência de coliformes totais e fecais, assim como de *Salmonella*, confirmando que as exigências estabelecidas pela legislação brasileira (10^2 NMP/g para coliformes e ausência de *Salmonella* em 25g), estão sendo atendidas.

Os limites estabelecidos pela ICUMSA e pela National Canners Association para esporos de bactérias produtoras de H_2S é de apenas 5 esporos/10g; diante disso, pode-se considerar que as marcas analisadas estão isentas de contaminação por este tipo de microrganismo, uma vez que não foi observado crescimento (<1 UFC/4g) em todos os lotes das marcas analisadas.

Hoffmann, Cruz e Vinturim (1992), analisaram dez amostras de açúcar refinado, para esporos de bactérias produtoras de deterioração sulfídrica, sendo que 100% das amostras apresentaram-se fora do padrão internacional de 5 esporos/10gramas de produto.

Silva e Parazzi (2003) analisando açúcar mascavo observaram valores dentro do limite estabelecido para esporos de bactérias produtoras de H_2S .

Pelos resultados da presente pesquisa, constata-se que o açúcar mascavo pode ser consumido ou utilizado como ingrediente em alimentos, considerando-se como parâmetros microbiológicos a análise de esporos de bactérias termófilas anaeróbias produtoras de H_2S , coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Salmonella*.

A Figura 23 mostra o percentual das marcas e lotes que estavam em acordo e desacordo com os padrões estabelecidos para *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes e esporos de anaeróbias produtoras de H_2S .

Figura 23 - Percentual de marcas e lotes que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados para esporos de bactérias anaeróbias produtoras de H_2S , *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes pela ANVISA, National Canners Association e ICUMSA

4.6 Percentual de adequação das marcas analisadas

Em relação a qualidade microbiológica das marcas de açúcar mascavo, analisando-as individualmente, observou-se que todas se encontravam dentro dos padrões permitidos pela legislação brasileira, com 100% de adequação para coliformes e *Salmonella* (Figura 24). Para os padrões microbiológicos da National Canners Association as marcas A, G, H e J também atenderam a 100% das exigências; sendo assim essas marcas poderiam ser comercializadas tanto no mercado interno como externo. As outras marcas, ao contrário, não atenderam aos padrões internacionais, pois não estavam 100% adequadas à esta legislação. Para o padrão ICUMSA nenhuma marca satisfaz plenamente às exigências de qualidade microbiológica, inviabilizando a exportação desses açúcares para as locais onde se estabelece este padrão de qualidade.

Figura 24 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão ANVISA

Em relação ao padrão internacional da National Canners Association apenas quatro marcas (A, G, H e J) estavam em conformidade, atendendo 100% as exigências, o que representa apenas 40% das marcas, as demais (60%) apresentaram um nível de adequação inferior a 100% como mostra a Figura 25. A marca I apresentou o resultado mais insatisfatório do ponto de vista microbiológico com apenas 71% de adequação ao padrão.

Figura 25 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão National Canners Association

Para o padrão ICUMSA nenhuma das marcas analisadas apresentou nível de adequação de 100%, ou seja, todas foram reprovadas para esse padrão. Como mostra a Figura 26 as marcas A, F, G, H e J foram as que mais se aproximaram do atendimento às exigências, com percentuais de 83%, ficando com percentuais intermediários as marcas B, C, e D, com 67% e as piores foram as marcas E e I, com 50% de atendimento aos padrões microbiológicos.

Figura 26 – Percentual de adequação das marcas analisadas em relação ao padrão ICUMSA

Levando em consideração que esses açúcares são produzidos para serem comercializados em diferentes localidades e para isso devem atender padrões higiênico-sanitários estabelecidos por órgãos nacionais ou internacionais, as Figuras 27, 28 e 29 mostram o percentual de adequação geral considerando todas as marcas em relação aos padrões microbiológicos estabelecidos pela ANVISA, National Cannery Association e ICUMSA.

Figura 27 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões microbiológicos tolerados pela ANVISA (coliformes e *Salmonella*)

Figura 28 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões microbiológicos tolerados pela National Cannery Association (mesófilas, bolores e leveduras, H₂S (+), H₂S (-), esporos “flat-sour”, *Salmonella* e coliformes)

Figura 29 - Percentual de marcas que se apresentaram em acordo e desacordo com os padrões tolerados pela ICUMSA (mesófilas, bolores e leveduras, H₂S (+), H₂S (-), esporos “flat-sour” e coliformes)

Considerando os resultados das análises microbiológicas e levando em consideração os mercados para onde estes produtos podem ser destinados, pode-se dizer que esses açúcares atendem apenas aos padrões do mercado interno, pois estão de acordo com a legislação brasileira para açúcar mascavo e similares, porém em relação ao mercado externo estas marcas não apresentaram qualidade microbiológica para atender o mercado internacional.

4.7 Resultados da determinação de umidade

A determinação de umidade (%) diferiu consideravelmente entre as marcas. Os valores de umidade variaram de 1,94 a 3,63%, mostrando que não há padronização entre as marcas. Os teores de umidade mais elevados (3,63 e 3,49%) foram das marcas F e G.

Na Tabela 12 encontram-se os resultados obtidos na determinação da umidade.

Tabela 12 - Valores obtidos na determinação da umidade

Marca	Umidade (%)					Média
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	
A	3,135	2,670	2,965	2,325	3,232	2,8654
B	2,804	2,791	2,641	2,814	2,832	2,7764
C	2,724	2,835	2,866	2,892	2,533	2,7700
D	2,701	2,786	2,958	2,424	2,509	2,6756
E	2,126	2,032	2,243	2,110	1,940	2,0902
F	3,807	3,964	3,069	3,795	3,546	3,6362
G	3,625	3,354	3,566	3,620	3,318	3,4966
H	1,832	1,967	1,839	2,132	1,961	1,9462
I	2,467	2,635	3,927	2,824	2,390	2,8486
J	2,842	2,872	2,993	2,874	--	2,8952

Nota: Sinal convencional utilizado:

-- Não determinado

De acordo com a análise de variância (ANOVA), para os ensaios de umidade (%) pode-se dizer que houve diferença entre as marcas ao nível de 5% de significância (Tabela 13).

Tabela 13 – Análise estatística para os valores de Umidade (%)

Fontes da variação	SQ	GI	QM	F	valor-P	F crítico
Marcas	12,2398	9	1,35998	17,047669	$5,9 \times 10^{-11}$	2,130597
Resíduo	3,11124	39	0,07978			
Total	15,3511	48				

Considerando que houve diferença significativa entre as marcas, foi aplicado o teste “t” de Student para melhor compreensão dos resultados, uma vez que este indica entre quais marcas há diferença significativa. A Tabela 14 refere-se ao resultado do teste.

Tabela 14 – Diferença entre médias das marcas para a variável Umidade (%)

Marcas	Umidade (%) (Média)
A	2,86547 b
B	2,77641 b
C	2,77004 b
D	2,67559 b
E	2,09026 c
F	3,63640 a
G	3,49630 a
H	1,94617 c
I	2,84851 b
J	2,89537 b

Nota: Letras iguais após os valores das médias indicam ausência de diferença significativa, ao nível de 5% de significância
DMS (Diferença mínima significativa) = 0,3641

No caso das marcas A, B, C, D, I e J pode-se dizer que estas não diferem entre si significativamente, porém diferem das marcas E, F, G e H. As marcas E e H diferem porém das marcas F e G, que por sua vez não diferem entre si.

Na Figura 30, pode-se observar graficamente quais marcas apresentaram os maiores teores de umidade.

Figura 30 – Valores de umidade (%) das amostras analisadas

Parazzi et al. (2009) em análise de diferentes tipos de açúcar, observaram valores de umidade de até 4,84% em açúcar mascavo, sendo cerca de onze vezes maior que das amostras de açúcar cristal. Ainda segundo os autores, o principal

problema relacionado à umidade elevada é a diminuição do tempo de prateleira do produto, pois alta umidade pode dar condições ao desenvolvimento de microrganismos.

Segundo Hussain et al. (2008), amostras de açúcar mascavo produzido a partir de diferentes variedades de cana-de-açúcar, apresentaram teores de umidade que variaram de 4,38 a 5,73%. Ainda segundo os autores quando o teor de umidade está acima de 6%, ocorre perda de qualidade e deterioração do produto.

Guerra e Mujica (2010), em análise de amostras de açúcar mascavo encontraram valores de umidade que variaram de 1,66 a 4,36%. Em estudo realizado por Verruma-Bernardi et al. (2007) foram observados em açúcar mascavo, teores de umidade, com valores que variaram entre 1,35 e 4,44%. Generoso et al. (2009) encontraram valores de umidade em amostras de açúcar mascavo, que variaram de 2,13% a 6,02%.

Em estudo realizado por Silva e Parazzi (2003) foi observado que as amostras de açúcar que apresentaram teor mais elevado de umidade foram as amostras que apresentaram maior crescimento de bolores e leveduras, diferindo do presente trabalho onde não houve essa correlação.

De acordo com Delgado e Delgado (1999), a umidade do açúcar mascavo deve ser inferior a 1,0 - 1,5%, para melhor conservação do produto. Entretanto, observam-se valores bem acima desse ideal como no lote 2 da marca F que apresentou umidade de 3,96%. Se considerar a faixa ideal de umidade para açúcar mascavo (1,0 - 1,5%), de acordo com Delgado e Delgado (1999), nenhuma das marcas analisadas, atende a estes percentuais.

De acordo com Andrés Mosquera, Eliécer Carrera e Samuel Villada (2007), fatores relacionados à umidade, composição e condições de armazenamento, influenciam a deterioração do açúcar mascavo. Com o aumento da absorção da umidade, ocorre mudança na cor do produto, aumento dos açúcares redutores e diminuição do teor de sacarose.

Além do problema relacionado à estabilidade microbiológica, a umidade do açúcar mascavo está associada diretamente a sua qualidade, uma vez que quando elevada pode alterar as características físicas do produto, podendo ocasionar o empedramento pela aglomeração dos cristais, tornando-o menos atrativo ao

consumidor. De acordo com Verruma-Bernardi et al. (2007) o açúcar mascavo mais apreciado sensorialmente é o que apresenta pouca umidade visual.

4.8 Resultados da determinação da atividade de água

Em relação à atividade de água, os resultados variaram de 0,55 a 0,64 para a temperatura média de 25°C. As maiores atividades de água foram registradas nas marcas A (0,63), F (0,61), G (0,63), I (0,64) e J (0,62), e o fato dessas marcas apresentarem Aa acima de 0,60, pode comprometer a estabilidade microbiológica das mesmas, pois valores acima deste permitem o crescimento microbiano, diminuindo o tempo de vida útil do produto. Na Tabela 15 encontram-se os resultados obtidos na determinação da atividade de água.

Tabela 15 - Valores obtidos na determinação da atividade de água

Marca	Atividade de água					Média
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	
A	0,637	0,663	0,619	0,649	0,616	0,636
B	0,573	0,569	0,604	0,610	0,577	0,586
C	0,565	0,578	0,604	0,608	0,564	0,583
D	0,549	0,627	0,624	0,547	0,548	0,579
E	0,580	0,564	0,559	0,553	0,535	0,558
F	0,612	0,618	0,613	0,632	0,608	0,616
G	0,659	0,629	0,632	0,629	0,619	0,633
H	0,588	0,597	0,583	0,579	0,581	0,585
I	0,643	0,630	0,653	0,679	0,616	0,644
J	0,638	0,621	0,609	0,614	--	0,620

Nota: Sinal convencional utilizado:

-- Não determinado

De acordo com a análise de variância (ANOVA), para os ensaios de atividade de água, pode-se dizer que houve diferença entre as marcas ao nível de 5% de significância (Tabela 16).

Tabela 16 – Análise estatística para os valores de Atividade de água

Fontes da variação	SQ	GI	QM	F	valor-P	F crítico
Marcas	0,038582	9	0,004287	9,658983	$1,44 \times 10^{-7}$	2,130597
Resíduo	0,017309	39	0,000444			
Total	0,055891	48				

Considerando que houve diferença significativa entre as marcas, foi aplicado o teste “t” de Student para melhor compreensão dos resultados. Na Tabela 17 estão expostos os resultados do teste para variável atividade de água.

Tabela 17 – Diferença entre médias das marcas para a variável Atividade de água

Marcas	Atividade de água (Média)
A	0,6368 cd
B	0,5866 b
C	0,5838 ab
D	0,579 ab
E	0,5582 a
F	0,6166 c
G	0,6336 cd
H	0,5856 b
I	0,6442 d
J	0,6205 cd

Nota: Letras iguais após os valores das médias indicam ausência de diferença significativa, ao nível de 5% de significância.

DMS (Diferença mínima significativa) = 0,02695

Pode-se observar que a marca E, difere das marcas A, B, F, G, H, I e J, porém não difere das marcas C e D. As marcas B, C, D e H não diferem entre si, porém diferem das demais marcas, assim como as marcas A, F, G e J não diferem entre si e diferem das demais.

Na Figura 31, pode-se observar graficamente quais marcas que apresentaram os maiores valores de atividade de água.

Figura 31 – Valores de atividade de água das amostras analisadas

A atividade de água para se considerar o alimento estável microbiologicamente deve estar abaixo de 0,60 (GUIDI; FERREIRA; PEREIRA, 2009), porém as marcas A (0,63), F (0,61), G (0,63), I (0,64) e J (0,62), apresentaram valores um pouco acima, sendo essas mais favoráveis ao crescimento microbiano.

Segundo Guidi, Ferreira e Pereira (2009), o valor de umidade do açúcar mascavo deve ser menor que 3,9 % para que a atividade de água seja menor do que 0,60, já que a maioria dos microrganismos não cresce nessa faixa de atividade de água, apenas sobrevive. Porém, no presente trabalho foram observados resultados de atividade de água acima de 0,60 a uma umidade inferior a 3,9%, como no caso das marcas A (Aa= 0,636 e Umidade= 2,8654%), F (Aa= 0,616 e Umidade= 3,6362%), G (Aa= 0,633 e Umidade= 3,4966%), I (Aa= 0,644 e Umidade= 2,8486%) e J (Aa= 0,620 e Umidade= 2,8952%), dados que não condizem com a colocação feita pelos referidos autores.

Guerra e Mujica (2010) analisaram a atividade de água de amostras de açúcar mascavo, sendo que os valores encontrados variaram de 0,48 a 0,70 a uma temperatura média de 27,8°C.

O coeficiente de variação para umidade (%) e atividade de água foi 10% e 3,5% respectivamente, enquanto para os ensaios microbiológicos o coeficiente foi acima de 100%, o que indica alta variabilidade das amostras dos diferentes lotes de cada marca, impossibilitando a análise de variância.

O alto grau de variação entre as marcas pode indicar que as condições microbiológicas das mesmas não apresentam uniformidade. Essa variação pode estar associada a dois principais fatores: falta de padronização higiênico-sanitária no processo de produção e as condições de armazenamento que esses produtos se encontravam, proporcionando diferentes graus de contaminação microbiológica.

5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, conclui-se que as diferentes marcas de açúcar mascavo comercializadas em Araras-SP, estavam de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para bactérias do grupo coliformes totais e termotolerantes, além de *Salmonella*.

Apenas 40% das marcas de açúcar mascavo avaliadas atenderam aos padrões estabelecidos pela National Canners Association, enquanto que para a ICUMSA nenhuma das marcas atendeu aos requisitos microbiológicos mínimos, para comercialização.

As amostras de açúcar mascavo analisadas podem ser comercializadas apenas no mercado interno, pois não apresentam qualidade microbiológica para atender as exigências do mercado internacional.

A umidade dos açúcares analisados variou de 1,94 a 3,64%, enquanto que para a atividade de água os valores variaram de 0,55 a 0,64.

Os resultados das análises realizadas nas amostras de açúcar mascavo evidenciam que a tendência, em termos da qualidade microbiológica dos produtos encontrados no mercado é de apresentarem-se de acordo com os parâmetros legais vigentes no país.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=a%C3%A7%C3%BAcar%20mascavo>>. Acesso em: 31 ago. 2008.

_____. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Resolução – CNNPA nº 12, de 1978**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf>. Acesso em: 22 maio 2010.

ANDRÉS MOSQUERA, S.; ELIÉCER CARRERA, J.; SAMUEL VILLADA, H. Variables que afectan la calidad de la panela procesada en el departamento del cauca. **Facultad de Ciencias Agropecuárias**, Palmira, v. 5, n.1, p. 17-27, mar. 2007.

ANJOS, I.A.; SILVA, D.N.; CAMPANA, M.P. Cana-de-açúcar como forrageira. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008. p. 725-745.

ASHTON, D.; BERNARD, D.T. Thermophilic anaerobic sporeformers. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA, 2001. p. 249-252.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR11246**: açúcar: contagem de bactérias mesófilas aeróbias (método I). Rio de Janeiro, 1988a. 2p.

_____. **NBR11248**: açúcar: determinação da contagem de bolores e leveduras. Rio de Janeiro, 1988b. 2 p.

_____. **NBR11250**: açúcar: determinação do número mais provável (NMP) de bactérias coliformes totais e fecais. Rio de Janeiro, 1988c. 3 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**: official method 989. 17th ed. Arlington, 2000. 1 v.

CADAVID, G.O. **Manual técnico:** Buenas Prácticas Agrícolas -BPA- y Buenas Prácticas de Manufactura -BPM-en la producción de caña y panela. Rome: FAO, 2007. 199 p.

CASTILLO ORTIZ, M.I.; GANCHOZO MONCAYO, M.F. **Proyecto de inversión:** elaboración e y comercialización de la panela granulada “nutripanela” em la ciudad de Guayaquil. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica Del Litoral, 2004. Proyecto de grado previo a la obtención del título de Economista com mención em Gestión Empresarial, especialización Finanzas y Marketing. 132p.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Division of Foodborne, Bacterial and Mycotic Diseases. **Salmonellosis**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/salmonellosis_gi.html>. Acesso em: 22 out. 2009.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA “PROF. ALEXANDRE VRANJAC”. **Informenet DTA:** informações sobre doenças transmitidas por água e alimentos. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/hidrica/hidri_estat.html>. Acesso em: 27 maio 2010.

CHAVES, J.B.P. **Como produzir rapadura, melado e açúcar mascavo**. Viçosa: CPT, 1998. 36 p.

DABOIN H., O.; MARTÍNEZ L., E.; SEGOVIA L., E. Descripción del proceso de comercialización de la panela, estado Trujillo, Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, Maracaibo, v. 22, p. 72-84, 2005.

DELGADO, A.A.; DELGADO, A.P. **Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado**. Piracicaba: Alves, 1999. 154 p.

DELGADO, A.A.; OLIVEIRA, E.R. de; NOVAES, F.V. **Curso de tecnologia do açúcar:** teórico-prático. Piracicaba: ESALQ, 1970. 226 p.

DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para a medida da atividade da água**. 2000. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DONELLY, L.S.; HANNAH, T. Sulfide spoilage sporeformers. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA, 2001. p. 253-255.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 182 p.

GENEROSO, W.C.; BORGES, M.T.M.R.; CECCATO ANTONINI, S.R.; MARINO, A.F.; SILVA, M.V.M. e; NASSU, R.T.; VERRUMA-BERNARDI, M.R. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavos comerciais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 259-268, 2009. Disponível em: <http://revista.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=27&func=startdown&id=498>. Acesso em: 08 abr. 2010.

GONZALEZ ROJAS, M.C. **Sistema agroalimentario localizado de trapiches paneleros en Santander de Quilichao Departamento del Cauca – Colombia**. Cali: Corpotunía; Centro Internacional de Agricultura Tropical; PRODAR, 2003. 53 p. Disponível em: <<http://infoagro.net/shared/docs/a5/sial%20panela%20Santander%20-%20inf.final.pdf>>. Acesso em: 31 ago. 2008.

GUERRA, M.J.; MUJICA, M.V. Propriedades físicas e químicas de rapaduras granuladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 250-257, jan./mar. 2010.

GUIDI, L.R.; FERREIRA, T.G.; PEREIRA, J.A.M. Determinação de isotermas de sorção de açúcar mascavo. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 16.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 2., 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Disponível em: <http://www.hbatools.com.br/congresso/trabalho/42/105346_1.doc>. Acesso em: 30 set. 2009.

HOFFMANN, F. L.; CRUZ, C. H.G.; VINTURIM, T. M. Avaliação das características microbiológicas de amostras de açúcar refinado de diferentes marcas comerciais obtidas na região de São José do Rio Preto. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 10, n. 1, p. 75-82, jan./jun. 1992.

HUSSAIN, F.; SARWAR, M.A.; MUNIR, M.A.; UMER, M.; CHATTA, A.A.; BILAL, M.; YASIN, M. Role of cane varieties in sugar industry and gur making. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 46, n. 2, p. 171-181, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Açúcar**. Rio de Janeiro, 1999. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/acucar.asp>>. Acesso em: 22 out. 2009.

INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS. **ICUMSA methods book supplement 2005**. Peterborough, 2005. 740 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganismos de los alimentos 6: ecología microbiana de los productos alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 2001. 593 p.

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

LAVANHOLI, M.G.D.P. Qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima para produção de açúcar e álcool. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008. p. 697-722.

LOPES, C.H.; BORGES, M.T.M.R. **Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado de cana**. Araras: SEBRAE, 1998. 44 p.

_____. **Fabricação de açúcar mascavo, rapadura e melado de cana**. Araras: UFSCar, CCA, 2004. 50 p.

MOZAMBANI, A.E.; PINTO, A.S.; SEGATO, S.V.; MATTIUZ, C.F.M. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; SENE, A.P. de; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. de. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 11-18.

MUJICA, M.V.; GUERRA, M.; SOTO, N. Efecto de la variedad, lavado de la caña y temperatura de punte o sobre la calidad de la panela granulada. **Interciência**, Caracas, v. 33, n. 8, p. 598-603, aug. 2008.

NATALINO, R. **Caracterização de açúcar mascavo aplicando análise das componentes principais a dados espectrométricos**. 2006. 37 p. Tese (M.S. em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

OLIVEIRA, D.T.; ESQUIAVETO, M.M.M.; SILVA JÚNIOR, J.F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, supl., p. 99-102, ago. 2007

OLSON, K.E.; SORRELLS, K.M. Thermophilic flat sour sporeformers. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA, 2001. p. 245-248.

PARANHOS, S.B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, 431 p.

PARAZZI, C.; JESUS, D.A.; LOPES, J.C.; VALSECHI, O.A. Análises microbiológicas do açúcar mascavo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 3, p. 32-40, maio/jun. 2009.

PIETRO, W.D.; PARAZZI, C. Aspectos microbiológicos do açúcar mascavo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. **Ciência e tecnologia de alimentos: estratégia para o desenvolvimento**. São Paulo: SBCTA, 2004. p. 106.

RAMOS, P.; STOREL JÚNIOR, A.O. O açúcar e as transformações nos regimes alimentares. **Cadernos de Debate**, Campinas, v. 8, p. 36- 54, 2001.

RAY, B.; BHUNIA, A. **Fundamental food microbiology**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 492 p.

RODRÍGUEZ ZEVALLOS, A.R.; MAYELA ARMAS, M.E. Panela granulada ecológica. **Antenor Orrego**, Trujillo, v. 15, n. 22, p.47-55, ene./jul. 2004.

ROTEIRO para treinamento de controle microbiológico do açúcar. Piracicaba: Fermentec, 2008. 53 p.

SANTOS, E.J.; PESSOA, G.P.; VASCONCELOS, I.E. Produção integrada de açúcar mascavo, rapadura e aguardente: uma pequena empresa gerando emprego e renda e atenuando os efeitos da entressafra: uma alternativa pernambucana. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 17., 1997, Gramado. **Anais...** Gramado: UFRGS, 1997.

SILVA, A.R.; PARAZZI, C. Monitoramento microbiológico do açúcar mascavo. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2003, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2003. 1 CD-ROM.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S. dos; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

SINGH, S.; DUBEY, A.; TIWARI, L.; VERMA, A.K. Microbial profile of stored jaggery: a traditional indian sweetener. **Sugar Tech**, New Delhi, v.11, n. 2, p. 213-216, 2009.

SOARES, R.A.B.; GARCIA, J.C.; ZANATTA, G.S.C.C.; BRITO, M.C. Produção de cana orgânica. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008. p. 763-790.

SOUZA, C.M.; BRAGANÇA, M.G.L. **Processamento artesanal da cana-de-açúcar: fabricação de açúcar mascavo**. Belo Horizonte: Emater, 1999. Disponível em: <<http://www.emater.mg.gov.br/doc%5Csite%5Csereviceoseprodutos%5Clivraria%5CAgroind%C3%BAstria%5CProcessamento%20Artesanal%20da%20Cana%20de%20A%C3%A7%C3%BAcar%20-%20Fabrica%C3%A7%C3%A3o%20do%20A%C3%A7%C3%BAcar%20Mascavo.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2009.

TOMASETTO, M.Z.C.; LIMA, J.F.; SHIKIDA, P.F. Desenvolvimento local e agricultura familiar: o caso da produção de açúcar mascavo em Capanema – Paraná. **Interações**, Campo Grande, v. 10, n.1, p. 21-30, jan./jun. 2009.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Dados e cotações**: estatísticas. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica>>. Acesso em: 22 maio 2010.

UPPAL, S.K. Store of jaggery under low temperature for longer duration. **Sugar Tech**, New Delhi, v.4, n. 3/4, p. 177-178, 2002.
UPPAL, S.K.; THIND, K.S.; GILL, R.S. Relative performance of sugarcane genotypes for jaggery (gur) quality and storage. **Sugar Tech**, New, Delhi, v. 7, n. 4, p. 136-140, 2005.

VEIGA FILHO, A.A.; FRONZAGLIA, T.; TORQUATO, S.A. A necessidade de inovação tecnológica agrícola para sustentar o novo ciclo expansionista do setor sucroalcooleiro. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008. p. 855-868.

VELÁSQUEZ ARREDONDO, H.I.; CHEJNE JANNA, F.; AGUDELO SANTAMARÍA, A.F. Diagnóstico energético de los procesos productivos de la panela en Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 57, n. 2, dec. 2004.

VERRUMA-BERNARDI, M.R.; BORGES, M.T.M.R.; LOPES, C.H.; DELLA-MODESTA, R.C.; CECCATO ANTONINI, S.R. Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de açúcares mascavos comercializados na cidade de São Carlos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 3, p. 205-211, jul./set. 2007. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/bjft/2008/p08293.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2008.

ZUCON, L.T.S. **Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella spp.* isoladas de suínos**. 2008. 73 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

APÊNDICE

FICHA PARA AVALIAÇÃO

DATA DA AVALIAÇÃO: ____/____/____

NOME DO ESTABELECIMENTO:

Endereço:

Telefone:

MARCA 1:

Data de fabricação: ____/____/____

Data de validade: ____/____/____

Quantidade por embalagem: 200g () 300g () 400g () 500g () 1000g () outro ()

Material da embalagem:

Tabela Nutricional: SIM () NÃO ()

Fabricante:

MARCA 2:

Data de fabricação: ____/____/____

Data de validade: ____/____/____

Quantidade por embalagem: 200g () 300g () 400g () 500g () 1000g () outro ()

Material da embalagem:

Tabela Nutricional: SIM () NÃO ()

Fabricante:

MARCA 3:

Data de fabricação: ____/____/____

Data de validade: ____/____/____

Quantidade por embalagem: 200g () 300g () 400g () 500g () 1000g () outro ()

Material da embalagem:

Tabela Nutricional: SIM () NÃO ()

Fabricante:

OBSERVAÇÕES: