

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
Área de Tecnologia de Alimentos

**Validação da esterilização de um produto protéico vegetal  
enlatado**

**Gladistone Carvalho dos Santos Filho**

Dissertação para a obtenção do grau de  
**MESTRE**

Orientador:  
Profa. Dra. Thereza Christina Vessoni Penna

São Paulo  
2004

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
Área de Tecnologia de Alimentos

Validação da esterilização de um produto protéico vegetal  
enlatado

Gladistone Carvalho dos Santos Filho

Dissertação para a obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:  
Profa. Dra. Thereza Christina Vessoni Penna

São Paulo  
2004

18022

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S237v Santos Filho, Gladistone Carvalho dos  
Validação da esterilização de um produto protéico  
vegetal enlatado / Gladistone Carvalho dos Santos  
Filho. -- São Paulo, 2004.  
94p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências  
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento  
de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica.  
Orientador: Vessoni Penna, Thereza Christina

I. Alimentos : Esterilização : Tecnologia I. T. II.  
Vessoni Penna, Thereza Christina, orientador.

664.028 CDD

Gladistone Carvalho dos Santos Filho

Validação da esterilização de um produto protéico vegetal  
enlatado

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

---

Profa. Dra. Thereza Christina Vessoni Penna  
Orientadora/Presidente

---

Profa. Dra. Carmen Cecília Tadini  
1º. examinador

---

Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes  
2º. examinador

São Paulo, 15 de setembro de 2004.

***“Tudo posso Naquele que me fortalece”***

Filipenses 4:13

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, pois sem Ele nada somos e nada podemos fazer.

Aos meus pais, Gladstone e Orodith, pelo amor, carinho, educação e sabedoria de vida transmitida.

À minha esposa, Selma, e meus filhos, Gustavo e Marcelo, pelo amor, apoio e incentivo.

À minha orientadora e amiga, Profa. Dra. Thereza Christina Vessoni Penna, pela confiança, por acreditar em minha vontade e por ter me ensinado a pesquisar.

Ao Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

A Produtos Alimentícios Superbom, à sua Diretoria, pela confiança, pela utilização da planta industrial, e por minha liberação para execução deste trabalho.

Ao grande amigo Itamar de Paula Marques, pelo incentivo, amizade e contribuições.

Ao meu irmão Gilberto Carvalho Santos, pelo amor, amizade e motivação.

Às minhas amigas Cristina e Ídia, pelo carinho e constante cooperação e ao amigo Isley, pelas idéias inovadoras e auxílio nos experimentos.

Ao Chiu Chih Ming, pela amizade e pela inestimável cooperação.

Aos professores, funcionários e colegas do curso de pós-graduação, pela amizade e apoio durante o tempo que passamos em contato.

Em fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
NOMENCLATURA.....	iv
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Justificativa.....	1
1.2. Revisão da literatura.....	4
1.2.1. Alimentos enlatados.....	4
1.2.2. Esterilização de alimentos de baixa acidez.....	6
1.2.3. Autoclave.....	12
1.2.4. Validação.....	14
1.2.5. Indicador biológico (IB).....	18
1.2.6. Produto protéico vegetal.....	21
1.2.6.1. Proteína de soja.....	21
1.2.6.2. Glúten de trigo.....	23
2. OBJETIVOS.....	25
3. MATERIAIS.....	26
3.1. Produto protéico vegetal.....	26
3.1.1. Matérias-primas.....	26
3.1.2. Embalagem.....	28
3.1.3. Equipamentos.....	28
3.1.4. Produto final.....	28

---

3.2. Indicador biológico.....	29
3.3. Sistema validador.....	29
3.4. Autoclave e periféricos.....	29
4. MÉTODOS.....	32
4.1. Processamento do produto protéico vegetal.....	32
4.2. Análises microbiológicas .....	35
4.2.1. Coleta das amostras.....	35
4.2.2. Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e termófilas .....	35
4.2.3. Contagem padrão de bactérias anaeróbias mesófilas e termófilas .....	36
4.2.4. Contagem de esporos aeróbios e anaeróbios, mesófilos e termófilos.....	36
4.2.5. Contagem total de bolores e leveduras.....	36
4.2.6. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes a 40°C.....	37
4.2.7. Pesquisa de <i>Salmonella</i> .....	37
4.2.8. Contagem e identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva .....	38
4.2.9. Teste de esterilidade comercial no produto final.....	38
4.3. Caracterização do indicador biológico - determinação do valor $D_{121C}$ no produto protéico vegetal .....	39
4.4. Calibração do sistema validador.....	40
4.5. Estudo de distribuição de calor na câmara vazia do autoclave .....	40
4.6. Estudo de penetração de calor na unidade de carga .....	41
4.7. Qualificação microbiológica do processo de esterilização .....	42
4.8. Análises dos resultados .....	42

---

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
5.1. Qualidade microbiana do produto antes da esterilização .....	44
5.2. Tempo de redução decimal de esporos de <i>B. stearothermophilus</i> no produto ....	51
5.3. Aferição do sistema validador.....	52
5.4. Qualificação operacional do autoclave.....	57
5.4.1. Estudo de distribuição de calor na câmara vazia.....	66
5.5. Qualificação da esterilização.....	68
5.5.1. Estudo de distribuição de calor na carga máxima de produtos .....	80
6. CONCLUSÕES.....	83
6.1. Recomendação.....	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
ANEXO – ARTIGOS PUBLICADOS E NO PRELO.....	94

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1: CURVA DE INATIVAÇÃO MICROBIANA .....</b>	<b>8</b>
<b>FIGURA 2: AUTOCLAVE HORIZONTAL.....</b>	<b>31</b>
<b>FIGURA 3: FLUXOGRAMA DO PROCESSAMENTO DO PRODUTO PROTÉICO VEGETAL .....</b>	<b>34</b>
<b>FIGURA 4: POSIÇÃO DOS SENSORES NA CÂMARA E COM CARGA MÁXIMA DE PRODUTO .....</b>	<b>41</b>
<b>FIGURA 5: CURVA DE SOBREVIVENTES DE <i>B .STEAROTERMOPHILUS</i> NO NO PRODUTO PROTÉICO VEGETAL .....</b>	<b>51</b>
<b>FIGURA 6: PERFIL DE TEMPERATURA DO DECORRER DOS 3 CICLOS DE DISTRIBUIÇÃO DE CALOR COM A CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>64</b>
<b>FIGURA 7: VALORES DE F E SAL NO DECORRER DOS 3 CICLOS DE DISTRIBUIÇÃO DE CALOR COM A CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>65</b>
<b>FIGURA 8: PERFIL DE TEMPERATURA DO DECORRER DOS 3 CICLOS DE PENETRAÇÃO DE CALOR NA CARGA MÁXIMA .....</b>	<b>78</b>
<b>FIGURA 9: VALORES DE F E SAL NO DECORRER DOS 3 CICLOS DE PENETRAÇÃO DE CALOR NA CARGA MÁXIMA .....</b>	<b>79</b>

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1: CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DAS MATÉRIAS-PRIMAS .....</b>	<b>27</b>
<b>TABELA 2: CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DAS MATÉRIAS-PRIMAS DO PRODUTO PROTÉICO VEGETAL.....</b>	<b>46</b>
<b>TABELA 3: PERFIL MICROBIOLÓGICO DA PROTEÍNA DE SOJA HIDRATADA E TRITURADA .....</b>	<b>47</b>
<b>TABELA 4: PERFIL MICROBIOLÓGICO DO GLÚTEN DE TRIGO HIDRATADO E TRITURADO .....</b>	<b>48</b>
<b>TABELA 5: PERFIL MICROBIOLÓGICO DA ETAPA DE MISTURA DOS INGREDIENTES.....</b>	<b>49</b>
<b>TABELA 6: PERFIL MICROBIOLÓGICO DA ETAPA DE ENVASE DO PRODUTO EM LATAS .....</b>	<b>50</b>
<b>TABELA 7: RESULTADOS DA CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE COLETA DE DADOS NA TEMPERATURA DE 115°C.....</b>	<b>53</b>
<b>TABELA 8: RESULTADOS DA CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE COLETA DE DADOS NA TEMPERATURA DE 121°C.....</b>	<b>54</b>
<b>TABELA 9: RESULTADOS DA CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE COLETA DE DADOS NA TEMPERATURA DE 121°C (APÓS CICLOS).....</b>	<b>55</b>
<b>TABELA 10: RESULTADOS DA CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE COLETA DE DADOS NA TEMPERATURA DE 130°C.....</b>	<b>56</b>

<b>TABELA 11: RESULTADOS DO CICLO 1 DE DISTRIBUIÇÃO DE CALOR NA CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>58</b>
<b>TABELA 12: RESULTADOS DO CICLO 2 DE DISTRIBUIÇÃO DE CALOR NA CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>60</b>
<b>TABELA 13: RESULTADOS DO CICLO 3 DE DISTRIBUIÇÃO DE CALOR NA CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>62</b>
<b>TABELA 14: VALORES DE <math>F_{121^{\circ}\text{C}}</math> EM MINUTOS PARA CADA PONTO MONITORADO EM CADA CICLO DE CÂMARA VAZIA .....</b>	<b>66</b>
<b>TABELA 15: RESULTADOS DO CICLO 1 DE PENETRAÇÃO DE CALOR NA CARGA MÁXIMA DE PRODUTO.....</b>	<b>69</b>
<b>TABELA 16: RESULTADOS DO CICLO 2 DE PENETRAÇÃO DE CALOR NA CARGA MÁXIMA DE PRODUTO.....</b>	<b>72</b>
<b>TABELA 17: RESULTADOS DO CICLO 3 DE PENETRAÇÃO DE CALOR NA CARGA MÁXIMA DE PRODUTO.....</b>	<b>75</b>
<b>TABELA 18: VALORES DE <math>F_{121^{\circ}\text{C}}</math> EM MINUTOS PARA CADA PONTO MONITORADO EM CADA CICLO DE CARGA MÁXIMA .....</b>	<b>82</b>

**NOMENCLATURA**

<b>BGB</b>	<i>Brilliant Green Bile</i>
<b>BP</b>	<i>Baird-Parker Agar</i>
<b>Ca (OH)<sub>2</sub></b>	Hidróxido de Cálcio
<b>cm</b>	Centímetro
<b>F<sub>Tr</sub></b>	Tempo equivalente (F <sub>121°C</sub> <sup>10°C</sup> )
<b>g</b>	Gramma
<b>HEA</b>	<i>Hektoen Enteric Agar</i>
<b>IB</b>	Indicador biológico
<b>kg</b>	Kilograma
<b>kPa</b>	Kilopascal
<b>L</b>	Litro
<b>LST</b>	Lauril Sulfato Triptose
<b>M</b>	Molaridade
<b>min</b>	Minuto
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>N<sub>o</sub></b>	População inicial de esporos
<b>N<sub>f</sub></b>	População final de esporos/IB
<b>n</b>	Número de ciclos logarítmicos reduzidos para cada intervalo de tempo considerado
<b>PCA</b>	<i>Plate Count Agar</i>

<b>PDA</b>	<i>Potato Dextrose Agar</i>
<b>PER</b>	Taxa de Eficiência Protéica
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>pol</b>	Polegada
<b>ppm</b>	Parte por milhão
<b>RCM</b>	<i>Reinforced Clostridial Medium</i>
<b>SAL</b>	<i>Sterility Assurance Level</i>
<b>s</b>	Segundo
<b>SSP</b>	Solução Salina Peptonada
<b>T<sub>m</sub></b>	Média aritmética das temperaturas registradas em cada intervalo de tempo
<b>TSA</b>	<i>Tryptic Soy Agar</i>
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia

## RESUMO

A validação de processos nas indústrias alimentícia e farmacêutica é uma das principais ferramentas da garantia de qualidade, visando tornar os produtos seguros, eficazes e confiáveis.

Neste trabalho, a validação física e biológica foi realizada na esterilização terminal de “carne vegetal” constituída de proteína texturizada de soja, proteína de trigo (glúten), gordura vegetal hidrogenada e condimentos, envasada em latas metálicas contendo 850 gramas.

A validação física do autoclave foi executada em três ciclos com câmara vazia e 12 sensores de temperatura. Confirmou-se, para os pontos geometricamente distribuídos no interior do autoclave, uma diferença máxima de temperatura entre um ponto e outro de 1,0°C, em relação à temperatura média da câmara (121°C).

Nos ciclos realizados com carga máxima, o menor valor  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  (64,86 minutos) garantiu nível de esterilidade (SAL) de pelo menos  $10^{-12}$  em relação ao indicador biológico de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  de 3,68 minutos e população média de  $1,00 \times 10^6$  esporos ). Em todas as operações de esterilização, a presença de esporos sobreviventes no indicador biológico não foi detectada.

Apesar de não existir uma margem de segurança definida para esterilização de alimentos enlatados, a validação periódica de um autoclave proporcionou maior confiabilidade na avaliação da esterilidade que o teste de incubação por amostragem de produtos acabados, recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil.

**Palavras-chave:** Proteína de soja, produto protéico vegetal, bioburden, esterilização, *Bacillus stearothermophilus*, validação.

## ABSTRACT

The process validation on food and drug industries is one of the most important tools meant to guarantee quality, making safe and trustworthy products. Physical and biological validation has been carried out at the terminal sterilization of the canned vegetal protein product.

The physical validation of the autoclave has been proceeded in three empty chamber cycles and 12 temperature sensors. It has been confirmed to the geometrically distributed spots inside the autoclave that the maximum temperature difference between one and another spot has been 1.0°C concerning the average chamber temperature (122°C).

Sterility Assurance Level (S.A.L.) of at least  $10^{-12}$ , in relation to biological indicator of *B. stearothermophilus* with  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  value of 3.68 minutes and average spore population of  $1.00 \times 10^6$  per strip, was obtained.

Despite the inexistence of a margin of safety for canned products sterilization, periodical validation of an autoclave has provided greater trust on the sterility evaluation, than the simple incubation test of some samples, recommended by the Brazilian Ministry of Health.

**Key words:** Soy protein, vegetable protein product, bioburden, sterilization, *Bacillus stearothermophilus*, validation.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Justificativa

Atualmente, o vegetarianismo tem recebido muita atenção por parte dos consumidores e da indústria alimentícia. Há um forte crescimento da demanda por alimentos naturais, mais práticos e sem aditivos químicos. Nos EUA, a categoria *meat analog* (substitutos de carne) tem alcançado crescimento anual de dois dígitos nos últimos cinco anos. Evidências científicas têm associado positivamente uma dieta vegetariana à redução do risco de várias doenças crônicas como a obesidade, doenças das coronárias, hipertensão, diabetes e alguns tipos de câncer. Por outro lado, dietas vegetarianas têm sido usadas para satisfazer as necessidades nutricionais em vários países. Dentre as razões para a adesão à dieta vegetariana, podem ser destacados: a crença religiosa, as preocupações com o meio ambiente e com a saúde pessoal (RAJARAN & SABATÉ, 2000).

Os produtos protéicos vegetais (*meat analogs*), também chamados de substitutos de carne, são produtos fabricados a partir de proteínas vegetais semelhantes a carne em textura e sabor. Várias empresas desenvolveram substitutos de carne através da extrusão contínua de uma mistura preparada de proteína de soja sob calor e pressão. Este processo fornece pequenas partículas denominadas “*chunks*” que quando hidratadas possuem textura e sabor de “carne”. A principal vantagem deste método é o uso de uma formulação de proteína de soja de baixo custo. A forma deste “*chunk*” pode ser determinada pela matriz da extrusora e pela velocidade de giro da faca de corte, fabricando produtos com o tamanho desejado (SMITH & CIRCLE, 1972).

Conforme os regulamentos do programa de assistência social a crianças e adultos do Departamento de Agricultura dos EUA, os produtos protéicos vegetais podem ser usados em programas institucionais de nutrição como um suplemento alimentar de refeições. Os produtos protéicos vegetais devem conter uma ou mais proteínas em sua composição e devem ser preparados com matérias-primas de fontes vegetais, como: feijões, soja, amendoim, trigo e milho (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2003).

A qualidade biológica da proteína no produto protéico vegetal deve ser no mínimo 80% do padrão caseína, como determinado pela escala da taxa de eficiência protéica (PER). O produto protéico vegetal deve conter no mínimo 18% de proteína por peso, quando hidratado ou formulado (percentual referente à proteína desidratada e água, óleo, corantes, aromas e outras substâncias que foram acrescentadas para a mistura final do produto) (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2003).

No caso do glúten de trigo com conteúdo baixo em lisina, porém alto em metionina e cistina, quando for misturado com a proteína de soja, que possui alto conteúdo em lisina e baixo em metionina, adquire-se um valor de PER de aproximadamente 2,0. Para uma mistura de glúten/soja na proporção de 30:70, um valor de PER de 2,4 pode ser alcançado (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2003).

A combinação dietética cereal e leguminosa que manteve as sociedades tradicionais por muitos anos é um exemplo de complementaridade protéica: os cereais são boas fontes de metionina e as leguminosas, boas fontes de lisina. O consumo desta combinação resulta em uma qualidade protéica melhor que qualquer proteína animal (YOUNG, 1994).

A empresa Produtos Alimentícios Superbom (São Paulo, Brasil) industrializa e comercializa há mais de 60 anos produtos derivados de soja. Entre os quais destacam-se os produtos protéicos envasados em latas metálicas, comercialmente conhecidos como: carne, bife e salsicha vegetal. Atualmente, tem sido feito pela empresa um trabalho de divulgação direcionado ao mercado institucional (merenda escolar, hospitais, restaurantes industriais, etc), que vem apresentando bons resultados. A aceitabilidade pelas pessoas dos produtos derivados de soja aumenta à medida que as indústrias desenvolvem produtos seguros, práticos e, principalmente, com boas características sensoriais.

O produto protéico vegetal deste trabalho foi um produto formulado, constituído de glúten de trigo, proteína de soja texturizada, óleo de soja, cebola, alho, sal, corante caramelo e condimentos; de aparência, sabor, aroma e textura similar à carne moída, envasado em latas. No Brasil, é um produto pronto para o consumo, disponível em supermercados e utilizado em inúmeras receitas da culinária

vegetariana, sendo também comercializado como suplemento nutricional, especialmente para crianças e adultos em programas públicos institucionais.

Segundo a análise bromatológica realizada pelo Instituto Adolfo Lutz (Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo), de acordo com as metodologias descritas em IAL (1985) & AOAC (1996), o produto possui a seguinte composição centesimal: proteínas, 19,98%; gorduras, 1,63%; carboidratos, 3,05%; fibras, 1,29% ; ferro, 0,2%; fósforo, 0,6% e teor de umidade, 69,98 %.

Cabe destacar que os altos teores de proteína e umidade deste produto são favoráveis ao crescimento de microrganismos.

A validação do processo de esterilização do produto enlatado contribuiu para um maior conhecimento do processo de fabricação e, especificamente, da etapa de esterilização, que garante o nível de esterilidade do produto, tornando-o um produto seguro durante a sua vida de prateleira.

Atualmente, quando todos os caminhos levam para a busca da qualidade total, torna-se indispensável conhecer perfeitamente cada fase de um processo de produção. A validação é uma das ferramentas adequadas para garantir a confiabilidade de um processo, método, instalação ou equipamento. Principalmente porque, quando se trata de alimentos e medicamentos, qualquer falha mínima no processo pode acarretar sérios prejuízos a saúde das pessoas.

## 1. 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 1.2.1. Alimentos enlatados

A invenção, por Nicholas Appert, da preservação do alimento por meio do processo denominado “enlatamento” não poderia ter atingido a aceitação generalizada que recebeu, nem ter resultado na aplicação comercial que se seguiu, sem a invenção da lata de metal. Appert recebeu o reconhecimento público de seu processo de preservação, em 1809. No ano seguinte, Peter Durand patenteou a lata de metal para uso no novo processo de preservação de alimento. Os métodos de manufatura e de fechamento das latas metálicas melhoram significativamente ao longo dos anos. Em 1904, quase 100 anos após a invenção original, a *Sanitary Can Company* patenteou uma lata selada por travamento mecânico da tampa, em lugar de soldá-la. Desde esta época, muitas mudanças foram feitas nos recipientes, mas os fundamentos básicos do fechamento da lata por recravação têm permanecido os mesmos (SCHAFFNER, 1982).

O material metálico mais utilizado na confecção de embalagens metálicas, em geral, é a folha-de-flandres, que consiste de folha laminada de aço com baixo teor de carbono, revestida, em ambas as faces, por estanho puro, combinando em um único material a resistência mecânica e a capacidade de conformação do aço com a resistência à corrosão, a soldabilidade e a boa aparência do estanho. Os vernizes são empregados para evitar a oxidação atmosférica e o contato direto de metal com o produto alimentício ou para fins estéticos. A camada e o tipo de verniz devem ser especificados de acordo com o produto a ser acondicionado e com os processos mecânicos a que o material envernizado fica sujeito na fabricação da lata. As resinas mais utilizadas como base na formulação dos vernizes são do tipo epóxi-fenólico, epóxi-uréia, epóxi-amino, poliéster, acrílico e vinílico, além de sistemas vinílico-epoxi (BRASILATA, 2004).

Quanto aos tipos de latas, consideram-se duas classificações gerais: latas de três peças, ou seja, com tampa, corpo e fundo, e latas de duas peças (corpo e tampa), sendo que o fundo e o corpo formam uma só peça estrutural sem emendas. As latas

de três peças, por sua vez, se diferenciam de acordo com o tipo de costura lateral do corpo, que pode ser efetuada por soldagem convencional à liga de estanho-chumbo (praticamente extinta pelo aspecto toxicológico), por soldagem eletrônica, por aplicação de vedantes termoplásticos ou por meio de simples enganchamento e prensagem das extremidades do corpo, sendo a lata assim produzida denominada agrafada. A qualidade da hermeticidade da lata é menor para os dois primeiros tipos de soldagem (BRASILATA, 2004).

Os alimentos enlatados são fabricados há mais de dois séculos e tendem a seguir no mercado por muitos anos. Do ponto de vista prático, as principais vantagens dos produtos enlatados são: longa vida-útil, segurança (desde que corretamente processados) e não necessidade de refrigeração para sua conservação. A conservação segura dos alimentos enlatados depende do cumprimento de três condições: a esterilização terminal; o emprego de um fechamento adequado da lata que previna a recontaminação de microrganismos no produto processado, e o uso de procedimentos de manuseio pós-processamento que protejam a integridade da lata recravada e processada. A integridade da lata é crítica para a vida de prateleira de alimentos enlatados. Nos EUA, a inspeção periódica do fechamento das latas durante o processamento é regulamentada pelo *Food and Drug Administration* - FDA (NEVERO, 2002).

Devido à evolução que tem ocorrido na indústria de alimentos enlatados, às vantagens dos alimentos conservados por este processo e ao potencial de mercado dos produtos de conveniência, a indústria de produtos enlatados tende a permanecer em atividade por muitos anos. Entretanto, esta permanência depende de que a indústria busque ser sensível às preferências e aos gostos dos consumidores, para o desenvolvimento de novos mercados, o melhoramento e a inovação dos produtos enlatados existentes (NEVERO, 2002).

### 1.2.2. A esterilização de alimentos de baixa acidez

A esterilização é uma etapa crítica e extremamente importante do processo de fabricação do produto protéico vegetal envasado em latas metálicas. Este produto é um alimento de baixa acidez e não possui em sua formulação conservantes químicos, sendo, portanto, necessário a esterilização terminal em autoclave sob pressão de vapor para assegurar a conservação do produto final.

Uma das propriedades mais importantes associada com a química dos alimentos e com a deterioração microbiológica dos alimentos é a intensidade de acidez. O valor de pH do alimento enlatado é a base da regulamentação do FDA (*Food and Drug Administration*) para processamento térmico de alimentos. Portanto, o valor de pH deve ser medido com precisão e confiabilidade. Diferentes espécies de microrganismos são caracterizadas por um valor de pH ótimo para crescimento. Outras características físico-químicas dos alimentos também afetam o crescimento de bactérias, leveduras e fungos. Um efeito importante do pH é sua influência sobre a resistência da bactéria ao calor. Quando há várias espécies de bactérias, leveduras e fungos no alimento, o valor do pH é um dos mais importantes fatores determinantes de quais tipos de microrganismos podem-se multiplicar mais rapidamente e também quais tipos podem prevalecer no alimento (LOPEZ, 1987).

STUMBO (1973) menciona uma classificação prática de alimentos com base no pH, onde três grupos são considerados:

- (i) Alimentos pouco ácidos: valor de pH acima de 4,5;
- (ii) Alimentos ácidos: valor de pH entre 4,0 e 4,5;
- (iii) Alimentos muito ácidos: valor de pH abaixo de 4,0.

A linha divisória fundamental na classificação de alimentos, quanto ao pH, corresponde ao valor 4,5. Por muitos anos, laboratórios têm pesquisado a resistência térmica da bactéria patogênica *Clostridium botulinum* e tem sido observado que o valor de pH 4,5 é inibitório ao crescimento deste organismo em um meio favorável. Esta observação é importante porque, de uma maneira prática, isto significa que em geral produtos de valores de pH maiores que 4,5 (alimentos de baixa acidez) devem ser processados sob pressão de vapor para assegurar a destruição dos esporos,

enquanto produtos de valores de pH inferiores a 4,5 podem ser processados por tratamentos térmicos mais suaves, a temperaturas inferiores a 100°C (LEITÃO, 1976).

Eliminar os esporos de bactérias presentes em alimentos industrializados de baixa acidez é o principal objetivo do processo de esterilização térmica. Estes microrganismos são capazes de crescer nos alimentos e de produzir toxinas. Exemplos de alimentos de baixa acidez: milho, ervilha, seleta de legumes, creme de leite, produtos cárneos enlatados, cremes brancos, etc. (GERMER, 1997).

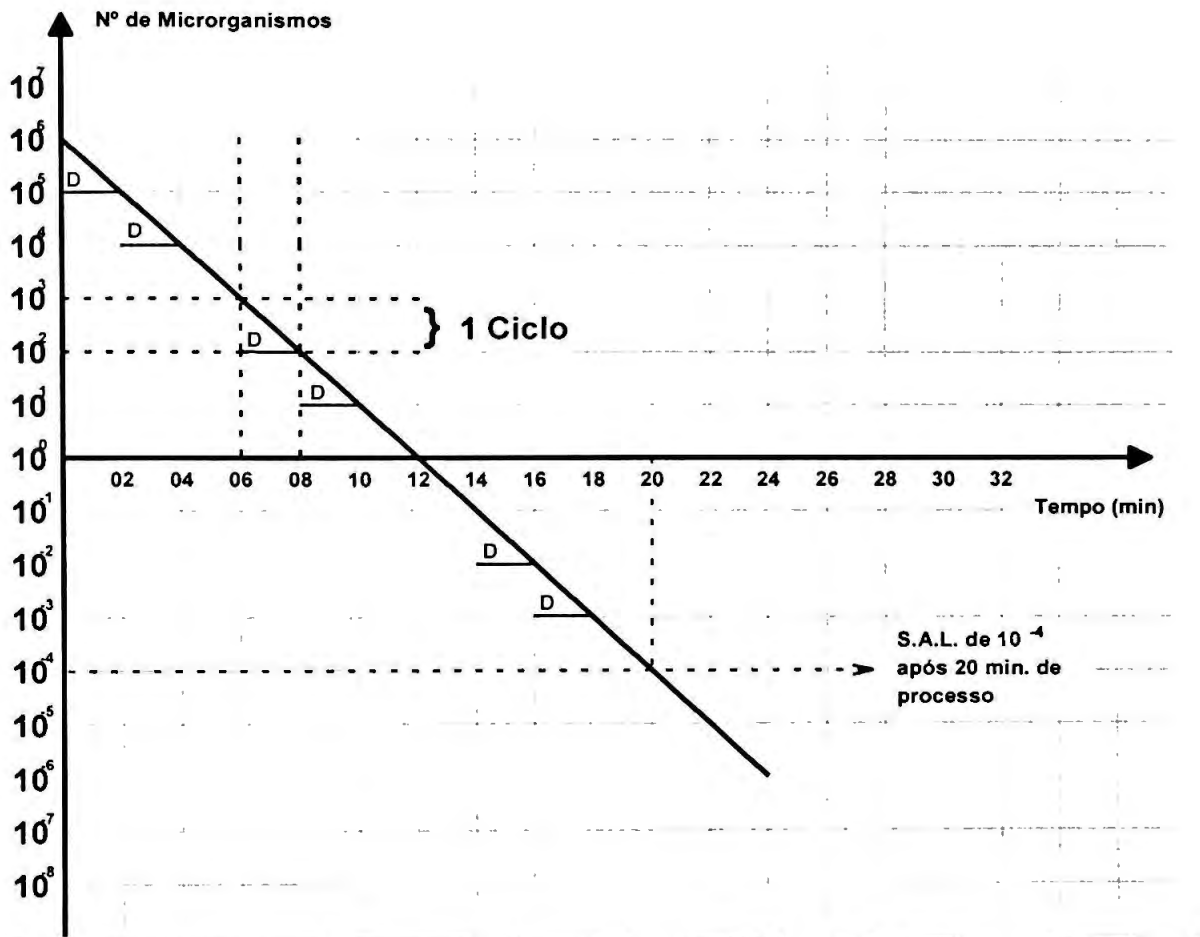
Esterilização é o processo que objetiva destruir todas as formas de vida com capacidade de desenvolvimento durante os estágios de conservação e de utilização do produto. Conservar é manter as características do produto durante a vida útil de armazenamento (vida de prateleira) a diversas temperaturas.

Os métodos de esterilização permitem assegurar níveis de esterilidade compatíveis às características exigidas em produtos farmacêuticos, médico-hospitalares e alimentícios. O calor é o agente esterilizante mais usado, mais econômico e mais fácil de controlar. O calor úmido, quando comparado ao calor seco é um processo efetivo devido ao uso de temperaturas mais baixas e do curto período de tempo necessário para garantir o nível de esterilidade proposto. A ação letal do calor é uma relação tempo-temperatura, dependente de fatores que definem a intensidade do tratamento e do tempo de exposição ao calor para reduzir a população microbiana a níveis estabelecidos (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

O produto se mantém conservado se não houver a manifestação dos microrganismos presentes; isto significa dizer que, após a exposição ao calor úmido, pode haver microrganismos dormentes ou em estado latente de sobrevivência, que não se multiplicam durante a vida de prateleira, porque o produto não oferece condições favoráveis de germinação e reprodução (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

O número final de microrganismos sobreviventes expostos ao calor úmido representa o efeito do processo. A destruição térmica de uma população homogênea de microrganismos é considerada logarítmica, equivalente à cinética química de uma reação de 1ª ordem. O fenômeno de destruição térmica pode ser representado pelo modelo de curva linearizada, semilogarítmica de sobreviventes. A representação

gráfica do logaritmo decimal de sobreviventes, em relação ao tempo de exposição à temperatura constante, resulta em curva linearizada decrescente, conforme figura 1 (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).



**FIGURA 1. Curva de inativação microbiana**

Para o modelo de curva semilogarítmica de sobreviventes, o tempo necessário para a destruição de 90% da população de esporos é o intervalo de tempo exigido para a curva percorrer 1 (um) ciclo logarítmico. O intervalo de tempo de redução decimal (valor D) é o principal parâmetro de avaliação das características de termoresistência da população microbiana homogênea. O valor D (tempo de redução decimal) é o intervalo de tempo à temperatura constante de tratamento para uma

redução de 90% da população microbiana, inicialmente presente no produto. Este valor D depende do tipo de microrganismo, do meio em que se encontra e da temperatura na qual trabalha. Sendo o valor D uma função da temperatura, o parâmetro valor Z é definido como a elevação da temperatura necessária para reduzir em 90% o tempo do tratamento térmico, ou seja, quanto menor o valor z, tanto maior a variação da velocidade de destruição com a temperatura de exposição. O valor Z é constante para uma população determinada (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

O nível de destruição térmica (n) é o número de ciclos logarítmicos reduzidos na população microbiana. Se o nível de destruição térmica corresponder a um ciclo reduzido (n=1), então o tempo total de processo (t) é equivalente ao tempo de redução decimal (valor D). Logo, o tempo de processo à temperatura de referência ( $T_r$ ) é um múltiplo do tempo de redução decimal:  $t_{Tr} = n \times D_{Tr}$  (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Na determinação dos parâmetros de resistência térmica de microrganismos, os tempos de aquecimento e de resfriamento são desprezados, e a temperatura de tratamento é mantida constante. Na prática, os tratamentos a temperaturas constantes são raros devido à inércia térmica dos materiais (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Para avaliar o efeito do tratamento em termos de número de ciclos reduzidos na população microbiana, as temperaturas variáveis do produto em relação ao tempo de processo, o valor  $F_{Tr}$  ou o tempo equivalente, à temperatura de referência, deve ser determinado (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Valor  $F_{Tr}$  é o intervalo de tempo de aquecimento necessário, à temperatura de referência constante, para se obter o nível de destruição pré-estabelecido. O valor  $F_{Tr}$  é o tempo equivalente, em minutos, à temperatura de referência que o produto permaneceria, considerando aquecimento e resfriamento instantâneos. O nível de destruição térmica ou letalidade do processo pode ser calculado a partir da multiplicação do número de reduções logarítmicas (n) pelo valor D específico à temperatura de referência ( $F_{Tr} = n.D$ ).

A temperatura de referência depende do tratamento térmico empregado, assim como do indicador biológico escolhido. O valor  $F_{Tr}$  pode vir acompanhado por

dois índices  $F_{T_r}^z$ , que indicam temperatura de referência  $T_r$  e o valor  $z$ . Logo,  $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}$  é o tempo equivalente de processo à temperatura de referência de  $121^\circ\text{C}$ , para valor “ $z$ ” de  $10^\circ\text{C}$  (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Para calcular o valor  $F_{T_r}$  é necessário conhecer a variação da temperatura do produto com o tempo de processo. A equação que relaciona o valor  $F$  e a variação da temperatura do produto com o tempo de processo é simplificada para:  $F_{T_r} = \int 10^{(T-T_r)/z} dt$ ; sendo a taxa letal ( $L$ ) representada por:  $L = 10^{(T-T_r)/z}$ . O valor  $F_{T_r}$  representa a área sob a curva da relação da taxa letal com o tempo de tratamento. O método mais utilizado para estimar a área sob a curva e determinar o valor  $F_{T_r}$  é aquele proposto por PATASHNIK (PATASHNIK, 1953), denominado método trapezoidal. Sendo a taxa letal ( $L$ ) adimensional, o produto da sua multiplicação com o tempo de tratamento tem unidade de tempo, e é equacionado por:  $F_{T_r} = \sum (L_1+L_2+L_3+L_4\dots L_{n-1}) \times \Delta t$ , onde  $\Delta t$  é o intervalo de tempo entre duas medidas sucessivas de temperatura (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

O método trapezoidal de PATASHNIK só pode ser utilizado quando o intervalo de tempo entre duas leituras sucessivas de temperatura for constante, inferior ou igual a dois minutos. Para este método o número de medidas de temperatura do tempo de tratamento deve ser o máximo conseguido, para que o valor  $F$  seja muito próximo ao real (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Esterilidade ou nível de segurança é a incapacidade de desenvolvimento das formas sobreviventes ao processo de esterilização, durante a conservação e utilização de um produto. A manutenção do nível de esterilidade conferido a um produto garante o prolongamento da vida-útil de prateleira e depende das operações de pré-esterilização, de esterilização e de pós-esterilização (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

O número de ciclos logarítmicos reduzidos na população do indicador biológico define o nível de esterilidade ou “*Sterility Assurance Level*” (SAL) do produto final. O nível de segurança do processo define a probabilidade de falha prevista para a operação, estabelece o número final de sobreviventes ( $N_f$ ) por unidade de produto e define o tempo de processo à temperatura de referência (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Na esterilização de soluções parenterais e produtos médicos recomenda-se um fator de segurança de esterilidade de  $10^{-6}$ , ou seja, a chance de encontrar unidades não estéreis é de uma em um milhão (BRUCH, 1993 & USP, 2002).

No processamento de alimentos enlatados de baixa acidez, a esterilização terminal é a etapa do processo que garante o nível de esterilidade do produto final. O nível de esterilidade é definido como o número de microrganismos viáveis que sobrevivem à esterilização por unidade do produto considerado. A definição dos parâmetros operacionais do método de esterilização escolhido determina a margem de segurança do produto ou a probabilidade de falha do sistema (ISHISAKI, 1998).

A esterilização de alimentos industrializados consiste no aquecimento, estabilização da temperatura e resfriamento do produto em autoclaves pressurizados. A esterilização deve ser estabelecida por especialistas que, para cada equipamento/embalagem/alimento, definem as condições de processo: tempo e temperatura de processo, temperatura mínima inicial do alimento, carga microbiana inicial do alimento, perfil de pressão e programa de desaeração do autoclave. Em face destes requisitos de qualidade e de segurança, grande cuidado é tomado no cálculo destes tempos de processamento, assim como no controle do tempo e da temperatura vigentes durante os mesmos, para evitar que o alimento seja submetido a um subprocessamento ou a um sobreprocessamento (GERMER, 1997).

A destruição de esporos altamente resistentes é dependente da presença de umidade para hidratação do esporo e denaturação de ácidos nucléicos e proteínas. A transferência de calor pelo vapor saturado ao ambiente da câmara de esterilização é muito mais efetiva comparativamente à efetuada pelo calor seco ou vapor superaquecido. O calor de condensação é transferido ao produto, elevando assim sua temperatura e hidratando o esporo do microrganismo (NASH, 1993).

Quando produtos alimentícios são colocados numa embalagem, que por sua vez é colocada em um autoclave e processados termicamente através da condensação do vapor de água saturado, a taxa de transferência de calor para os mesmos depende dos seguintes fatores: coeficientes de transferência de calor, propriedades físicas do produto alimentício e da embalagem, diferença de temperatura entre o produto alimentício e o autoclave e dimensões da embalagem (TEIXEIRA & BALABAN, 1996).

A penetração de calor nos alimentos enlatados é mais fácil nos líquidos que nos sólidos e semi-sólidos. No primeiro caso, a transmissão de calor até o centro da lata se faz por convecção, isto é, por movimento constante do líquido. As correntes de convecção tendem a igualar com rapidez a temperatura no interior da lata. No segundo caso, a penetração de calor se faz por condução, isto é, as moléculas transmitem calor às vizinhas, estas às seguintes, e assim sucessivamente. A transmissão por condução é mais lenta. Nem todos os pontos da embalagem quando aquecida possuem a mesma temperatura. A zona de aquecimento mais lento é denominada de ponto frio do recipiente, sendo a mais difícil de ser esterilizada. Nos produtos aquecidos principalmente por convecção, o ponto frio localiza-se próximo ao fundo do recipiente, no eixo vertical, enquanto que, naqueles aquecidos por condução, está no centro geométrico do recipiente, sobre o eixo vertical (GAVA, 1983).

Quando se esteriliza um produto alimentício contido em embalagem fechada, observa-se que a sua temperatura interna varia com o tempo de aquecimento. A letalidade causada aos microrganismos indesejáveis pode então ser calculada usando-se o método geral. Este método consiste na integração gráfica da curva de letalidade *versus* tempo ou utiliza-se um método, baseado em fórmulas, que usa uma equação com os valores dos parâmetros tabulados e previamente calculados para se determinar o tempo de processamento requerido ou a letalidade oferecida pelo processamento térmico. Os problemas com cálculos de processamento térmico podem envolver a determinação do tempo e da temperatura do processamento necessários para se alcançar uma letalidade pré-estabelecida ou a avaliação do tempo e da temperatura do processo (TOLEDO, 1994).

### **1. 2. 3. Autoclave**

O autoclave é o mais antigo tipo de equipamento usado no tratamento térmico. É empregado para todos os tipos de produtos tanto nas grandes indústrias enlatadoras, para o processamento de alimentos envasados em latas ou em vidros, quanto nas pequenas. Um autoclave fixo é um recipiente fechado, tipo “batch”, sem agitação vertical ou horizontal, constituído por um corpo ou carcaça de metal

resistente à pressão, provido de entradas de vapor, de água, de ar e saídas para escape do ar e do vapor durante o funcionamento e a drenagem do líquido, ao término do ciclo. O princípio de funcionamento baseia-se na introdução do alimento já embalado e disposto em cestos em uma câmara interna do autoclave. Após o fechamento da porta inicia-se o ciclo operativo, que consiste na elevação da temperatura até aproximadamente 100°C; a seguir, deixa-se sair o vapor do autoclave para eliminação do ar interno. A presença do ar durante o processamento térmico resulta em subprocessamento, uma vez que a mistura de ar-vapor diminui a transferência de calor para o produto. A temperatura é monitorada por um controlador de pressão/temperatura. Ao final, enquanto sai o restante de vapor, introduz-se água fria no interior, para proceder ao resfriamento, e ar comprimido, para compensar a pressão interna. Os recipientes são retirados do autoclave ainda quentes, à temperatura por volta de 40°C, o que favorece a secagem rápida da superfície, mediante evaporação (BARUFFALDI & OLIVEIRA, 1998).

Existem várias combinações de meios de aquecimento e resfriamento. Os principais são: aquecimento por vapor saturado e resfriamento com ar; aquecimento com vapor saturado e resfriamento com água (o mais utilizado); aquecimento com água-vapor e resfriamento com água; aquecimento com água e resfriamento com água (imersão total); e aquecimento com vapor-ar e resfriamento com água (variedade de sobrepressão de ar). Estas variedades refletem os requisitos específicos dos vários tipos de recipientes e produtos envasados (LINDBOE & HAYAKAWA, 1993).

Os meios de aquecimento vapor e água são utilizados no autoclave fabricado e comercializado pela empresa FMC Food Tech (Sint-Niklaas; Bélgica). O sistema patenteado como “steam water spray” proporciona um processo de esterilização eficiente e homogêneo. A injeção direta de vapor assegura uma entrada uniforme e rápida, sendo que os “sprays” intensificam uma mistura de vapor e água, criando uma distribuição homogênea de temperatura no interior da câmara do autoclave. Um micro resfriamento com água enviada de um trocador de calor a placas realiza uma transição lenta entre o aquecimento e resfriamento na etapa final do ciclo de esterilização, evitando os choques térmicos e as quedas bruscas de pressão. Um

*softwares* de gerenciamento do autoclave controla automaticamente todas as etapas do ciclo de esterilização (FMC FOODTECH, 2003).

#### 1.2.4. Validação

Os conceitos de validação sempre foram considerados no GMP (*Good Manufacturing Practice*), porém não foram formalizados pelo FDA até o início dos anos 1970. O conceito de validação, regulamentado em 1970 (*US Code of Federal Regulation, Current Good Manufacturing Practice, 21,CFR.210,211,600,608,620*) (FDA, 2003), foi criado visando combater e evitar contaminações microbiológicas, físicas, químicas e cruzadas, nos processos de fabricação de produtos farmacêuticos e veterinários, sendo propostas mudanças no cGMP para atender os requisitos da validação (UNIFAR, 2000).

A norma internacional mais utilizada para validação é a ISO11.134:1995 – *Sterilization of Health Care Products – Requirements for validation and routine control – industrial moist heat sterilization* (ISO, 1994). No Brasil, não há uma norma específica para validação de processos da indústria alimentícia, apenas a Portaria de número 500, de 13/10/1997, Anexo I, do Ministério da Saúde, que trata da “Validação do Processo de Esterilização por Vapor” para produtos parenterais esterilizados termicamente (BRASIL, 1997).

Validação é definida no *FDA Guideline on General Principles of Process Validation* como: estabelecimento de evidências documentadas, através das quais prova-se, com alto grau de segurança, que um processo específico produzirá consistentemente produtos de acordo com suas especificações pré-determinadas e apresentando resultados reprodutíveis. Os dois componentes críticos desta definição de validação são idoneidade de um produto específico ou processo (ele faz o que pretende fazer) e reprodutibilidade (ele continua executando). Validação deve ser mais que o estudo conduzido em um novo método ou produto. Deve abranger o processo inteiro, sendo que o plano de validação deve incluir cada etapa do processo que é requerida para implementação de um novo método ou produto (PDA, 2000).

A validação necessita ser cuidadosamente planejada e gerenciada para garantir que os riscos sejam minuciosamente analisados e que os recursos

apropriados sejam alocados. Portanto, devem ser selecionados quais processos e equipamentos requerem qualificação/validação e como isto deve ser efetuado. Deve-se dar prioridade aos processos críticos, por exemplo: quando ocorre a não conformidade em determinados processos. Se o trabalho for estritamente científico, todas as variáveis devem ser consideradas e testadas, resultando em um número significativo de corridas de teste, para todos os componentes do equipamento e pessoas do processo. Portanto, uma abordagem intuitiva é necessária e a equipe de validação deve ser selecionada adequadamente, devendo ser constituída por pessoas com experiência nas instalações, processos e equipamentos (UNIFAR, 2000).

Para se obter a validação é necessário realizar uma série de qualificações que envolvem vários testes e verificações. De modo geral, o processo é dividido em quatro etapas: qualificação do projeto (DQ) ou *design qualification*; qualificação da instalação (IQ) ou *instalation qualification*; qualificação de operação (OQ) ou *operation qualification*, e qualificação do desempenho (PQ) ou *performance qualification* (ATHAYDE, 2000).

A qualificação do projeto (DQ) constitui a primeira etapa do processo de validação. Nesta fase, o objetivo é conferir se todos os componentes da instalação atendem às especificações do projeto. Trata-se de uma inspeção dos cálculos realizados pelo projetista da área. São necessários, nesta fase, todos os documentos do projeto, do básico ao executivo. Todas as verificações devem ser registradas em formulários próprios que servirão como documento e pré-requisito para as etapas seguintes.

Na qualificação da instalação (IQ), o enfoque se dá sobre a montagem da instalação, ou seja, se a instalação foi realizada de acordo com o projeto já qualificado. Nesta etapa, geralmente acontece uma série de testes para confirmar se o que está no papel acontece na prática. É uma fase de testes, ajustes e balanceamento da instalação (ATHAYDE, 2000).

De acordo com ISHISAKI (1998), um programa de qualificação de instalação do autoclave deve ser estabelecido para demonstrar que o equipamento é capaz de operar rotineiramente dentro dos limites especificados. Os seguintes pontos devem ser considerados (ISHISAKI, 1998):

- (i) Especificações para o equipamento, como: pressão, sensores, temporizadores e termômetros;
- (ii) Especificações para os equipamentos satélites, como: gerador de vapor, sistema de filtração de ar, níveis de água, válvulas e distribuição de vapor;
- (iii) Especificações pertinentes a suprimento de energia, ar comprimido e água de resfriamento;
- (iv) Procedimentos de calibração, programas de manutenção e manuais.

Dependendo do tipo de equipamento e seu histórico de utilização, a qualificação deve ser repetida periodicamente (ISHISAKI, 1998).

O objetivo da qualificação de operação (OQ) é a verificação documentada que equipamento, utilidade e sistema operam em conformidade com as especificações e parâmetros preestabelecidos. Nesta etapa, os testes devem simular condições reais de trabalho, incluindo a pior situação. Os testes devem ser repetidos três vezes, para garantir a confiabilidade dos resultados (UNIFAR, 2000).

A qualificação do desempenho (PQ) é a verificação documentada de que um processo é efetivo e reprodutível, gerando um produto em conformidade com suas especificações e atributos de qualidade (UNIFAR, 2000).

Esta qualificação tem o objetivo de demonstrar a habilidade de reprodutibilidade da esterilizadora e do processo de esterilização, mantendo a qualidade do produto. Este teste consiste no estudo da penetração do calor e testes biológicos. Os testes são repetidos três vezes de modo a garantir a reprodutibilidade dos resultados (UNIFAR, 2000).

Os protocolos gerados para cada uma das etapas devem conter: identificação da instituição, data de elaboração, objetivo, dados do equipamento, descrição do processo, localização do equipamento, campo para assinaturas das pessoas e índice. Além disso, devem ser elaborados com base nas normas e recomendações vigentes (ODLAG, 1984).

Os parâmetros físicos de cada qualificação do ciclo são documentados e devem estar dentro dos limites aceitáveis. Estes parâmetros incluem a taxa de aquecimento, o intervalo de temperatura durante a exposição e a taxa de resfriamento. Pelo fato destes parâmetros físicos servirem para assegurar a

confiabilidade do processo os sistemas de monitoramento devem ser calibrados em relação a padrões definidos (ODLAUG *et al.*, 1984).

A integridade das medições de temperatura é uma parte crítica da validação de processos de esterilização. Os estudos de penetração de calor são executados para a determinação da letalidade acumulada (valor F na carga). A letalidade acumulada é o tempo integral da função letalidade. Sendo assim, tomando-se como base uma temperatura de referência  $T_r = 121^\circ\text{C}$  e um valor  $z = 10^\circ\text{C}$ , o efeito de um erro de  $1^\circ\text{C}$  na medição de temperatura resulta em 25% de erro no cálculo da letalidade (BRINGERT, 2003).

Na esterilização por processos térmicos, a estabilidade do produto a ser esterilizado deve ser considerada. Portanto, a validação dos processos térmicos pode ser conduzida de duas formas: método do “Bioburden”, para os produtos termolábeis, e o método do “Overkill”, que é geralmente utilizado para produtos termoresistentes. Para o método do “Bioburden”, é feito um levantamento da carga microbiana no produto a ser esterilizado, quanto à sua quantidade e sua resistência ao calor, para que se possa diminuir o tempo de exposição ao calor, impedindo ou minimizando a degradação do produto termolábil e, ainda assim, obter um nível de garantia de esterilidade satisfatório. No método do “Overkill”, toma-se como referência um microrganismo resistente ao processo (Indicador Biológico – IB). O valor de  $F_{T_r}$  para assegurar o nível de esterilidade (SAL) em condições críticas é calculado em relação ao microrganismo escolhido para validar biologicamente o sistema de esterilização (ISHISAKI, 1998).

Quando a validação for executada em uma planta já operacional as etapas de QE e QP devem ser realizadas de forma retrospectiva, sendo que as não conformidades encontradas, quando houver, devem ser indicadas e justificadas, devendo ser tomadas as ações apropriadas, para garantir que as não conformidades não influenciem o produto final.

Uma vez concluída a validação da esterilização, fica demonstrado que o autoclave e o produto nela esterilizado atingem a reprodutibilidade desejada, dentro da qualidade exigida, e que os métodos utilizados levam seguramente ao resultado previsto (LARANJEIRA, 2000).

### 1.2.5. Indicador biológico (IB)

Embora o conceito de esterilidade seja simples e direto, a verificação da esterilidade é mais complexa. A incapacidade dos testes de esterilidade de produtos finais em detectar baixos níveis de contaminação, mesmo com uma quantidade significativa de amostras, é conhecida desde meados da década de 1970. Por esta razão, as indústrias passaram a fazer o uso de indicadores biológicos (IB), a fim de obter informações a respeito da eficiência e probabilidade de sobreviventes provenientes de processos de esterilização (GRAHAM & BORIS, 1993).

O indicador biológico (IB) ou bioindicador (BI) representa uma preparação padrão característica de microrganismos específicos, com concentração conhecida e de resistência definida a um particular processo de esterilização (RUSSEL, 1982 & USP, 2002). O IB é utilizado como orientador na qualificação física de um equipamento, para estabelecer parâmetros operacionais de ciclos de processo e para desenvolver protocolos de validação para processos aplicados para artigos específicos. O IB é recomendado para ser utilizado na rotina do processo empregado (esterilização ou desinfecção) para avaliar a penetração de calor na unidade de carga, assim como na carga em si, verificando igualmente a interferência da embalagem na difusão do agente esterilizante (USP, 2002).

As culturas viáveis, de microrganismos resistentes ao processo de esterilização específico, podem ser usadas na forma de suspensão ou impregnadas em veículos como, por exemplo, fitas de papel de filtro, sendo imprescindível não haver interferência do veículo na resistência do microorganismo (USP, 2002). Esporos de *Bacillus stearothermophilus* são considerados convenientes IB na avaliação de processos que utilizam o calor úmido, particularmente na temperatura de 121°C ou a baixas temperaturas associadas à radiação, agentes químicos, em operações de esterilização ou de desinfecção (RUSSEL, 1982).

A população do IB e sua resistência ao processo em questão devem ser superiores àquelas apresentadas pela biocarga do produto submetido à esterilização, caracterizando um processo de sobre morte “overkill”, assegurando o nível de esterilidade ou desinfecção estabelecido. Portanto, IB se constitui em ferramenta

indispensável para garantir a reprodutibilidade do processo aplicado sobre um determinado produto (USP, 2002).

A fita de papel filtro inoculada com número definido de esporos de uma cepa bacteriana selecionada e de conhecida resistência a um determinado tipo de esterilização é um bioindicador muito usado. O veículo inoculado deve ser embalado individualmente, de forma que seja mantida a sua integridade, garantindo que, quando usado apropriadamente, sofra o efeito do agente esterilizante (USP, 2002 & FARMACOPÉIA, 1988).

Embora a efetividade do processo de esterilização seja descrita em termos de valor  $F_{Tr}$ , a garantia de esterilidade é conferida biologicamente pelo uso de indicadores biológicos. O Indicador Biológico (IB) adequado deve apresentar uma população de esporos e uma termoresistência ao processo de esterilização superior àquela dos microrganismos originalmente presentes no produto a ser esterilizado (NASH, 1993; VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

As unidades do IB (suspensão ou fitas) são utilizadas em estudos de penetração de vapor e posicionadas em pontos frios da carga, para assegurar que os termopares registrem a temperatura da atmosfera de vapor saturado. Destruição do IB durante a esterilização a vapor correlaciona o cálculo teórico da letalidade ( $F_{Tr}$  e SAL) com dados de inativação do IB (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Os IB, quando usados, devem ser distribuídos, se possível, dentro do recipiente a ser esterilizado, selecionando aqueles locais correspondentes aos pontos de medida da temperatura. Se o volume a ser esterilizado é grande, os IB usados devem estar inseridos dentro do recipiente de grande volume (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Antes do uso do IB no estudo de validação, sua resistência ao vapor é verificada. Uso de IB com resistência muito grande ao calor pode resultar em concepção errônea quanto à penetração insuficiente do calor na carga, não proporcionando o nível de esterilidade esperado. Inversamente, o uso de IB apresentando baixa resistência, pode conduzir a falsa sensação de segurança (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Esporos de *Bacillus stearothermophilus* apresentam elevada resistência ao calor úmido e são mais resistentes do que os microrganismos isolados de ambientes de fabricação. Para fins práticos, tiras de papel contendo esporos de *B. stearothermophilus* são usadas como Indicador Biológico. Recomenda-se que dez unidades de fita sejam distribuídas na carga, localizadas tão próximo quanto possível dos termopares nos pontos mais frios, sem interferir com a penetração de calor dentro da carga (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Após a esterilização, os indicadores biológicos são cultivados em meio de cultura apropriado e sobre condições adequadas para o crescimento do respectivo microrganismo utilizado no teste. Uma vez que os esporos destes microrganismos são mais resistentes ao agente esterilizante do que os microrganismos contaminantes nos produtos a serem esterilizados e estão presentes em quantidades muito superiores aos normalmente encontrados nestes produtos, a demonstração de que os indicadores biológicos foram esterilizados é uma forte inferência de que qualquer outro microrganismo presente no produto foi morto durante o processo de esterilização. Assim, testes de indicadores biológicos são aceitos com o mesmo grau de confiança de dados de testes de esterilidade de produtos. Esta inferência, porém, deve ser acompanhada de um rigor estatístico do plano amostral, além de práticas definidas de cultura dos indicadores biológicos pós-esterilização (RUSSEL, 1982 & VESSONI PENNA *et al.*, 1996).

## **1.2.6. Produto protéico vegetal**

### **1.2.6.1. Proteína de soja**

A soja é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo. Da produção mundial total das oito principais oleaginosas (soja, algodão, amendoim, girassol, colza, linho, copra e palma) a soja participa com 53,50%. A produção mundial de soja, cujo volume participa do mercado internacional na formação da oferta e demanda pelo produto, está restrita, principalmente, a três países: Estados Unidos, Brasil e Argentina. Estes países participam com 80% da produção e 90% da comercialização mundial da soja. A China tem se colocado em terceiro lugar na produção mundial, porém não participa do mercado internacional, consumindo sua produção internamente (BARROSO, 2003).

Conforme relatório do United States Department of Agriculture, (USDA), a produção mundial de soja foi de 190 milhões de toneladas em 2003, sendo que a produção brasileira atingiu 53 milhões de toneladas (ABIA, 2004).

No Brasil, a introdução da soja, há algumas décadas, atendeu ao mercado de óleo comestível e de ração animal (com o farelo resultante da extração do óleo). Quando se passou a fabricar outros produtos além do óleo, houve uma grande preocupação por parte do consumidor, bem como da comunidade científica, sobre os efeitos que os derivados de soja causariam no organismo humano, quando consumidos em longo prazo. Dois grandes obstáculos à aceitação de alimentos contendo derivados de soja foram o sabor e odor peculiares e indesejáveis destes produtos, para o consumidor. No entanto, na última década, o cenário modificou-se de forma expressiva, à medida que, com a conclusão de vários estudos científicos realizados nas áreas de saúde e nutrição, os resultados foram divulgados para a população de forma intensiva. Foram identificados vários componentes que, ao serem ingeridos em dietas com produtos derivados de soja, trazem benefícios significativos à saúde humana. Somados a estes conhecimentos, os avanços na melhoria de processos tecnológicos industriais de obtenção dos diferentes derivados de soja, com ênfase também na redução de odores e sabores típicos dos componentes do grão, têm contribuído para a popularização do consumo, tornando os produtos

derivados de soja uma das categorias de alimentos que mais cresce no momento (DEGRANI, 2003).

Os produtos à base de proteínas de soja são produzidos a partir do grão integral ou dos flocos resultantes da extração do óleo. A proteína texturizada de soja é obtida por extrusão termoplástica da farinha de soja ou da proteína concentrada de soja (70% de proteína) sob aquecimento úmido e alta pressão, fornecendo produto com textura fibrosa, em tamanhos, formatos, cores e sabores conforme ingredientes adicionados e parâmetros tecnológicos definidos. É utilizada em produtos cárneos, como substituinte para carnes em sopas, em molhos, em vários tipos de *snacks*, em barras de cereais, em produtos matinais, em preparações tipo hambúrgueres e em almôndegas vegetais (DEGRANI, 2003).

Dentre as fontes vegetais com potencialidade de uso na dieta humana, a soja é aquela que possui teor de proteínas de alto valor biológico. Ao mesmo tempo em que há esta disponibilidade de proteínas, existe, no Brasil, grave problema de desnutrição. Portanto, uma alternativa viável para solucionar o problema da desnutrição é estimular o consumo de produtos de soja, que são fontes proteicas nutritivas, econômicas e disponíveis no mercado (CARRÃO-PANIZZI & MANDARINO, 1998).

Estudos epidemiológicos têm sugerido a eficiência de frutas, de legumes e, principalmente, da soja na prevenção de câncer. Trabalhos experimentais têm confirmado a ação anticancerígena de várias substâncias presentes nesses alimentos: isoflavonas, saponinas, ácido fítico, inibidores das proteases, ácidos fenólicos, lignanas. As isoflavonas e os inibidores de proteases são encontrados em maior concentração na soja (MESSINA & MESSINA, 2001).

Segundo regulamento do FDA (*CFR 64 FR 57699, OCTOBER 26, 1999*) – *Food Labeling Healthy Claims, Soy Protein and Coronary Heart Disease* – alimentos industrializados que possuem soja como ingrediente podem ter declarado nos seus rótulos os seguintes dizeres: 25g de proteína de soja ao dia, como parte de uma dieta baixa em gordura saturada e colesterol, podem reduzir o risco de doenças coronárias (FDA, 2003).

Considera-se, comumente, que a proteína de soja tem valor biológico inferior ao das proteínas animais. Porém, avaliando-se através do PDCAAS (Digestibilidade

protéica corrigida pelo escore de aminoácidos – método que leva em consideração as necessidades humanas de aminoácidos e a digestibilidade das proteínas) observa-se que sua qualidade assemelha-se à das proteínas animais (MADL, 1993).

A soja é, freqüentemente, associada a outros alimentos com o objetivo de aumentar o valor nutricional, acrescentando calorias e proteínas ou complementando aminoácidos. Assim, fortificam-se as farinhas de trigo, milho ou mandioca. Os produtos fortificados são empregados na fabricação de pães, macarrões, etc. Em relação à correção do perfil de aminoácidos, distinguem-se dois processos: suplementação, em que se adiciona pequena quantidade de outra proteína, rica no aminoácido limitante; complementação, em que se misturam proteínas de forma que as deficiências de uma sejam compensadas pelos excessos de aminoácidos da outra, resultando numa mistura de proteínas com valor nutricional superior ao de cada componente individual. A combinação de cereais, como o trigo, (deficientes em lisina e com excessos de aminoácidos sulfurados) com leguminosas, como a soja, (deficientes em sulfurados, mas contendo excesso de lisina), proporciona complementação adequada. O emprego da soja, nessas situações, é importante porque, além da composição adequada e de custo inferior, tem capacidade de assimilar o sabor de outros alimentos (MESSINA & MESSINA, 2001).

#### **1.2.6.2. Glúten de trigo**

A produção mundial de grão de trigo é da ordem de 450 milhões de toneladas anuais, que coloca o trigo como primeiro cereal, antes do arroz e do milho. O trigo constitui um componente essencial da dieta alimentar de numerosos países, como fonte fundamental de carboidratos e calorias, porém as proteínas do trigo também constituem a maior parte das proteínas consumidas por várias regiões em desenvolvimento. Contudo, esta função nutricional básica é diminuída em virtude do baixo teor de lisina das proteínas do trigo (AAOCC, 2003).

O glúten foi primeiramente descrito por Beccari, em 1728. O método tradicional de sua preparação consiste na lavagem da massa de farinha de trigo com água ou com solução salina diluída para remoção da maior parte do amido e outros materiais solúveis, até que o glúten seja obtido como uma massa elástica, contendo

cerca de 80% da proteína total da farinha. O glúten desidratado contém cerca de 75 a 85% de proteína, dependendo do tipo de farinha. Isto representa uma considerável concentração da proteína, sendo que o conteúdo protéico de muitas farinhas varia na faixa de 5 a 15% em peso dos sólidos totais (KASARDA *et al.*, 1988).

O glúten pode ser desidratado por secagem a vácuo, “*spray drying*” e secador rotativo ou mesmo por liofilização, sem perder as propriedades de hidratação e panificação. O glúten desidratado (farinha de glúten) é estável, apesar dos materiais lipídicos presentes tenderem à rancificação.

Em 1820, Taddei separou o glúten em duas frações por extração alcoólica. A fração solúvel foi denominada gliadina e a insolúvel glutenina. Estas proteínas são responsáveis pela extensibilidade (gliadinas) e elasticidade (gluteninas) da massa de glúten hidratado (KASARDA *et al.*, 1964).

As gliadinas e gluteninas são caracterizadas pelo alto conteúdo de aminoácido glutamina (40 - 45%) e baixo conteúdo de lisina (1%). Quando foi realizada uma medição da taxa de eficiência protéica (PER) do glúten de trigo, valores que variam de 0,7 a 1,0 foram observados, equivalentes a 28 a 40% do valor do padrão caseína. Esses valores refletiram uma deficiência no aminoácido essencial lisina, uma característica inerente à maioria dos cereais. Misturas de diferentes proteínas vegetais freqüentemente resultam numa maior taxa de eficiência protéica do que a média aritmética de cada uma separadamente. É o que acontece quando o glúten de trigo, que tem um conteúdo baixo em lisina, porém alto em metionina e cistina, é combinado com a proteína de soja (DE ANGELIS, 1987).

## 2. OBJETIVOS

O trabalho teve como objetivos:

- Avaliação operacional do autoclave industrial, tipo estático, com injeção de vapor saturado, à temperatura de referência de 121°C, para esterilização de produto protéico vegetal enlatado, realizando-se ciclos com a câmara vazia.
- Validação do desempenho do autoclave utilizando-se de termopares, para validação física, e de indicadores biológicos de esporos de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, para validação biológica. O trabalho utilizou-se, para validação, dos parâmetros de esterilização pelo método de “Overkill”, pois o produto em estudo é termoestável.

### **3. MATERIAIS**

#### **3.1. Produto protéico vegetal**

##### **3.1.1. Matérias-primas**

Para a formulação do produto foram utilizados: glúten de trigo em pó (Alvol, Mendoza, Ar); proteína texturizada de soja e gordura vegetal hidrogenada, (Bunge Alimentos, SC, Br); glutamato monossódico (Ajinomoto, SP, Br); alho e cebola desidratados (Kraki Kienast, SP, Br); sal (Refinaria Nacional de Sal, RJ, Br); flavorizante sabor carne (Kraki Kienast, SP, Br) e corante caramelo (Corn Products, SP, Br).

As características químicas das matérias-primas principais estão apresentadas na Tabela 1.



### 3.1.2. Embalagem

Latas metálicas de três peças, fabricadas em folha de flandres, soldadas eletronicamente, cilíndricas (99 x 118 mm) de espessura do corpo de 0,18 mm, de espessura do fundo e tampa de 0,25 mm para recravação, revestidas internamente de verniz epóxi-fenólico apropriado para alimentos, fornecidas pela Metalúrgica Prada (SP, Br) foram envasadas com 850 gramas do produto protéico vegetal.

### 3.1.3. Equipamentos

Para o processamento do produto protéico vegetal (Figura 3), foram utilizados os equipamentos:

- Tanque retangular (capacidade de 2.000 L), construído em aço inox provido de agitadores fabricado por Quiminox, SP, Br;
- Centrífuga de cestos (diâmetro de 1,0 m), provida de tela de separação (nylon; 400 mesh de abertura), fabricada pela Westfalia Separator, SP, Br;
- Cutter de discos, rotativos, provido de facas (diâmetro de 25 cm, espaçadas em 3,5 cm do centro), fabricado pela Ibrasmak, SP, Br;
- Misturador planetário (300 L de capacidade), fabricado por Usi Ram, SP, Br;
- Misturador tipo sigma (250 L de capacidade, 50 rpm), fabricado por Usi Ram, SP, Br;
- Envasadora automática (capacidade de envase: 60 latas/min), fabricado por Welbba, SP, Br;
- Filtro de cartucho (Vazão de 100 L/h), fabricado por Acqua Domini, SP, Br.

### 3.1.4 Produto final

O produto final foi uma massa úmida, cominuída, granulada, de coloração marrom-clara, valor de pH  $6,3 \pm 0,2$ . O produto final foi analisado pelo Instituto Adolfo Lutz (São Paulo), conforme metodologias analíticas descritas em IAL (1985)

& AOAC (1996) e apresentou a seguinte composição centesimal: proteínas, 19,98%; gorduras, 1,63%; carboidratos, 3,05%; fibras, 1,29%; ferro, 0,2%; fósforo, 0,6%; teor de umidade, 69,98 %; e valor calórico total de 127 kcal.

### 3.2. Indicador Biológico

O indicador biológico utilizado foi o *B. stearothermophilus* ATCC 7953, acondicionado em tubos contendo ampola com meio de cultura. Neste estudo foi utilizado um lote de indicador biológico com população média de  $1,00 \times 10^6$  esporos/mL, fornecido pelo Laboratório de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

### 3.3 Sistema validador

O equipamento utilizado para aquisição dos dados de temperatura e pressão foi um sistema validador da “Kaye Instruments” série 306298 (*Bedford*, EUA) provido de coletor de dados de temperatura e pressão, conectado a um computador PC Pentium 233. Doze cabos de 10 metros, compensados (bitola 32 AWG), revestidos em teflon/teflon, foram utilizados como extensão do coletor de dados.

Os sensores de temperatura foram termopares tipo T [combinação de metais cobre(+)/cobre-níquel(-)], montados em bainha de aço inoxidável (3,2 x 100 mm), ajustáveis em conector compensado tipo macho-fêmea. Antes e depois de cada ciclo, os termopares foram calibrados em forno (*Hart Scientific* – modelo 9100 B, série 66728), na faixa de temperatura entre 50°C e 400°C, apresentando variação de temperatura de  $\pm 0,2^\circ\text{C}$  em relação ao termômetro de referência (PT 100, *Kaye Instruments*, nº 1269).

### 3.4 Autoclave e periféricos

Autoclave cilíndrico (2,5 m x 1,2 m; Quiminox, SP, Br) com capacidade de 2.800 litros, construído de chapas de aço carbono 1020 (espessura  $\frac{1}{4}$  de polegada),

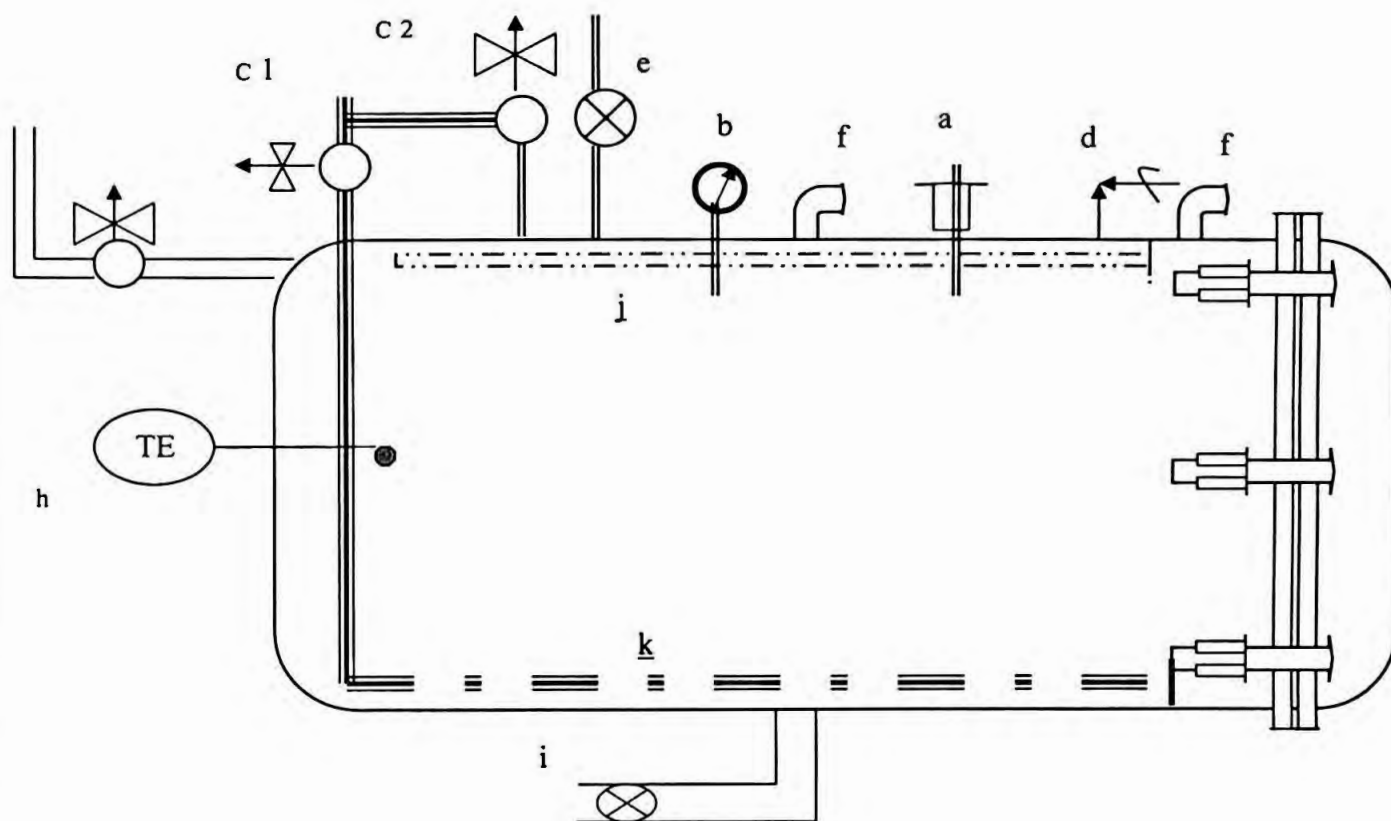
com uma porta provida de aberturas e travas circulares com junta vedante de anel de amianto alojada em uma canaleta entre a câmara e a porta.

Conforme a Figura 2, o autoclave possui os seguintes acessórios de controle: (a) um termômetro de mercúrio (0 a 150°C; Salcas, SP, Br); (b) um manômetro galvanométrico (0 a 5 kgf/cm<sup>2</sup>; Wika, SP, Br); (c) 3 válvulas solenóides (Valcon, Br) para entrada de vapor (c1 e c2) e de ar comprimido (c3); (d) uma válvula de segurança (Spirax Sarco, SP, Br) calibrada à pressão de operação de 2,0 kgf/cm<sup>2</sup>; (e) um registro tipo gaveta (1 ½ pol.; Valflux, SP, Br) para entrada de água de resfriamento; (f) duas válvulas (½ pol. Spirax Sarco, SP, Br) eliminadoras de ar; (g) um controlador de temperatura Proporcional Integral Derivativo – PID - (Spirax Sarco, SP, Br) com auto-ajuste, que controla as válvulas de entrada de vapor; (h) um sensor de temperatura tipo PT100 (Salcas, SP, Br) com poço termométrico conectado ao controlador PID; (i) um registro tipo gaveta (2 ½ pol. Valflux, SP, Br) para drenagem da água do autoclave.

O sistema de aquecimento é realizado através de vapor saturado à pressão de 2,0 kgf/cm<sup>2</sup>, sendo o vapor gerado por uma caldeira (6.000 kg vapor/h; ATA, SP, Br) e distribuído na câmara através de uma tubulação (1 pol.) provido de aberturas oblongas (¼ pol.) que se estendem ao longo do fundo do equipamento. Ao final do ciclo de aquecimento, mistura de vapor (c2) e ar comprimido (c3) foi injetada para compensação de pressão nas latas.

O sistema de contra-pressão foi realizado através da injeção direta de ar comprimido (c3) seco e isento de óleo.

Para o resfriamento das latas, utilizou-se água potável com teor residual de 5 ppm de cloro livre (hipoclorito de sódio), recirculada na câmara com vazão de 15 m<sup>3</sup>/h, na forma de cortina de água. A água é pressurizada através de tubulação (¾ pol.), provida de bicos tipo “spray”, que se estende ao longo da parte superior da câmara, de forma a manter um fluxo vertical homogêneo (j). A água drenada (i) foi bombeada para uma torre de resfriamento, retornando ao tanque pulmão de abastecimento.



- (a) Termômetro de mercúrio
- (b) Manômetro galvanométrico
- (c) Válvulas solenóides:
  - (c1) Vapor
  - (c2) Vapor
  - (c3) Ar
- (d) Válvula de segurança
- (e) Registro gaveta (água)
- (f) Válvula eliminadora de ar
- (h) Sensor de temperatura tipo PT100
- (i) Registro gaveta (dreno)
- (j) Tubulação com bicos tipo "spray"
- (k) Tubulação para distribuição de vapor

**Figura 2 – Autoclave horizontal estático**

## 4. MÉTODOS

### 4.1. Processamento do produto protéico vegetal

Os testes práticos deste trabalho foram realizados na planta industrial da empresa Produtos Alimentícios Superbom (SP, Br), conforme a seqüência representada no diagrama de fluxo (Figura 3). As matérias-primas, na proporção de 12% de proteína texturizada de soja e 15% de glúten de trigo em pó, foram utilizadas em quantidades adequadas para preparar um lote de fabricação do produto protéico vegetal de aproximadamente 200 kg, equivalente a 250 latas, sendo cada uma envasada com 850 g da mistura final.

A proteína texturizada de soja foi colocada em um tanque de aço inox e uniformemente hidratada com água (1:3 p/v), mantida na temperatura de 70°C/ 20 min, através de vapor saturado, fornecido por uma serpentina perfurada localizada no fundo do tanque. O banho foi mantido uniforme por agitadores instalados no centro do tanque. A proteína de soja hidratada foi transferida para centrífuga de cestos e lavada por jato contínuo de água (3,0 m<sup>3</sup>/h, à temperatura ambiente de 25 - 30°C), introduzido no meio do produto, enquanto o mesmo estava sendo centrifugado à uma velocidade de 1.200 rpm (3.800 x g) por um tempo de 15 minutos. No final da lavagem, a válvula de entrada de água foi fechada e a proteína hidratada de soja foi centrifugada por mais 20 min na mesma velocidade, quando a umidade final da massa atingiu aproximadamente 60% (p/p). A lavagem e secagem da proteína de soja reduzem o sabor indesejável da proteína no produto final. A proteína de soja foi triturada em partículas de granulometria média de 1,5 cm em um *cutter* de discos rotativos. A proteína de soja triturada (30°C) ficou armazenada em recipientes de aço inox por aproximadamente 2 horas, antes da etapa de mistura dos ingredientes.

O glúten de trigo desidratado foi transformado em uma massa homogênea e viscoelástica através da adição de água na proporção de 1 parte de glúten para 1,5 partes de água, com velocidade de agitação de 80 rpm, por um tempo de 20 minutos à temperatura ambiente (25-30°C). A massa de glúten foi fatiada em pedaços homogêneos (aproximadamente 2,0 Kg) em um *cutter* de discos rotativos e exposta a cozimento em banho de água à temperatura de 95°C por 20 min, em tanque aberto de aço inox até que a estrutura de um gel irreversível fosse formada. Os pedaços cozidos foram triturados em partículas com 0,8 cm de diâmetro médio. O glúten triturado

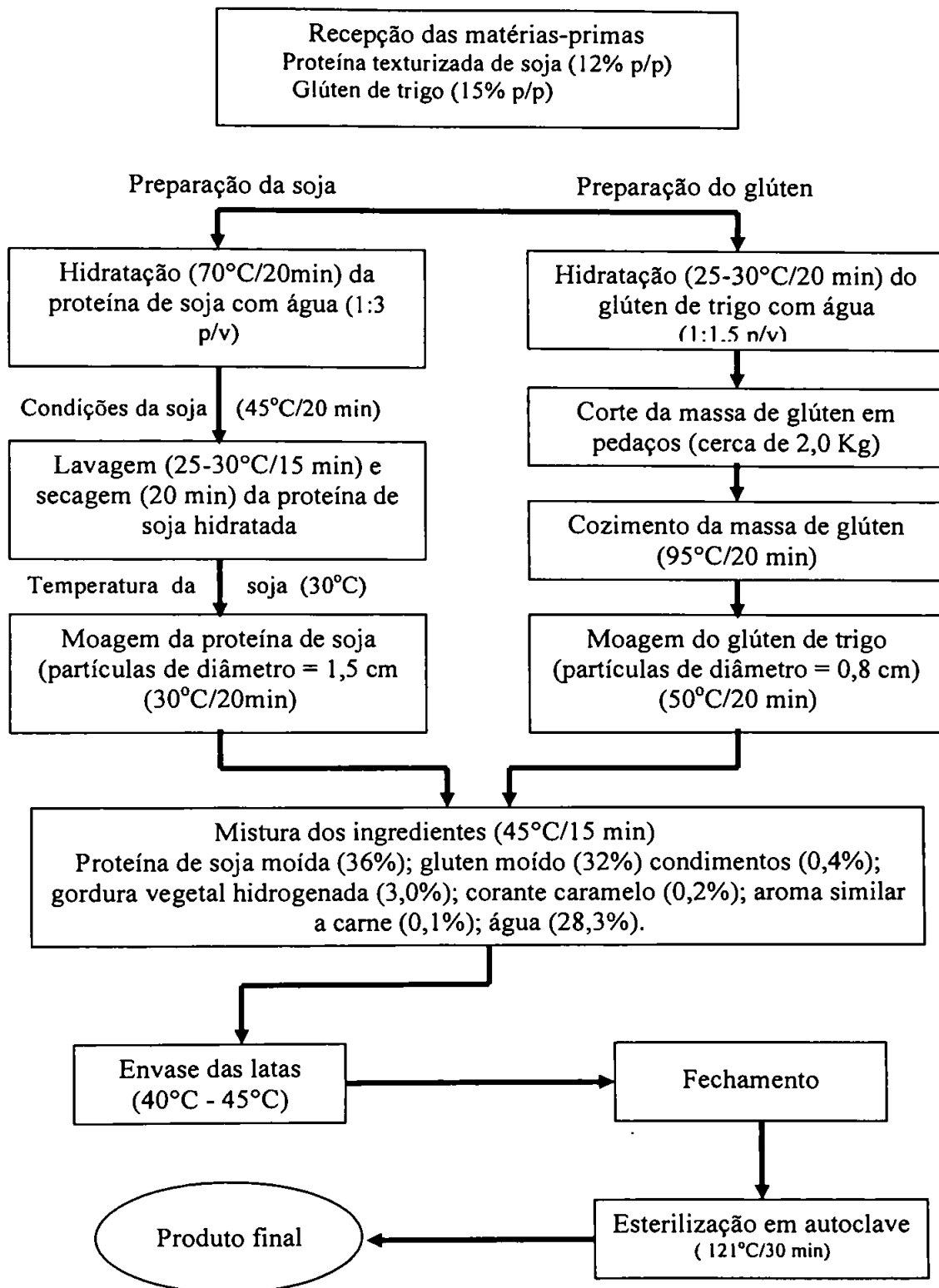
(70°C) ficou armazenado em recipientes de aço inox, por um período de 30 minutos, aguardando a etapa de mistura dos ingredientes.

Proteína de soja moída (36%), glúten triturado (32%), condimentos (0,4%), óleo de soja (3,0%), corante caramelo (0,2%), aromatizantes (0,1%) e água (28,3%) foram colocados em misturador tipo sigma por aproximadamente 15 minutos até a formação de uma massa úmida (temperatura de 45°C), granulada, homogênea de cor marrom-clara, característica do produto protéico vegetal.

Oitocentos e cinquenta gramas do produto protéico vegetal (à temperatura de 45°C) foram envasados em latas cilíndricas em equipamento automático de enchimento. As latas foram recravadas a vácuo (aproximadamente 70 kPa) e lavadas em um chuveiro de água quente (45-50°C) para remoção de resíduos de produto que tenha ficado aderente nas superfícies externas. Em seguida, as latas foram distribuídas nos três carrinhos do autoclave (316 latas/carrinho), para o processo de esterilização.

A água potável utilizada no processamento do produto protéico vegetal foi fornecida pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), sendo armazenada em um reservatório, que foi higienizado por limpeza mecânica e adição de hipoclorito de sódio (100 ppm). A água de processamento foi tratada através de um filtro de quatro camadas (carvão ativado, sais de prata coloidal, quartzo e dolomita). A água foi monitorada diariamente e mantida dentro das especificações legais para água potável do Ministério da Saúde (BRASIL, 2000).

A limpeza e a sanitização dos equipamentos e utensílios foram realizadas através de lavagem inicial com água à temperatura de 45°C para remoção da contaminação grosseira, seguida pela lavagem com uma solução (2% v/v) de detergente alcalino (Quimistrol SU 186, Lever Industrial, SP, Br) à temperatura de 45°C. O detergente ficou em contato com o equipamento por 10 minutos. Em seguida foi realizada a limpeza mecânica (esponja de espuma, 3M) para remoção total da contaminação. Após segunda lavagem com água, os equipamentos foram sanitizados através de solução (1% v/v) de desinfetante clorado (Divosan Saf Sol L, Lever Industrial, SP, Br), sendo que esta solução permaneceu em contato com os equipamentos e utensílios por 10 minutos antes da última lavagem com água.



**FIGURA 3. Fluxograma geral de fabricação do produto protéico vegetal**

## 4.2. Análises microbiológicas

A determinação de microrganismos viáveis antes da esterilização (*bioburden*), foi realizada em 288 lotes de produção (matérias-primas: proteína texturizada de soja e glúten de trigo; glúten de trigo moído, proteína de soja moída, mistura dos ingredientes e envase do produto em latas), em um período de 24 meses. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia da empresa Produtos Alimentícios Superbom, São Paulo, SP, Br, seguindo padrões do Ministério da Saúde, regidos pela Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Foram realizadas as seguintes análises: contagem padrão em placas de bactérias mesófilas aeróbias e anaeróbias totais, enumeração de esporos de mesófilas aeróbias e anaeróbias, contagem de bactérias termófilas aeróbias e anaeróbias totais, enumeração de esporos de termófilas aeróbias e anaeróbias, contagem de bolores e leveduras, determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes a 45°C, contagem e identificação de *Staphylococcus coagulase positiva* e pesquisa de *Salmonella*.

### 4.2.1. COLETA DAS AMOSTRAS

Foram coletadas, sob condições assépticas, oitocentos e sessenta e quatro amostras (200-250 g) em triplicata, sendo nove amostras de cada dia de produção (lotes de diferentes horários) e 4 dias de produção por mês. As amostras, depois de coletadas, foram devidamente acondicionadas em sacos plásticos estéreis (3M), colocadas em caixa térmica e enviadas ao laboratório.

### 4.2.2. Contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas e termófilas

Retirou-se asepticamente vinte e cinco gramas de cada amostra que foram transferidas para um saco plástico estéril (16,0 x 26,0 cm). Em seguida, foi acrescentado 225 mL de água peptonada (0,1% v/v), sendo a mistura homogeneizada em um *Stomacher* (Tekmar, Model 4001, Cincinnati, USA) por um minuto. Uma

série de diluições decimais de água peptonada (0,1% v/v) foi preparada. Um mL das amostras, em duplicata, nas diluições apropriadas, foi inoculado em placas de Petri estéreis e acrescentou-se o meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). Homogeneizou-se e, após solidificação do Agar, as placas foram incubadas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48h. Repetiu-se o mesmo procedimento para a contagem de bactérias aeróbias termófilas, porém as placas foram incubadas a  $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48h. Decorrido esse período, contou-se as placas com até 200 colônias, sendo o resultado expresso em UFC/g.

#### **4.2.3. Contagem padrão em placas de bactérias anaeróbias mesófilas e termófilas**

Para o crescimento de bactérias anaeróbias mesófilas e termófilas, 1 mL das amostras, em duplicata, nas diluições apropriadas, foi inoculado em placas de Petri estéreis, acrescentando-se o meio de cultura RCM (*Reinforced Clostridial Medium*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). As placas foram incubadas por 72h em jarras de anaerobiose (Gas-Pack System, Cockeysville, MD, USA). Para as mesófilas, a temperatura de incubação foi de  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e, para as termófilas, foi de  $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.2.4. Contagem de esporos aeróbios e anaeróbios, mesófilos e termófilos**

As amostras do produto (nas diluições previamente preparadas) foram aquecidas a  $80^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por 10 min, resfriadas antes de serem inoculadas no meio de cultivo e incubadas nas temperaturas correspondentes, conforme descrito nos itens anteriores.

#### **4.2.5. Contagem total de bolores e leveduras**

As amostras (nas diluições apropriadas) foram semeadas em PDA (*Potato Dextrose Agar*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA), acidificado com solução de ácido tartárico (10%) e ajustado para valor de  $\text{pH} = 3,5$ . As placas foram incubadas a

25°C ± 2°C por 72h. Foram consideradas placas com até 200 colônias, sendo o número de colônias expresso em UFC/g.

#### **4.2.6. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes a 45°C**

Partindo-se das diluições previamente preparadas, foram inoculados 1 mL de cada diluição em tubos de ensaio contendo caldo de LST (Lauril Sulfato Triptose, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA) e tubos de Durham invertidos, os quais foram retirados e incubados em estufa a 35°C ± 1°C por 48h. Após o período, as culturas dos tubos de ensaios considerados positivos, ou seja, os que apresentaram gás no interior dos tubos de Durham, foram inoculadas em tubos com BGB (*Brilliant green Bile*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA), e tubos de Durham invertidos, para a realização do teste confirmativo para coliformes totais. O período de incubação foi de 48 horas a 35°C ± 1°C.

No teste realizado para enumeração de coliformes a 45°C, utilizou-se tubos com caldo de EC (*E. coli*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA) inoculados a partir de culturas positivas para o teste confirmativo para coliformes totais, sendo os mesmos incubados em banho-maria com agitação a 45,5°C ± 0,2°C por 24 h. O NMP foi calculado utilizando-se da tabela do NMP para 3 tubos (APHA, 1992).

#### **4.2.7. Pesquisa de *Salmonella***

Para esta análise, pesou-se assepticamente 25g de cada amostra em erlenmeyer contendo 225 mL de Solução Salina Peptonada (0,85% v/v); incubou-se a 37°C por 24h (fase de “pré-enriquecimento”). Prosseguiu-se, realizando-se a fase do enriquecimento seletivo em caldo tetracionato (*Tetrathionate Broth*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). Inoculou-se 1 mL da cultura SSP em tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo tetracionato, sendo inoculado 1 tubo para cada amostra, os quais foram incubados a 37°C ± 1°C por 48h. Após este período, efetuou-se o plaqueamento seletivo para a identificação de colônias típicas do gênero

*Salmonella* em placas contendo HEA (*Hektoen Enteric Agar*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). Incubaram-se as placas em estufa a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24h.

#### **4.2.8. Contagem e identificação de *Staphylococcus coagulase positiva***

Retirou-se de cada diluição previamente preparada, alíquotas de 0,1mL, semeadas em placas contendo Ágar BP (*Baird-Parker Agar*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA), com o auxílio da alça de Drigalski, espalhando-se o inóculo sobre o meio. Inverteram-se as placas e incubou-se a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48h. Após o período de incubação, foi realizada a contagem, seguida do isolamento e posterior identificação das colônias características do gênero *Staphylococcus*. As colônias que se apresentaram características, ou seja, com centros negros e halos transparentes, foram isoladas em TSA (*Tryptic Soy Agar*, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA), para serem identificadas. Para a identificação foi realizado o teste da coagulase, no qual utilizou-se *Coagulase Plasma-EDTA* (Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). O teste de coagulase foi considerado positivo quando a bactéria inoculada foi capaz de coagular o plasma em um período de 1 a 4 horas.

#### **4.2.9 Teste de esterilidade comercial no produto final**

O produto final autoclavado foi analisado nos laboratórios de físico-química e microbiologia da empresa Produtos Alimentícios Superbom, São Paulo, SP, Br, pelo teste de esterilidade comercial, que consiste na incubação de 20 amostras retiradas de cada lote do produto final, em estufa a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 10 dias. Em seguida, as latas e os produtos foram examinados através da medição de vácuo, valor de pH e exame microscópio, para a verificação de possíveis alterações, como: estufamento, vazamento, modificações nas características sensoriais (odor, sabor); medição de vácuo, valor de pH e exame microscópio.

#### 4.3. Caracterização do indicador biológico – determinação do valor $D_{121C}$ no produto protéico vegetal

Para a caracterização do indicador biológico deste trabalho foi utilizada uma metodologia desenvolvida no Laboratório do Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica da Universidade de São Paulo (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Foram utilizados como indicadores biológicos esporos de *B. stearothermophilus* ATCC 7953 desenvolvidos a  $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 6 dias em PCA (*Plate Count Agar*) suplementado com amido solúvel, 0,10%; sulfato de magnésio, 0,05%; sulfato de manganês, 0,05%; cloreto de cálcio, 0,05%; ao valor final de pH 7,0. O crescimento foi suspenso em solução de acetato de cálcio 0,02 M, ao valor de pH 9,7 ajustado com solução de hidróxido de cálcio saturado 0,14% (p/v), e a suspensão foi centrifugada por quatro vezes a  $2.000 \times g$  por 30 min. Os esporos foram suspensos em solução resfriada de acetato de cálcio 0,02 M e a suspensão foi ajustada a pH 9,7 ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , 0,14%), sendo armazenada a  $4^{\circ}\text{C}$ . A contagem dos esporos viáveis de  $10^6$  a  $10^7$  UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mL) após ativação térmica ( $98,7^{\circ}\text{C}/30$  min), foi estimada através de semeadura em profundidade em TSA (*Trypticase Soy Agar*) a  $65^{\circ}\text{C}/48\text{h}$  (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Em condições assépticas, amostras de 15 gramas do produto protéico vegetal foram transferidas para cada seis frascos de vidro cilíndricos (15 x 50 mm) de 15 mL de capacidade, inoculadas com 1,0 mL da suspensão de esporos, à concentração final de  $1,0 \times 10^6$  esporos/mL/frasco. Os frascos foram fechados com tampas de borracha e lacres de alumínio, sendo em seguida imersos em banho de óleo de silicone DC 200 *fluid 20 cs* (*Haven Automation Ltd.*; n° série 43793/12; Swansea, U.K.) termostaticamente controlado à temperatura de  $121 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . Para determinação do intervalo de inércia, um termopar tipo PT100 foi inserido no interior de um dos frascos, através da tampa de borracha, e selado com cola de silicone. Os frascos foram retirados nos tempos de tratamento pré-determinados (0, 5, 10, 20 e 30 min) e resfriados em banho de água contendo gelo. A contagem dos sobreviventes foi

realizada por semeadura em profundidade em TSA (*Trypticase Soy Agar*). As placas foram incubadas em estufa a 65°C durante 24 e 48 horas.

#### **4.4. Calibração do sistema validador**

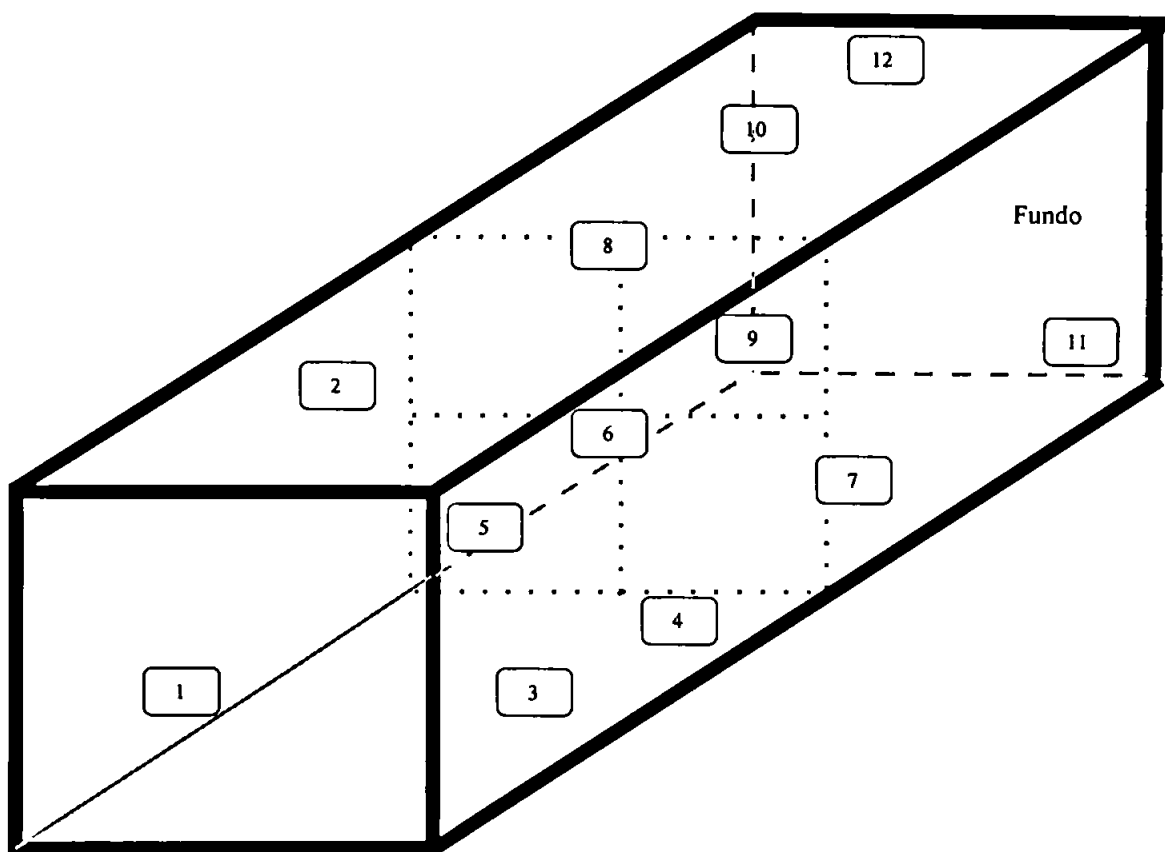
Os sensores foram calibrados em forno de calibração de termopares (*Hart Scientific* – modelo 9100 B, série 66728). O forno calibrador foi aferido através de termômetro tipo termoresistência padrão, PT-100, 4 fios, e multímetro digital 5 ½ dígitos, marca Minipa, SP, Br. Os termopares utilizados na medição de temperaturas foram calibrados antes e após cada ciclo de esterilização.

Como o estudo objetivou monitorar ciclos de 121°C, os sensores foram calibrados nas seguintes faixas de temperatura: 115°C, 121°C e 130°C. A variação máxima permitida foi de  $\pm 0,2$  °C durante 3 minutos.

#### **4.5. Estudo de distribuição de calor na câmara vazia do autoclave**

A qualificação de operação (OQ) teve por objetivos: (1) verificar a calibração do autoclave, acessórios periféricos e operacionais e (2) confirmar a operacionalidade do equipamento executando 3 ciclos na câmara do autoclave, adequando a distribuição de calor aos pares tempo-temperatura estabelecidos. Para tanto, doze sensores de temperatura foram distribuídos no espaço geométrico da câmara (figura 4) sem contato com a superfície da mesma durante os estudos de distribuição e penetração de calor. Um dos sensores (12) permaneceu justaposto ao sensor de comando do autoclave, que foi ajustado à temperatura de 121°C durante 20 minutos.

No que se refere à distribuição de calor, foi adotado como critério de aceitação o limite de  $\pm 1$ °C de variação de temperatura em relação à temperatura média da câmara.



**FIGURA 4 – Posição dos sensores na câmara do autoclave**

#### **4.6. Estudo de penetração de calor na unidade de carga**

A unidade de carga foi representada por lata metálica cilíndrica (99 x 118 mm), com revestimento interno de verniz sanitário epoxi-fenólico e tampa para recravação, contendo 850 gramas do produto, perfazendo 950 gramas de massa total. Em carrinho de aço inoxidável (80 x 80 x 80 cm), foram acomodadas 366 latas. Na câmara do autoclave foram dispostos três carrinhos, caracterizando a carga máxima de 950 kg de produto final.

Concluídos os testes de distribuição de calor com a câmara vazia, foram iniciados os testes para a qualificação de *performance* do processo de esterilização do produto protéico vegetal.

Para a qualificação de *performance* (PQ), onze termopares foram introduzidos nos produtos e posicionados no centro geométrico das latas. As unidades de carga com sensores foram distribuídas na câmara nas mesmas posições pré-estabelecidas (figura 4).

Para a carga máxima (950 kg de produto final; 1.098 latas) do autoclave o sensor de comando da mesma foi ajustado em 125°C, para os 90 minutos iniciais do ciclo, e em 121°C, para os 30 minutos seguintes. As temperaturas dos sensores foram registradas automaticamente a intervalos de 60 segundos.

#### 4.7. Qualificação microbiológica da esterilização

Para a qualificação microbiológica, o indicador biológico (suspensão de esporos de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953) foi misturado ao produto antes do envase. Estas latas (inoculadas com o indicador biológico) foram posicionadas adjacentes às latas com sensores. Após a exposição ao ciclo de esterilização, a lata com IB foi incubada em estufa a 55°C± 2°C por 48 h. Com o valor de  $D_{Tr}$  e a população inicial conhecidos, foram calculados o número de reduções logarítmicas para a população de esporos de IB e calculada a probabilidade de esporo sobrevivente (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

#### 4.8. Análise dos resultados

O valor  $D_{Tr}$  foi estimado através do inverso negativo do coeficiente angular da equação da reta calculada, utilizando-se do método da regressão linear, através dos mínimos quadrados, aplicado à região linear da curva de sobrevivência, obtida da relação entre o logaritmo decimal da contagem de sobreviventes e o tempo de exposição respectivo. A variância do valor D foi calculada através da fórmula:  $V(D) = [1/(-b)^2]^2 [SE(b)]^2$ , onde b é o coeficiente angular da equação da reta, obtida por regressão linear simples, que ajusta os pares dos valores de sobreviventes e tempos

de exposição a 121°C; SE(b) é o erro padrão do coeficiente angular. O desvio-padrão amostral em relação ao valor D foi obtido da raiz quadrada da variância, ou seja,  $S(D) = \sqrt{V(D)}$ . O intervalo de confiança do valor D obtido foi estabelecido em  $D \pm S(D)$ .

Valor  $F_{Tr}$  : tempo equivalente ( $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}$ ) à temperatura de referência ( $T_r = 121^\circ\text{C}$ ) e  $z = 10^\circ\text{C}$ , em relação à  $T_M$  (média aritmética das temperaturas registradas para cada intervalo de tempo), foi calculado pela equação:  $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}} = 1 \times 10^{(T - 121^\circ\text{C})/10^\circ\text{C}}$ , através da aplicação do método trapezoidal de PATASHNIK (VESSONI PENNA & MACHOSHVILI, 1997).

Valor de  $F_{Tr}$  acumulado: refere-se ao  $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}$  obtido pela soma dos valores correspondentes ao intervalo de tempo considerado.

Valor “n” : número de ciclos logarítmicos reduzidos para cada intervalo de tempo e  $T_M$  considerado, calculado pela equação:  $n = \frac{F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}}{D_{121^\circ\text{C}}}$

Valor “n” acumulado: refere-se à soma dos valores “n” para o intervalo de tempo considerado. Ao final do ciclo representou o número de ciclos logarítmicos reduzidos do ciclo.

Log Nf: logaritmo decimal da população final de esporos (Nf) no indicador biológico (IB), para o intervalo de tempo considerado, obtido pela equação:

$$\text{LogNf} = \text{LogN}_0 - \left( \frac{F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}}{D_{121^\circ\text{C}}} \right)$$

$N_0$ : população inicial de esporos, ou seja, de  $1,0 \times 10^6$  UFC/fita. O valor  $D_{121^\circ\text{C}}$  do IB utilizado nos ciclos foi de  $3,68 \pm 0,43$  minutos.

Nf: população final de esporos/IB

SAL (Nível de garantia de esterilidade ou “*Sterility Assurance Level*”): Nf inferiores a  $10^0$  esporos/IB

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Qualidade microbiana do produto antes da esterilização

A tabela 2 apresenta o perfil microbiológico das matérias-primas principais para preparação do produto protéico vegetal, ou seja, proteína texturizada de soja e glúten de trigo.

O perfil microbiológico destas matérias-primas apresentou, para contagem total, uma variação de um valor mínimo 10 UFC/g para o glúten de trigo e um valor máximo de  $4,96 \pm 0,25$  log UFC/g para a proteína texturizada de soja; a contagem de bolores e leveduras foi menor que 10 UFC/g para o glúten de trigo para uma média de 100 UFC/g para a proteína texturizada de soja. A ausência de coliformes totais, fecais e *S. aureus* (coagulase positiva) em 1 g de amostras analisadas e em 25 g de amostras analisadas para o teste de *Salmonella sp.* foi constatada em todas as análises realizadas. O crescimento de populações microbianas presentes na matéria-prima proteína de soja mostrou ser um risco potencial para o processo, portanto, um ponto crítico a ser controlado.

As tabelas 3, 4, 5 e 6 apresentam as características microbiológicas das seguintes etapas do processo de fabricação: proteína de soja moída, glúten de trigo moído, mistura dos ingredientes e envase do produto em latas.

Os estágios de hidratação, lavagem e moagem da proteína de soja texturizada (fig. 3) aumentaram o valor médio da contagem padrão em dois ciclos logarítmicos (tabela 3);  $6,76 \pm 0,20$  e  $5,65 \pm 0,11$  log UFC/g para bactérias mesófilas aeróbias e anaeróbias totais e  $3,64 \pm 0,16$  log UFC/g para bolores e leveduras, em relação às contagens da matéria-prima. A contagem de termófilos anaeróbios e aeróbios totais foi mantida baixa, entre 1,0 – 2,0 log.

A média entre  $4,34 \pm 0,10$  e  $4,36 \pm 0,31$  log de esporos de mesófilos anaeróbios e aeróbios foi no mínimo de quatro vezes em relação aos esporos anaeróbios e aeróbios termófilos (essas populações foram cerca de 1,0 log UFC/g). Uma população média de 3,5 log NMP/g para coliformes totais e fecais foi constatada na

proteína de soja moída, população esta presente na matéria-prima, porém não detectada pela sensibilidade do método NMP (tabela 2).

O glúten moído (fig. 3) mostrou pequenos grupos viáveis de microorganismos (tabela 4). As maiores médias de contagem foram de  $3,19 \pm 0,18$  e  $1,83 \pm 0,10$  log UFC/g para aeróbios mesófilos e anaeróbios, porém contagens menores que 10 UFC/g foram confirmadas para os demais grupos analisados. A operação de cozimento foi realizada a  $95^{\circ}\text{C}$  por 20 min, para os pedaços de massa de glúten hidratado, mantendo a biocarga inalterada.

As contagens verificadas no produto após mistura dos ingredientes e na fase de envase das latas mostraram uma população de aeróbios mesófilos totais de 7,0 log UFC/g e de anaeróbios de 6,0 log UFC/g (tabelas 5 e 6). Contudo, a enumeração dos esporos de mesófilos aeróbios e anaeróbios foi maior que 4 log UFC/g, significando que, na etapa de mistura dos ingredientes, a alta contagem da proteína de soja moída prevaleceu sobre o glúten moído não contaminado. Um aumento de 1,0 log UFC/g para os termófilos aeróbios e anaeróbios foi observado durante a mistura dos ingredientes em relação à proteína de soja moída (tabela 3). Os demais grupos de microorganismos viáveis apresentaram resultados similares aos valores obtidos na proteína de soja moída. A operação de envase das latas, realizada automaticamente, não interfere na carga microbiana do produto final.

As características microbiológicas da água utilizada em diferentes estágios de preparação obedeceram às especificações (BRASIL, 2001 & APHA, 1995). A contagem padrão de bactérias em todas as amostras analisadas foi inferior a 100 UFC/mL e a presença de coliformes em 100 mL não foi confirmada.

As amostras coletadas dos equipamentos, utensílios e manipuladores da preparação do produto protéico vegetal, mostraram a ausência de *S. aureus* (coagulase positiva) e a ausência de bolores e leveduras; sendo que as contagens de coliformes e de bactérias mesófilas foram inferiores a 100 UFC/cm<sup>2</sup>.

TABELA 2 - Características microbiológicas das matérias-primas utilizadas no produto protéico vegetal

Grupo de Microorganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])												
	Proteína texturizada de soja						Grão de Trigo						
	2001	Jan/01	Fev/01	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Contagem Total		Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
*Bactérias e Leveduras (< 3.00)	4,81 ± 0,20	4,82 ± 0,23	4,84 ± 0,26	4,80 ± 0,21	4,84 ± 0,28	4,82 ± 0,23	4,86 ± 0,26	4,82 ± 0,25	4,89 ± 0,27	4,90 ± 0,21	4,92 ± 0,23	4,90 ± 0,21	4,82 ± 0,23
*Coliformes Totais (< 2.00)	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
*E. coli (< 1.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*S. aureus (coagulase positiva) (< 2.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*Salmonella sp. (ausência em 25 g)	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
2002													
Contagem Total		Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
*Bactérias e Leveduras (< 3.00)	4,81 ± 0,20	4,82 ± 0,23	4,84 ± 0,26	4,80 ± 0,21	4,84 ± 0,28	4,82 ± 0,23	4,86 ± 0,26	4,82 ± 0,25	4,89 ± 0,27	4,90 ± 0,21	4,92 ± 0,23	4,90 ± 0,21	4,82 ± 0,23
*Coliformes Totais (< 2.00)	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
*E. coli (< 1.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*S. aureus (coagulase positiva) (< 2.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*Salmonella sp. (ausência em 25 g)	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
2001													
Contagem Total		Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
*Bactérias e Leveduras (< 3.00)	0,86 ± 0,38	0,87 ± 0,44	0,87 ± 0,28	1,00 ± 0,42	1,00 ± 0,42	1,00 ± 0,42	1,50 ± 0,30	1,28 ± 0,36	0,88 ± 0,28	1,42 ± 0,28	0,88 ± 0,28	0,88 ± 0,28	0,78 ± 0,28
*Coliformes Totais (< 2.00)	1,87 ± 0,00	1,26 ± 0,00	1,25 ± 0,00	1,75 ± 0,00	1,75 ± 0,00	1,75 ± 0,00	1,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00	1,88 ± 0,00	1,80 ± 0,00	0,83 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
*E. coli (< 1.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*S. aureus (coagulase positiva) (< 2.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*Salmonella sp. (ausência em 25 g)	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
2002													
Contagem Total		Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
*Bactérias e Leveduras (< 3.00)	0,86 ± 0,38	0,87 ± 0,44	0,87 ± 0,28	0,87 ± 0,28	0,87 ± 0,28	1,00 ± 0,42	1,50 ± 0,30	1,00 ± 0,42	0,88 ± 0,28	0,88 ± 0,28	0,88 ± 0,28	0,88 ± 0,28	0,88 ± 0,28
*Coliformes Totais (< 2.00)	0,42 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,88 ± 0,00	0,88 ± 0,00	0,88 ± 0,00	1,28 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,80 ± 0,00	1,08 ± 0,00	1,58 ± 0,00	1,17 ± 0,00
*E. coli (< 1.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*S. aureus (coagulase positiva) (< 2.00)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
*Salmonella sp. (ausência em 25 g)	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência

IC = Intervalo de confiança (n = 12; p &lt; 0,05)

\* Resolução ANVISA

TABELA 3 - Características microbiológicas da proteína de soja moída (figura 3)

Grupo de Microrganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])												
	2001	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
Mesófilas aeróbias totais	5,99 ± 1,08	5,84 ± 1,07	4,77 ± 0,22	4,60 ± 0,07	6,63 ± 0,12	6,69 ± 0,41	6,98 ± 0,87	4,66 ± 0,82	5,81 ± 1,14	6,46 ± 0,70	6,07 ± 0,30	6,04 ± 0,40	6,87 ± 0,48
Mesófilas anaeróbias totais	6,08 ± 0,44	5,29 ± 0,74	4,68 ± 0,07	4,68 ± 0,07	5,95 ± 0,11	5,99 ± 0,18	6,39 ± 0,80	5,18 ± 0,01	5,18 ± 0,74	5,42 ± 0,19	4,84 ± 0,38	5,41 ± 0,68	6,30 ± 0,44
Termófilas aeróbias totais	1,60 ± 0,40	1,82 ± 0,00	1,50 ± 0,40	1,50 ± 0,40	1,58 ± 0,40	1,17 ± 0,00	1,93 ± 0,00	1,50 ± 0,40	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,26 ± 0,00	1,86 ± 0,00	1,90 ± 0,40
Termófilas anaeróbias totais	1,26 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,27 ± 0,00	1,27 ± 0,00	1,28 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,28 ± 0,00	1,85 ± 0,40	1,80 ± 0,40	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,26 ± 0,40	1,28 ± 0,00
Bactérias e Leveduras	2,74 ± 0,40	3,02 ± 0,28	3,39 ± 0,11	3,39 ± 0,11	3,50 ± 0,10	2,96 ± 0,22	2,87 ± 0,11	3,12 ± 0,46	3,01 ± 0,26	3,64 ± 0,16	3,47 ± 0,06	3,31 ± 0,08	2,74 ± 0,40
Coliformes totais	3,18 ± 0,18	3,32 ± 0,11	3,07 ± 0,48	3,07 ± 0,48	3,63 ± 0,18	3,50 ± 0,02	3,50 ± 0,02	3,30 ± 0,04	3,32 ± 0,11	3,63 ± 0,18	3,43 ± 0,08	3,64 ± 0,14	3,15 ± 0,18
Coliformes fecais	3,78 ± 0,08	3,72 ± 0,14	3,73 ± 0,07	3,73 ± 0,07	3,18 ± 0,46	3,43 ± 0,12	3,28 ± 0,22	3,08 ± 0,28	3,72 ± 0,14	3,22 ± 0,28	3,30 ± 0,00	3,46 ± 0,03	3,76 ± 0,08
Esporos de mesófilas aeróbias	3,81 ± 0,17	3,65 ± 0,08	4,21 ± 0,31	4,21 ± 0,31	4,33 ± 0,08	3,82 ± 0,02	3,84 ± 0,26	3,64 ± 0,07	3,66 ± 0,06	4,24 ± 0,18	4,20 ± 0,12	3,87 ± 0,37	3,83 ± 0,13
Esporos de mesófilas anaeróbias	4,08 ± 0,21	3,80 ± 0,63	4,12 ± 0,18	4,12 ± 0,18	4,30 ± 0,08	4,11 ± 0,18	4,20 ± 0,14	3,37 ± 0,70	3,64 ± 0,63	4,27 ± 0,06	4,30 ± 0,14	4,21 ± 0,14	4,18 ± 0,28
Esporos de termófilas aeróbias	0,42 ± 0,40	0,88 ± 0,00	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,82 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,66 ± 0,00	0,42 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,80 ± 0,00
Esporos de termófilas anaeróbias	0,58 ± 0,40	0,80 ± 0,00	0,67 ± 0,00	0,67 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,83 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,66 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,66 ± 0,00

Grupo de Microrganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])												
	2002	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
Mesófilas aeróbias totais	6,13 ± 0,63	5,83 ± 0,62	5,91 ± 0,48	5,91 ± 0,48	6,79 ± 0,78	6,27 ± 0,66	4,88 ± 0,87	5,94 ± 0,38	6,47 ± 0,12	5,89 ± 0,81	5,77 ± 0,74	6,76 ± 0,20	4,86 ± 0,82
Mesófilas anaeróbias totais	5,48 ± 0,30	5,37 ± 0,32	5,18 ± 0,27	5,18 ± 0,27	6,27 ± 0,84	6,14 ± 0,84	4,78 ± 0,20	5,38 ± 0,88	5,22 ± 0,17	5,12 ± 0,17	5,09 ± 0,88	5,14 ± 0,84	4,84 ± 0,08
Termófilas aeróbias totais	1,68 ± 0,40	1,88 ± 0,00	1,67 ± 0,40	1,67 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,68 ± 0,00	1,68 ± 0,40	1,88 ± 0,00	1,83 ± 0,40	1,88 ± 0,40	1,87 ± 0,00	1,88 ± 0,00	1,42 ± 0,40
Termófilas anaeróbias totais	1,42 ± 0,00	1,33 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,60 ± 0,40	1,42 ± 0,40	1,28 ± 0,00	1,28 ± 0,40	1,28 ± 0,00	1,33 ± 0,00	1,68 ± 0,40	1,87 ± 0,00	1,27 ± 0,00
Bactérias e Leveduras	3,20 ± 0,28	3,36 ± 0,07	3,32 ± 0,18	3,32 ± 0,18	3,04 ± 0,28	3,02 ± 0,28	3,42 ± 0,10	3,47 ± 0,08	3,66 ± 0,10	2,89 ± 0,10	3,06 ± 0,28	3,80 ± 0,28	3,39 ± 0,00
Coliformes totais	3,48 ± 0,15	3,07 ± 0,60	3,64 ± 0,14	3,64 ± 0,14	3,37 ± 0,11	3,34 ± 0,10	3,11 ± 0,40	3,62 ± 0,13	3,63 ± 0,18	3,46 ± 0,02	3,34 ± 0,10	3,84 ± 0,28	3,14 ± 0,48
Coliformes fecais	3,48 ± 0,12	3,82 ± 0,28	3,68 ± 0,02	3,68 ± 0,02	3,73 ± 0,14	3,72 ± 0,14	3,73 ± 0,07	3,48 ± 0,03	3,16 ± 0,48	3,25 ± 0,21	3,72 ± 0,14	3,78 ± 0,14	3,78 ± 0,28
Esporos de mesófilas aeróbias	4,00 ± 0,10	4,36 ± 0,31	3,67 ± 0,37	3,67 ± 0,37	3,87 ± 0,04	3,96 ± 0,06	4,20 ± 0,17	3,83 ± 0,28	4,34 ± 0,04	3,90 ± 0,16	3,85 ± 0,08	3,96 ± 0,00	4,31 ± 0,19
Esporos de mesófilas anaeróbias	4,18 ± 0,08	4,34 ± 0,10	4,24 ± 0,12	4,24 ± 0,12	3,74 ± 0,63	3,71 ± 0,66	4,12 ± 0,18	4,18 ± 0,14	4,41 ± 0,37	4,25 ± 0,14	3,86 ± 0,63	3,78 ± 0,68	4,19 ± 0,18
Esporos de termófilas aeróbias	0,60 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,67 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,66 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,42 ± 0,00	0,80 ± 0,00	0,83 ± 0,00
Esporos de termófilas anaeróbias	0,58 ± 0,00	0,88 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,80 ± 0,00	0,80 ± 0,00

IC = Intervalo de confiança (n = 12; p &lt; 0,05)

TABELA 4 - Características microbiológicas de glúten de trigo moído (figura 3)

Grupo de Microorganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])												
	2001	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
Mesófilos aeróbios totais	3,71 ± 0,23	2,93 ± 0,22	3,19 ± 0,00	3,17 ± 0,00	2,96 ± 0,44	3,06 ± 0,40	2,86 ± 0,01	2,74 ± 0,04	3,04 ± 0,16	3,12 ± 0,24	3,18 ± 0,02	3,14 ± 0,16	
Mesófilos anaeróbios totais	1,50 ± 0,40	1,33 ± 0,00	1,26 ± 0,00	1,67 ± 0,00	1,67 ± 0,00	1,83 ± 0,00	1,67 ± 0,40	1,50 ± 0,00	1,60 ± 0,40	1,76 ± 0,00	1,42 ± 0,40	1,50 ± 0,40	
Termófilos aeróbios totais	0,68 ± 0,00	0,67 ± 0,40	0,68 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,67 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,66 ± 0,40	0,58 ± 0,00	0,68 ± 0,00	
Termófilos anaeróbios totais	0,66 ± 0,40	0,76 ± 0,00	0,68 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,67 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,66 ± 0,40	0,58 ± 0,40	0,60 ± 0,40	
Bactérias e Leveduras	0,82 ± 0,40	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,40	
Coliformes totais	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,83 ± 0,40	0,82 ± 0,00	0,76 ± 0,40	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,76 ± 0,00	
Coliformes fecais	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	
Esporos de mesófilos aeróbios	0,82 ± 0,00	0,97 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,66 ± 0,40	0,92 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,00	
Esporos de mesófilos anaeróbios	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,86 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	
Esporos de termófilos aeróbios	1,00 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,40	0,92 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,00	
Esporos de termófilos anaeróbios	0,83 ± 0,00	0,32 ± 0,40	0,76 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,66 ± 0,00	0,76 ± 0,40	0,76 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,68 ± 0,40	0,80 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,76 ± 0,40	
2001													
Grupo de Microorganismos	2001	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC
Mesófilos aeróbios totais	3,17 ± 0,32	2,56 ± 0,00	2,81 ± 0,20	3,19 ± 0,18	3,09 ± 0,00	2,71 ± 0,23	3,18 ± 0,10	3,17 ± 0,36	3,07 ± 0,08	3,14 ± 0,06	2,88 ± 0,40	2,86 ± 0,40	
Mesófilos anaeróbios totais	1,76 ± 0,00	1,50 ± 0,00	1,33 ± 0,40	1,60 ± 0,40	1,67 ± 0,00	1,60 ± 0,40	1,33 ± 0,40	1,87 ± 0,00	1,60 ± 0,40	1,90 ± 0,40	1,87 ± 0,00	1,26 ± 0,40	
Termófilos aeróbios totais	0,58 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,40	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	0,58 ± 0,00	
Termófilos anaeróbios totais	0,60 ± 0,40	0,56 ± 0,40	0,67 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,67 ± 0,00	0,68 ± 0,40	0,42 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,68 ± 0,40	0,66 ± 0,40	0,42 ± 0,40	0,63 ± 0,00	
Bactérias e Leveduras	0,82 ± 0,40	0,92 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,82 ± 0,40	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,40	0,83 ± 0,40	0,83 ± 0,00	
Coliformes totais	0,83 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,76 ± 0,40	0,83 ± 0,00	0,79 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,83 ± 0,00	
Coliformes fecais	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	susãncia	
Esporos de mesófilos aeróbios	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,83 ± 0,40	0,76 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,87 ± 0,40	
Esporos de mesófilos anaeróbios	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,76 ± 0,00	
Esporos de termófilos aeróbios	0,76 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,76 ± 0,00	0,82 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,00	0,92 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,87 ± 0,00	
Esporos de termófilos anaeróbios	0,87 ± 0,00	0,76 ± 0,40	0,67 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,83 ± 0,00	0,58 ± 0,40	0,87 ± 0,40	0,87 ± 0,40	0,87 ± 0,40	0,59 ± 0,00	0,87 ± 0,00	

IC = Intervalo de confiança (n = 12; p &lt; 0,05)



TABELA 6 - Características microbiológicas da fase onense do produto protéico vegetal em letas (figura 3)

Grupo de Microorganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])																												
	2001		Janeiro		Fevereiro		Março		Abril		Maio		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Novembro		Dezembro				
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC			
Mesófilas aeróbias totais	6,24 ± 0,06	6,83 ± 0,40	6,87 ± 0,59	6,96 ± 0,16	6,80 ± 0,42	6,81 ± 0,40	7,00 ± 0,55	6,77 ± 0,30	6,74 ± 0,02	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38	6,85 ± 0,38		
Mesófilas anaeróbias totais	5,91 ± 0,56	5,48 ± 0,42	5,42 ± 0,72	5,13 ± 0,10	5,80 ± 0,40	5,88 ± 0,72	5,81 ± 0,52	5,37 ± 0,80	5,87 ± 0,18	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	5,85 ± 0,30	
Termófilas aeróbias totais	1,42 ± 0,80	1,17 ± 0,00	1,33 ± 0,00	1,80 ± 0,40	0,88 ± 0,40	1,08 ± 0,40	1,87 ± 0,00	0,92 ± 0,40	1,25 ± 0,80	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	1,17 ± 0,40	
Termófilas anaeróbias totais	1,58 ± 0,00	1,06 ± 0,40	1,88 ± 0,00	1,00 ± 0,60	1,08 ± 0,40	1,28 ± 0,40	1,33 ± 0,00	0,92 ± 0,80	1,36 ± 0,80	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,00	
Bactérias e Leveduras	2,87 ± 0,40	3,05 ± 0,28	3,24 ± 0,40	3,36 ± 0,12	3,40 ± 0,32	3,29 ± 0,48	3,44 ± 0,20	3,11 ± 0,12	3,47 ± 0,52	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	3,48 ± 0,20	
Coliformes totais	3,17 ± 0,00	3,17 ± 0,00	3,28 ± 0,00	3,31 ± 0,00	3,33 ± 0,00	3,31 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	
Coliformes fecais	3,26 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,18 ± 0,12	3,32 ± 0,00	3,28 ± 0,00	3,34 ± 0,04	3,28 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00
Esporos de mesófilas aeróbias	4,19 ± 0,12	4,26 ± 0,04	4,33 ± 0,00	4,41 ± 0,00	4,48 ± 0,04	4,40 ± 0,04	4,41 ± 0,00	4,41 ± 0,00	4,39 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02	4,47 ± 0,02
Esporos de mesófilas anaeróbias	4,20 ± 0,12	4,19 ± 0,04	4,25 ± 0,04	4,28 ± 0,02	4,28 ± 0,02	4,24 ± 0,40	4,29 ± 0,08	4,22 ± 0,10	4,27 ± 0,00	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02	4,30 ± 0,02
Esporos de termófilas aeróbias	0,83 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,78 ± 0,00	0,88 ± 0,00	0,78 ± 0,40	0,80 ± 0,40	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,82 ± 0,00
Esporos de termófilas anaeróbias	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,86 ± 0,00	0,80 ± 0,40	0,42 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,80 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40	0,86 ± 0,40

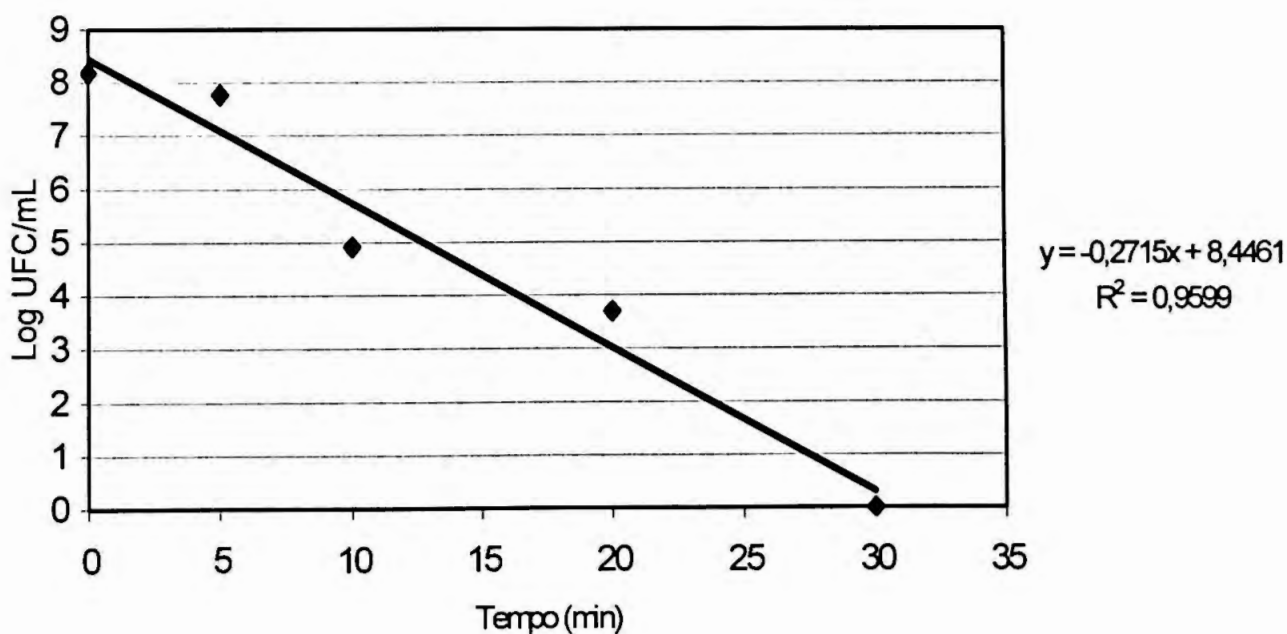
Grupo de Microorganismos	Dados experimentais (log [UFC/g])																													
	2002		Janeiro		Fevereiro		Março		Abril		Maio		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Novembro		Dezembro					
	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC	Média ± IC					
Mesófilas aeróbias totais	6,91 ± 0,16	6,96 ± 0,02	7,15 ± 0,06	7,08 ± 0,02	6,85 ± 0,16	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00	7,14 ± 0,00		
Mesófilas anaeróbias totais	6,90 ± 0,78	6,90 ± 0,46	6,96 ± 0,32	6,96 ± 0,35	6,10 ± 0,38	6,48 ± 0,30	6,53 ± 0,76	6,90 ± 0,62	6,03 ± 0,32	6,70 ± 0,10	6,96 ± 0,82	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	6,87 ± 0,70	
Termófilas aeróbias totais	1,42 ± 0,80	1,85 ± 0,00	1,17 ± 0,40	1,86 ± 0,40	1,88 ± 0,40	1,80 ± 0,40	1,33 ± 0,80	1,86 ± 0,00	1,83 ± 0,40	1,80 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	1,87 ± 0,00	
Termófilas anaeróbias totais	1,42 ± 0,80	1,86 ± 0,40	1,42 ± 0,40	1,42 ± 0,00	1,42 ± 0,40	1,42 ± 0,80	1,33 ± 0,80	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	1,87 ± 0,40	
Bactérias e Leveduras	3,53 ± 0,32	3,48 ± 0,08	3,48 ± 0,20	3,80 ± 0,04	3,09 ± 0,18	3,35 ± 0,00	3,87 ± 0,32	3,48 ± 0,04	3,83 ± 0,08	3,34 ± 0,03	3,68 ± 0,10	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	3,24 ± 0,82	
Coliformes totais	3,32 ± 0,00	3,31 ± 0,03	3,36 ± 0,00	3,33 ± 0,00	3,17 ± 0,03	3,35 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	3,36 ± 0,00	
Coliformes fecais	3,36 ± 0,00	3,28 ± 0,03	3,31 ± 0,00	3,29 ± 0,03	3,38 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,37 ± 0,03	3,32 ± 0,03	3,30 ± 0,00	3,31 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	3,32 ± 0,00	
Esporos de mesófilas aeróbias	4,43 ± 0,04	4,41 ± 0,00	4,48 ± 0,02	4,44 ± 0,00	4,28 ± 0,08	4,48 ± 0,08	4,40 ± 0,04	4,48 ± 0,08	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	4,43 ± 0,02	
Esporos de mesófilas anaeróbias	4,29 ± 0,00	4,26 ± 0,08	4,32 ± 0,00	4,31 ± 0,08	4,22 ± 0,08	4,29 ± 0,00	4,30 ± 0,08	4,33 ± 0,14	4,29 ± 0,08	4,29 ± 0,02	4,34 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14	4,33 ± 0,14
Esporos de termófilas aeróbias	0,83 ± 0,40	0,80 ± 0,40	0,79 ± 0,00	0,88 ± 0,40	0,80 ± 0,40	0,80 ± 0,00	0,80 ± 0,00	0,88 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,86 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00
Esporos de termófilas anaeróbias	0,87 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,42 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,80 ± 0,00	0,87 ± 0,40	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00

IC = Intervalo de confiança (n = 12; p &lt; 0,05)

## 5.2. Tempo de redução decimal (valor $D_{121^{\circ}\text{C}}$ ) de esporos de *B. stearothermophilus* no produto protéico vegetal

A figura 5 apresenta a curva de sobreviventes obtida a partir dos dados experimentais, representando os logaritmos de UFC/mL em relação aos tempos de exposição. O valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  foi calculado como o inverso negativo do coeficiente angular da equação da reta calculada utilizando-se do método da regressão linear, através dos mínimos quadrados, aplicado à região linear da curva de sobrevivência, com coeficiente de correlação ( $r^2$ ) de 0,9599. O valor  $D_{121^{\circ}\text{C}} = 3,68 \pm 0,43 \text{ min.}$ , obtido no produto protéico vegetal, foi similar (3,5 min; 4,0 min) a alguns valores descritos na literatura para *B. Stearothermophilus* em alimentos (Martinez *et al.*,1996). A variância do valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  foi calculada;  $V(D) = 0,1889402$  e o desvio-padrão amostral ( $SD$ ) = 0,43.

FIGURA 5-Curva de sobreviventes de esporos de *B. stearothermophilus*



### **5.3. Aferição do equipamento de coleta de dados**

Os resultados da aferição do conjunto de equipamentos utilizados para a coleta dos dados de temperatura são apresentados nas tabelas 7, 8, 9 e 10. Os resultados comprovam que o equipamento para coleta e registro dos dados de temperatura foi calibrado adequadamente e que se manteve calibrado durante todo o período do trabalho, garantindo a confiabilidade dos resultados.

TABELA 7 - Calibração dos termopares utilizados na validação da esterilização do produto proteico vegetal

Ponto de Calibração 115,0 °C		Variação máxima permitida: ± 0,2°C durante 3 minutos												
Leitura pedrão var.	TC1 medição var.	TC2 medição var.	TC3 medição var.	TC4 medição var.	TC5 medição var.	TC6 medição var.	TC7 medição var.	TC8 medição var.	TC9 medição var.	TC10 medição var.	TC11 medição var.	TC12 medição var.	Desvio máximo permitido:	
													TC1 desvio	TC12 desvio
115,01	115,20	114,80	115,10	114,80	114,80	115,20	115,10	115,00	115,20	115,00	115,10	114,80	0,00	0,00
0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00
I) Verificação do desvio antes da calibração														
Desvio máximo permitido: + 0,8°C antes da calibração														
Leitura pedrão	TC1 medição desvio	TC2 medição desvio	TC3 medição desvio	TC4 medição desvio	TC5 medição desvio	TC6 medição desvio	TC7 medição desvio	TC8 medição desvio	TC9 medição desvio	TC10 medição desvio	TC11 medição desvio	TC12 medição desvio	Desvio máximo permitido:	
													TC1 desvio	TC12 desvio
115,01	115,20	114,80	115,10	114,80	114,80	115,20	115,10	115,00	115,20	115,00	115,10	114,80	0,01	0,21
0,01	0,19	0,21	0,09	0,11	0,21	0,19	0,09	0,01	0,19	0,01	0,09	0,21	0,01	0,21
II) Resultados após a calibração														
Desvio máximo permitido: + 0,4°C depois da calibração														
Leitura pedrão	TC1 medição desvio	TC2 medição desvio	TC3 medição desvio	TC4 medição desvio	TC5 medição desvio	TC6 medição desvio	TC7 medição desvio	TC8 medição desvio	TC9 medição desvio	TC10 medição desvio	TC11 medição desvio	TC12 medição desvio	Desvio máximo permitido:	
													TC1 desvio	TC12 desvio
13,30:00	115,00	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,31:00	115,00	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,32:00	115,00	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,33:00	115,00	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,34:00	115,01	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,35:00	115,01	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,36:00	115,01	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,37:00	115,01	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
13,38:00	115,01	115,01	115,02	114,99	115,00	115,01	115,02	115,01	114,99	115,01	114,99	115,02	0,01	0,01
0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01

TABELA 8 - Calibração dos termopares utilizados na validação da esterilização (antes dos ciclos)

Ponto de Calibração 121,0 °C		Variação máxima permitida: ± 0,2°C durante 3 minutos																							
I) Estabilidade dos termopares		TC1		TC2		TC3		TC4		TC5		TC6		TC7		TC8		TC9		TC10		TC11		TC12	
Leitura padrão	medição var.	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio	medição var.	desvio
121,01	0,01	121,10	0,02	120,90	0,02	121,10	0,02	120,90	0,02	121,10	0,02	120,90	0,02	121,10	0,02	120,90	0,02	121,10	0,02	120,90	0,02	121,10	0,02	120,90	0,02
Desvio máximo permitido: + 0,8°C antes da calibração																									
II) Verificação do desvio antes da calibração																									
Leitura padrão	TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	TC9	TC10	TC11	TC12													
121,01	121,10	120,90	121,10	120,90	121,10	120,90	121,10	120,90	121,10	120,90	121,10	120,90													
	0,09	0,11	0,09	0,11	0,11	0,09	0,09	0,01	0,09	0,01	0,09	0,11													
Desvio máximo permitido: + 0,4°C depois da calibração																									
III) Resultados após a calibração																									
Leitura padrão	TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	TC9	TC10	TC11	TC12													
15:10:00	121,00	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02													
15:11:00	121,00	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02													
15:12:00	121,00	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02													
15:13:00	121,00	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02													
15:14:00	121,01	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03													
15:15:00	121,01	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03													
15:16:00	121,01	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03													
15:17:00	121,01	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03													
15:18:00	121,01	121,02	121,02	120,98	121,00	121,02	121,02	121,02	120,98	121,02	120,98	120,98													
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03													

**TABELA 9 - Calibração dos termopares utilizados na validação da esterilização (após ciclos)**  
 Ponto de Calibração 121,0 °C

Leitura padrão		Variação máxima permitida: ± 0,2°C durante 3 minutos												
TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	TC9	TC10	TC11	TC12			
medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	
var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	var.	
121.01	120.90	121.20	120.80	120.90	121.10	121.20	121.00	121.10	121.00	121.20	121.00	121.20	120.90	
0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	
<b>I) Verificação do desvio antes da calibração</b>														
Desvio máximo permitido: + 0,8°C antes da calibração														
TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	TC9	TC10	TC11	TC12			
medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	
desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	
121.01	120.90	121.20	120.80	120.90	121.10	121.20	121.00	121.10	121.00	121.20	121.00	121.20	120.90	
0.09	0.11	0.19	0.21	0.11	0.09	0.19	0.01	0.09	0.01	0.19	0.01	0.19	0.11	
<b>II) Resultados após a calibração</b>														
Desvio máximo permitido: + 0,4°C depois da calibração														
Leitura padrão	TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	TC9	TC10	TC11	TC12		
medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	medição	
desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	desvio	
121.00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	
0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
18:46:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:46:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:47:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:48:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:49:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:50:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:51:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
18:52:00	121.01	121.01	120.99	121.00	121.01	121.01	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	120.99	121.01	
0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00	0.02	

**TABELA 10 - Calibração dos termopares utilizados na validação da esterilização**

Ponto de Calibração 130,0 °C		Variação máxima permitida: ± 0,2°C durante 3 minutos												
Leitura padrão var.	TC1 medição var.	TC2 medição var.	TC3 medição var.	TC4 medição var.	TC5 medição var.	TC6 medição var.	TC7 medição var.	TC8 medição var.	TC9 medição var.	TC10 medição var.	TC11 medição var.	TC12 medição var.	+ 0,8°C antes da calibração	
													medição	desvio
130,01	130,10	129,90	130,20	129,80	129,80	130,10	130,20	130,00	130,10	130,00	130,20	129,90	130,02	0,02
0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,00
I) Verificação do desvio antes da calibração														
Leitura padrão	TC1 medição desvio	TC2 medição desvio	TC3 medição desvio	TC4 medição desvio	TC5 medição desvio	TC6 medição desvio	TC7 medição desvio	TC8 medição desvio	TC9 medição desvio	TC10 medição desvio	TC11 medição desvio	TC12 medição desvio	+ 0,8°C antes da calibração	
													medição	desvio
130,01	130,10	129,90	130,20	129,80	129,80	130,10	130,20	130,00	130,10	130,00	130,20	129,90	130,01	0,11
0,09	0,11	0,19	0,21	0,21	0,11	0,09	0,19	0,01	0,09	0,01	0,19	0,11	0,19	0,11
II) Resultados após a calibração														
Leitura padrão	TC1 medição desvio	TC2 medição desvio	TC3 medição desvio	TC4 medição desvio	TC5 medição desvio	TC6 medição desvio	TC7 medição desvio	TC8 medição desvio	TC9 medição desvio	TC10 medição desvio	TC11 medição desvio	TC12 medição desvio	+ 0,4°C depois de calibração	
													medição	desvio
14:26:00	130,00	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
14:26:00	130,00	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
14:27:00	130,00	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
14:28:00	130,00	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
14:29:00	130,01	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,01	0,01	0,00	0,03	0,03	0,01	0,01	0,00	0,01	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,03
14:30:00	130,01	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,01	0,01	0,00	0,03	0,03	0,01	0,01	0,00	0,01	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,03
14:31:00	130,01	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,01	0,01	0,00	0,03	0,03	0,01	0,01	0,00	0,01	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,03
14:32:00	130,01	130,02	130,01	129,98	130,00	130,02	130,01	130,02	129,98	130,02	129,99	130,01	129,98	129,98
0,01	0,01	0,00	0,03	0,03	0,01	0,01	0,00	0,01	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,03

#### 5.4. Qualificação operacional do autoclave pelo estudo com a câmara vazia Q

Após a realização da qualificação de instalação, que verificou se todos os equipamento satélites e os instrumentos do autoclave estavam dentro dos padrões especificados, passou-se para a qualificação operacional, através da realização de 3 ciclos de distribuição de calor com a câmara vazia.

Os resultados dos dados registrados na câmara vazia são mostrados na tabelas 11, 12 e 13, referentes aos ciclos 1, 2 e 3, respectivamente, para: tempo do ciclo, temperaturas nos sensores 1 a 11; temperatura do sensor de referência (TR).

Nas mesmas tabelas estão apresentados os cálculos de:  $T_M$ ;  $F_{Tr}$ ;  $F_{Tr}$  acumulado;  $n$ ;  $n$  acumulado;  $\text{Log } N_f$ ; e  $N_f$ .

As figuras 6 e 7 mostram o perfil de temperaturas no decorrer dos ciclos na câmara vazia, valores de  $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}$  e população final de esporos ( $N_f$  ou SAL).

TABELA 11 Distribuição de calor com a câmara vazia: Ciclo 01

t (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)												F <sub>Tr</sub> acum	F <sub>Tr</sub> (min)	n	Log Nf	Nf		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12							
0	90,20	90,40	88,40	90,80	90,40	91,00	91,10	90,80	91,10	91,10	91,50	91,30	90,68	0,001	0,000	0,000	6,000	1,00E+06	
1	113,10	111,30	110,90	111,10	109,20	112,10	108,00	108,40	108,40	107,10	108,70	110,90	109,43	0,070	0,071	0,019	6,981	9,87E+06	
2	120,80	120,40	120,20	120,50	120,10	119,80	119,40	119,30	120,90	120,70	120,70	120,50	120,28	0,843	0,914	0,229	6,762	5,69E+06	
3	122,80	122,20	121,60	123,00	122,20	122,00	122,00	122,00	122,00	122,00	122,20	122,20	122,08	1,262	2,196	0,348	6,403	2,53E+06	
4	121,00	120,80	120,50	120,70	120,80	120,80	120,80	121,10	120,80	120,80	121,10	120,50	120,81	0,987	3,154	0,260	6,143	1,39E+05	
5	120,20	119,80	119,40	119,40	119,20	119,60	119,60	119,30	119,70	119,30	119,80	119,60	119,66	0,718	3,871	0,186	4,949	8,86E+04	
6	121,00	120,90	120,70	120,70	120,70	121,10	120,80	120,70	120,80	120,70	120,70	120,70	120,81	0,987	4,829	0,260	4,868	4,88E+04	
7	121,80	121,50	121,10	120,80	121,10	120,80	121,10	121,40	121,10	121,30	121,50	121,10	121,28	1,062	6,860	0,289	4,400	2,81E+04	
8	122,40	122,30	121,80	121,70	121,80	122,10	121,80	122,20	122,10	122,10	122,20	121,80	122,01	1,262	7,152	0,343	4,067	1,14E+04	
9	121,40	121,30	121,00	120,80	120,80	121,20	121,00	121,10	120,90	120,90	121,00	121,00	121,06	1,012	6,164	0,276	3,782	6,05E+03	
10	120,70	120,50	120,20	120,20	120,10	120,40	120,20	120,10	120,40	120,20	120,20	120,30	120,28	0,849	8,013	0,231	3,561	3,56E+03	
11	121,30	121,20	121,00	120,80	120,80	121,30	121,00	120,80	121,20	121,00	120,90	121,00	121,03	1,007	10,020	0,274	2,722	1,86E+03	
12	121,70	121,70	121,50	121,30	121,60	121,60	121,60	121,60	121,60	121,80	121,50	121,70	121,59	1,148	11,185	0,311	3,034	2,86E+02	
13	120,90	120,70	120,50	120,60	120,40	120,70	120,50	120,40	120,70	120,60	120,60	120,60	120,58	0,908	12,073	0,247	3,280	2,72E+02	
14	121,00	121,50	121,10	121,10	121,10	121,30	121,10	121,00	121,10	121,10	121,30	121,10	121,17	1,040	13,113	0,283	3,563	2,437	2,74E+02
15	120,90	120,80	120,50	120,80	120,80	120,70	120,80	120,40	120,70	120,80	120,80	120,80	120,82	0,918	14,028	0,248	3,812	2,188	1,54E+02
16	121,20	121,20	121,00	120,90	120,90	121,10	121,00	120,90	121,10	120,90	121,00	121,00	121,01	1,002	18,032	0,272	4,084	1,919	8,23E+01
17	120,90	121,10	120,80	120,90	120,90	121,00	120,70	120,70	120,70	120,90	120,70	120,90	120,86	0,968	18,968	0,283	4,347	1,863	4,50E+01
18	120,90	121,00	120,70	120,90	120,90	120,90	120,70	120,70	120,70	120,90	120,80	120,70	120,75	0,944	18,942	0,267	4,803	1,397	2,49E+01
19	121,70	121,70	121,40	121,60	121,40	121,80	121,40	121,40	121,40	121,60	121,60	121,50	121,52	1,127	18,088	0,306	4,910	1,090	1,23E+01
20	121,10	121,10	120,80	120,80	120,80	121,10	120,80	120,70	121,00	120,80	120,80	120,80	120,82	0,982	19,061	0,267	6,177	0,823	6,68E+00
21	120,60	120,80	120,70	120,80	120,90	121,30	121,10	121,10	121,10	120,80	120,80	120,80	120,83	0,992	20,012	0,261	6,438	0,662	3,69E+00
22	120,90	121,10	120,70	120,70	120,70	120,80	120,70	120,70	120,80	120,80	120,70	120,70	120,77	0,948	20,981	0,258	6,698	0,304	2,02E+00
23	121,20	121,30	120,90	120,90	120,90	121,10	121,10	120,90	121,10	120,90	120,90	121,00	121,02	1,005	21,985	0,273	5,959	0,031	1,08E+00
24	120,70	120,90	120,80	120,70	120,70	120,80	120,80	121,10	120,70	120,80	120,80	120,70	120,70	0,933	22,898	0,264	6,222	-0,222	6,00E-01
25	122,00	122,10	121,80	121,80	122,10	121,80	121,80	121,80	121,80	121,90	121,80	122,00	121,90	1,230	24,128	0,334	6,856	-0,656	2,78E-01
26	121,10	121,30	120,90	121,00	121,00	121,10	120,80	121,10	121,10	120,90	121,10	121,00	121,04	1,009	26,138	0,274	6,831	-0,631	1,48E-01
27	121,10	121,40	121,40	121,20	121,20	121,80	121,30	121,30	121,20	121,20	121,20	121,30	121,28	1,087	28,206	0,260	7,121	-1,121	7,86E-02
28	121,20	121,30	121,00	121,10	121,00	121,20	121,00	121,00	121,00	121,00	121,00	121,20	121,08	1,019	27,223	0,277	7,397	-1,397	4,01E-02
29	120,70	120,80	120,80	120,70	120,80	120,70	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,70	120,81	0,914	28,137	0,248	7,646	-1,646	2,26E-02
30	120,60	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,83	0,918	28,068	0,260	7,895	-1,895	1,27E-02
31	120,70	120,80	120,80	120,70	120,80	121,00	120,80	121,10	120,80	120,80	120,80	120,70	120,72	0,858	28,983	0,265	8,150	-2,150	7,08E-03
32	121,60	121,60	121,60	121,60	121,60	121,60	121,40	121,40	121,40	121,50	121,60	121,50	121,63	1,130	31,123	0,307	8,467	-2,467	3,48E-03
33	121,10	121,10	120,70	121,10	120,90	121,10	120,90	120,80	120,90	120,90	120,90	121,00	120,95	0,999	32,112	0,269	6,728	-1,666	2,18E-02

TABELA 11 Distribuição de calor com a câmara vazia: Ciclo 01  
Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)

(min)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	T <sub>m</sub> Média (min)	F <sub>Tr</sub> F <sub>Tr</sub> acum	n	n acum	Log Nf	Nf
34	120,60	120,70	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	121,10	120,80	120,40	120,40	120,80	120,89	0,908	0,247	8,872	-2,704	1,99E-03
35	121,60	121,70	121,80	121,80	121,80	121,80	121,40	121,50	121,40	121,80	121,80	121,80	121,87	1,140	0,310	9,282	-3,014	9,09E-04
36	120,80	121,00	120,70	121,00	120,90	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,70	120,80	120,85	0,966	0,263	9,545	-3,278	5,30E-04
37	121,40	121,40	121,30	121,40	121,40	121,10	121,10	121,20	121,10	121,10	120,90	121,40	121,26	1,059	0,268	9,833	-3,584	2,73E-04
38	120,70	121,00	120,80	120,80	120,80	120,70	121,10	120,80	120,80	120,70	120,80	120,80	120,78	0,981	0,268	10,091	-3,822	1,81E-04
39	120,90	121,00	120,90	121,00	121,00	121,10	120,80	120,80	120,80	120,90	120,70	120,70	120,90	0,977	0,268	10,356	-4,088	8,17E-05
40	120,90	121,10	120,80	120,90	121,10	120,80	121,10	120,80	121,10	120,80	120,80	120,80	120,83	0,964	0,267	10,624	-4,356	4,41E-05
41	121,40	121,60	121,20	121,40	121,40	121,50	121,40	121,20	121,20	121,20	121,10	121,40	121,31	1,074	0,262	10,816	-4,647	2,26E-05
42	120,80	121,10	120,80	121,00	121,00	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,80	120,90	120,88	0,973	0,264	11,100	-4,911	1,23E-05
43	120,80	121,10	120,70	120,90	120,90	120,70	120,70	120,70	120,70	120,70	120,80	120,90	120,80	0,965	0,260	11,440	-5,171	6,76E-06
44	120,80	121,10	120,70	120,90	120,90	121,00	120,70	121,10	120,70	120,70	120,70	120,90	120,86	0,968	0,263	11,703	-5,434	3,68E-06
45	121,40	121,60	121,30	121,40	121,60	121,60	121,40	121,30	121,30	121,30	121,20	121,40	121,40	1,066	0,268	12,001	-5,732	1,86E-06
46	120,80	121,00	120,70	121,00	121,00	120,80	120,80	121,10	120,80	120,80	120,80	121,00	120,91	0,979	0,266	12,267	-5,988	1,00E-06
47	121,50	121,70	121,60	121,70	121,60	121,50	121,50	121,60	121,50	121,50	121,40	121,60	121,66	1,143	0,311	12,577	-6,309	4,91E-07
48	85,30	81,70	83,60	80,80	82,10	78,70	81,20	82,90	78,60	79,70	85,20	84,30	81,82	0,000	0,000	12,577	-6,309	4,91E-07
F <sub>Tr</sub> P	47,70	48,32	45,16	45,96	45,83	47,73	45,39	45,86	46,45	45,40	45,71	46,25						

TABELA 12 Distribuição de calor com a câmara vazia: Ciclo 02

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)												Tm	Ftr min	Ftr acum.	n	n acum.	Log NF	NF
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12							
0	96,39	94,99	95,69	95,78	96,98	100,00	91,06	95,66	95,08	94,98	93,86	92,47	95,14	0,003	0,003	0,001	0,001	6,000	1,00E+08
1	108,43	108,33	108,73	108,73	108,84	108,53	108,73	107,73	108,13	107,93	107,13	106,73	107,99	0,060	0,063	0,014	0,015	5,998	9,69E+05
2	119,38	119,78	119,38	119,38	119,58	119,78	119,78	119,61	119,78	119,81	119,68	119,68	119,63	0,728	0,782	0,188	0,213	5,788	9,14E+05
3	123,09	122,99	122,99	122,99	122,99	121,99	122,29	122,49	122,49	122,99	122,19	122,08	122,61	1,416	2,168	0,385	0,598	5,403	2,53E+05
4	121,99	121,08	121,18	121,18	121,49	120,58	120,98	120,98	121,08	121,08	120,78	120,58	121,08	1,019	3,217	0,277	0,874	5,127	1,34E+05
5	120,78	120,98	120,28	120,38	120,58	119,61	119,98	120,08	120,18	120,18	119,88	119,78	120,20	0,932	4,048	0,226	1,100	4,901	7,96E+04
6	122,99	122,49	122,49	122,89	122,69	121,78	122,19	122,09	122,19	122,09	121,79	121,69	122,24	1,330	5,378	0,362	1,462	4,639	3,48E+04
7	121,29	121,29	120,89	121,08	121,18	120,20	120,58	120,58	120,68	120,78	120,48	120,48	120,80	0,956	6,334	0,260	1,721	4,280	1,90E+04
8	121,08	121,08	120,99	121,08	121,08	120,28	120,58	120,58	120,68	120,78	120,48	120,28	120,78	0,961	7,286	0,258	1,980	4,021	1,06E+04
9	121,39	121,39	121,29	121,39	121,39	120,38	120,68	120,68	120,78	120,78	120,48	120,28	120,97	0,993	8,278	0,270	2,260	3,751	9,64E+03
10	121,59	121,59	121,49	121,59	121,59	120,58	120,88	120,88	120,98	120,98	120,68	120,48	120,97	1,074	9,352	0,292	2,541	3,460	2,88E+03
11	120,78	120,88	120,68	120,78	120,78	120,78	120,78	120,78	120,88	120,88	120,58	120,38	120,97	0,999	10,241	0,242	2,783	3,218	1,66E+03
12	122,29	122,29	122,29	122,29	122,29	121,29	121,59	121,59	121,69	121,69	121,39	121,19	121,95	1,245	11,485	0,338	3,121	2,890	7,58E+02
13	121,18	121,38	120,18	120,38	120,38	120,78	120,78	120,78	120,88	120,88	120,58	120,38	120,97	0,993	12,479	0,270	3,391	2,610	4,07E+02
14	120,39	120,39	120,18	120,38	120,38	120,78	120,78	120,78	120,88	120,88	120,58	120,38	120,97	0,904	13,282	0,218	3,809	2,392	2,46E+02
15	121,39	121,39	121,29	121,39	121,39	120,38	120,68	120,68	120,78	120,78	120,48	120,28	121,04	1,009	14,291	0,274	3,894	2,117	1,31E+02
16	122,29	122,29	122,09	122,19	122,29	121,29	121,59	121,59	121,69	121,69	121,39	121,19	121,90	1,230	15,522	0,304	4,218	1,783	9,07E+01
17	121,08	121,08	120,28	120,28	120,48	120,48	120,48	120,48	120,58	120,58	120,28	120,08	120,77	0,948	16,470	0,258	4,478	1,628	3,36E+01
18	120,38	120,38	120,28	120,28	120,48	120,48	120,48	120,48	120,58	120,58	120,28	120,08	120,77	0,768	17,269	0,214	4,890	1,311	2,08E+01
19	122,19	122,09	122,09	122,19	122,39	121,39	121,69	121,69	121,79	121,79	121,49	121,29	121,90	1,202	18,461	0,327	5,017	0,994	9,64E+00
20	121,18	120,99	120,99	121,18	121,18	120,48	120,48	120,48	120,58	120,58	120,28	120,08	120,76	0,948	19,407	0,257	5,274	0,727	6,33E+00
21	121,99	121,99	121,99	121,99	121,99	120,98	121,18	121,18	121,28	121,28	120,98	120,78	121,62	1,127	20,635	0,306	5,690	0,421	2,63E+00
22	122,29	122,29	122,19	122,29	122,29	121,29	121,59	121,59	121,69	121,69	121,39	121,19	121,90	1,230	21,785	0,334	5,915	0,098	1,22E+00
23	121,29	121,49	121,18	121,29	121,29	120,08	120,08	120,58	120,58	120,78	120,48	120,28	120,94	0,996	22,761	0,268	6,183	-0,182	9,66E-01
24	120,28	120,28	120,08	120,08	120,28	120,28	120,28	120,28	120,38	120,38	120,08	119,88	120,94	0,774	23,528	0,210	6,363	-0,362	4,06E-01
25	123,29	123,39	123,19	123,19	123,39	122,79	122,79	122,79	122,89	122,89	122,59	122,39	123,00	1,585	25,111	0,431	6,824	-0,823	1,50E-01
26	121,59	121,59	121,49	121,59	121,59	121,18	121,08	121,08	121,18	121,18	120,88	120,68	121,29	1,098	26,180	0,291	7,114	-1,113	7,71E-02
27	120,98	120,78	120,58	120,58	120,78	120,18	120,18	120,18	120,28	120,28	120,08	120,18	120,39	0,898	27,048	0,238	7,350	-1,349	4,47E-02
28	119,78	119,78	119,78	119,88	119,88	119,18	119,18	119,18	119,28	119,28	119,18	119,51	119,46	0,701	27,760	0,181	7,541	-1,540	2,88E-02
29	122,19	122,29	122,19	122,29	122,39	121,69	121,69	121,69	121,79	121,79	121,49	122,03	121,92	1,208	28,988	0,336	7,877	-1,878	1,33E-02
30	121,08	120,98	120,98	120,98	120,98	120,58	120,58	120,58	120,68	120,68	120,38	120,18	120,81	0,967	29,943	0,280	8,197	-2,136	7,31E-03
31	119,98	119,98	119,98	119,98	120,08	119,48	119,48	119,48	119,48	119,48	119,28	119,68	119,68	0,736	30,681	0,201	8,337	-2,336	4,61E-03
32	122,78	122,99	122,79	122,69	122,99	122,39	122,29	122,29	122,39	122,39	122,19	122,54	122,64	1,426	32,107	0,387	8,725	-2,724	1,89E-03
33	121,18	121,18	121,18	121,18	121,39	120,78	120,58	120,58	120,78	120,78	120,48	120,28	120,94	0,996	33,093	0,288	8,993	-2,992	1,02E-03



TABELA 13 Distribuição de calor com a câmara vazia: Ciclo 03

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)														Média (min)	Fr. acum.	Fr. acum.	n	n acum.	Log Nf
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
0	97,49	98,09	98,29	98,19	98,00	103,99	94,33	99,70	96,96	96,88	96,96	97,03	98,13	0,008	0,008	0,001	0,001	0,000	1,00E+06	
1	113,25	113,55	113,76	113,66	114,06	114,17	113,26	113,56	114,07	113,77	113,06	113,63	113,65	0,184	0,189	0,050	0,051	6,950	6,91E+05	
2	122,09	122,09	122,29	122,09	122,19	122,27	122,08	122,08	122,08	122,08	121,99	122,44	122,14	1,300	1,469	0,353	0,404	6,697	3,96E+05	
3	122,99	122,69	123,19	123,19	123,38	123,38	123,08	123,18	123,18	122,77	122,67	123,28	123,07	1,611	3,100	0,438	0,842	6,189	1,44E+05	
4	119,76	119,99	119,76	119,76	119,99	120,14	119,84	119,84	119,84	120,04	119,94	120,46	119,86	0,788	3,885	0,213	1,055	4,648	8,82E+04	
5	119,98	120,18	120,08	120,18	120,36	120,24	119,94	120,04	120,04	120,14	120,04	120,18	120,12	0,617	4,702	0,222	1,277	4,724	6,29E+04	
6	121,18	121,39	121,18	121,39	121,48	121,48	121,16	121,16	121,16	121,36	121,26	121,41	121,29	1,089	6,771	0,291	1,666	4,433	2,71E+04	
7	121,49	121,59	121,49	121,59	121,68	121,68	121,36	121,36	121,36	121,56	121,46	121,72	121,52	1,127	6,898	0,306	1,874	4,127	1,34E+04	
8	121,29	121,49	121,39	121,49	121,59	121,59	121,26	121,26	121,26	121,46	121,36	121,52	121,40	1,068	7,984	0,298	2,172	3,828	6,74E+03	
9	121,68	121,59	121,59	121,59	121,69	121,69	121,36	121,36	121,36	121,56	121,46	121,62	121,56	1,143	8,137	0,311	2,483	3,518	3,30E+03	
10	120,78	120,78	120,78	120,98	120,98	120,98	120,76	120,76	120,76	120,96	120,86	121,02	120,83	0,962	10,069	0,291	2,744	3,267	1,81E+03	
11	122,09	122,09	122,29	122,09	122,19	122,27	122,08	122,08	122,08	122,08	121,99	122,44	122,14	1,300	11,369	0,353	3,097	2,904	6,01E+02	
12	120,98	121,18	121,18	121,08	121,16	121,36	120,85	121,15	120,85	120,85	120,85	121,62	121,06	1,012	12,411	0,276	3,372	2,628	4,28E+02	
13	120,58	120,68	120,58	120,68	120,68	120,75	120,55	120,75	120,24	120,55	120,45	121,00	120,62	0,916	13,327	0,249	3,621	2,380	2,40E+02	
14	121,99	122,19	122,39	121,99	122,19	122,39	121,36	122,47	121,99	122,27	122,17	123,26	122,30	1,349	14,676	0,397	3,986	2,013	1,03E+02	
15	121,89	121,99	122,09	121,99	122,09	122,39	121,36	121,56	121,56	122,17	122,17	123,06	122,17	1,309	15,985	0,356	4,343	1,658	4,55E+01	
16	121,39	121,49	121,39	121,49	121,59	121,59	121,26	121,26	121,26	121,46	121,26	121,72	121,43	1,104	17,089	0,300	4,843	1,368	2,28E+01	
17	120,38	120,28	120,28	120,38	120,38	120,34	120,24	120,24	120,24	120,45	120,45	120,89	120,38	0,861	17,950	0,234	4,877	1,124	1,33E+01	
18	120,78	120,78	120,78	120,98	120,98	120,76	120,76	120,76	120,76	120,66	120,66	121,00	120,83	0,962	18,912	0,291	5,139	0,882	7,28E+00	
19	122,09	122,09	122,29	122,09	122,19	122,27	122,08	122,08	122,08	122,08	121,99	122,44	122,14	1,300	20,212	0,353	5,482	0,609	3,23E+00	
20	120,68	121,18	121,18	121,08	121,16	121,36	120,85	121,15	120,85	120,96	120,86	121,62	121,06	1,012	21,223	0,276	5,767	0,234	1,71E+00	
21	120,58	120,68	120,58	120,68	120,78	120,78	120,56	120,56	120,24	120,56	120,46	121,00	120,62	0,916	22,140	0,249	6,016	-0,016	9,88E-01	
22	121,99	122,19	122,39	121,99	122,19	122,39	121,36	122,47	121,99	122,27	122,17	123,26	122,30	1,349	23,489	0,397	6,362	-0,381	4,16E-01	
23	121,89	121,99	122,09	121,99	122,09	122,39	121,06	122,57	121,66	122,17	122,17	123,06	122,17	1,308	24,798	0,356	6,738	-0,737	1,63E-01	
24	121,39	121,49	121,39	121,49	121,59	121,59	121,26	121,26	121,26	121,46	121,26	121,72	121,43	1,104	26,902	0,300	7,038	-1,037	6,18E-02	
25	120,78	120,78	120,78	120,98	120,98	120,76	120,76	120,76	120,76	120,66	120,66	121,00	120,83	0,962	28,064	0,291	7,300	-1,299	6,03E-02	
26	122,09	122,09	122,29	122,09	122,19	122,27	122,08	122,08	122,08	122,08	121,99	122,44	122,14	1,300	28,164	0,353	7,653	-1,652	2,23E-02	
27	120,68	121,18	121,18	121,08	121,16	121,36	120,85	121,15	120,85	120,96	120,86	121,62	121,06	1,012	29,176	0,276	7,928	-1,927	1,19E-02	
28	120,58	120,68	120,58	120,68	120,78	120,78	120,56	120,56	120,24	120,56	120,46	121,00	120,62	0,916	30,092	0,249	8,177	-2,176	6,67E-03	
29	121,99	122,19	122,39	121,99	122,19	122,39	121,36	122,47	121,99	122,27	122,17	123,26	122,30	1,349	31,440	0,397	8,643	-2,542	2,67E-03	
30	121,89	121,99	122,09	121,99	122,09	122,39	121,06	122,57	121,66	122,17	122,17	123,06	122,17	1,308	32,760	0,356	8,969	-2,898	1,28E-03	
31	121,39	121,49	121,39	121,49	121,59	121,59	121,26	121,26	121,26	121,46	121,26	121,72	121,43	1,104	33,954	0,300	9,199	-3,198	6,34E-04	
32	120,78	120,78	120,78	120,98	120,98	120,76	120,76	120,76	120,76	120,66	120,66	121,00	120,83	0,962	34,816	0,291	9,460	-3,469	3,47E-04	
33	122,09	122,09	122,29	122,09	122,19	122,27	122,08	122,08	122,08	122,08	121,99	122,44	122,14	1,300	36,116	0,353	9,814	-3,813	1,54E-04	
34	120,98	121,18	121,18	121,08	121,16	121,36	120,85	121,15	120,85	120,96	120,86	121,62	121,06	1,012	37,127	0,276	10,069	-4,068	8,17E-05	



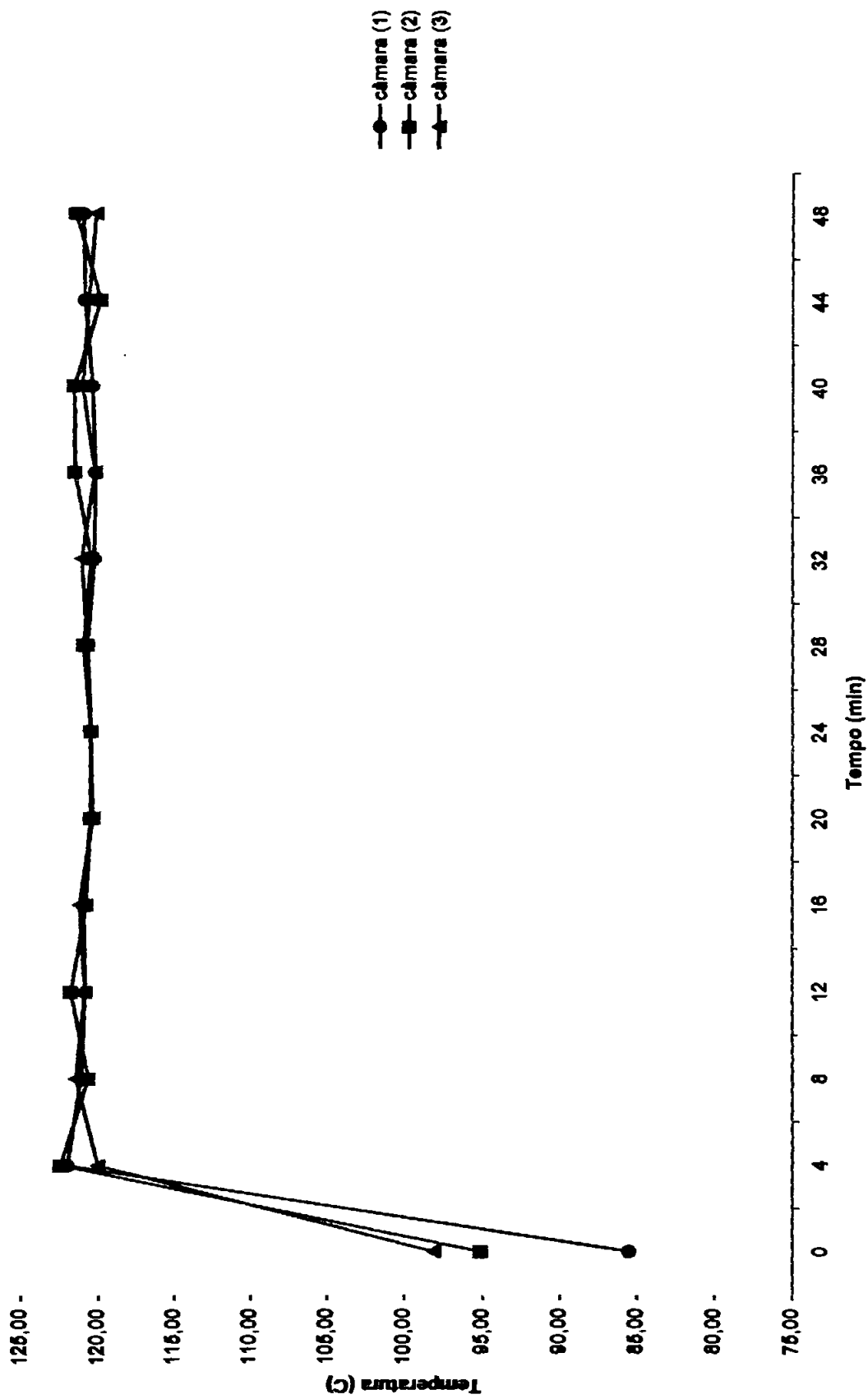


Figura 6 - Perfil de temperatura no decorrer dos ciclos - câmara vazia

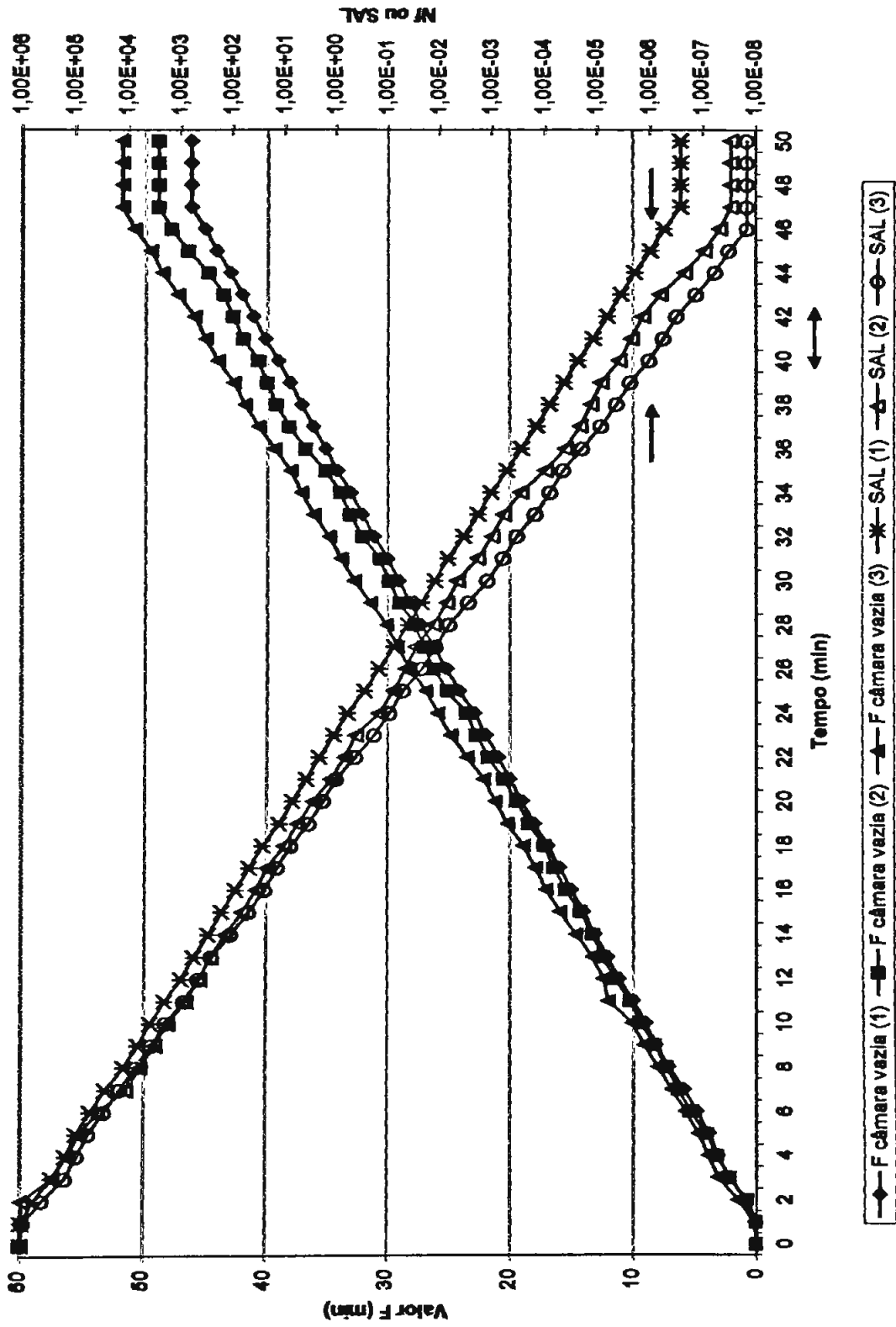


FIGURA 7 - Valor F e SAL - 03 estudos com cámara vazia

#### 5.4.1 Estudo de distribuição de calor na câmara vazia

Com os valores de  $F_{121^{\circ}\text{C}^{10^{\circ}\text{C}}}$  de cada ponto calculados nas tabelas 11, 12, e 13, pode-se avaliar a variação de calor recebido em cada ponto dentro da câmara, como mostra a tabela 14.

Os estudos realizados para a câmara vazia mostraram que em todos os pontos monitorados foi atingida a temperatura desejada e que os ciclos foram repetitivos. Portanto, pode-se afirmar que os equipamentos operaram adequadamente dentro do esperado e especificado e, conseqüentemente, qualificado para a esterilização de produto protéico vegetal a  $T = 121^{\circ}\text{C}$ .

Para o tempo de processo de 48 minutos, o valor  $F_{121^{\circ}\text{C}^{10^{\circ}\text{C}}}$  médio foi de 49 minutos. Com o valor  $D_{121^{\circ}\text{C}} = 3,68 \pm 0,43$  minutos para os esporos de *B. stearothermophilus* e a população inicial ( $1,0 \times 10^6$  esporos/mL) conhecidos, o número de ciclos log reduzidos de esporos de IB foi de 12,57, e o nível de segurança SAL atingido foi de  $10^{-7}$ .

TABELA 14 - Valores de temperatura média (°C) e de F<sub>12</sub> em minutos, para cada ponto dentro da câmara em cada ciclo

Pontos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ciclo 1 Temp(°C) média ±	121,14 ± 0,46	121,18 ± 0,48	120,89 ± 0,46	120,96 ± 0,44	120,93 ± 0,51	121,14 ± 0,51	120,93 ± 0,49	120,98 ± 0,52	121,01 ± 0,45	120,90 ± 0,48	120,93 ± 0,48	120,99 ± 0,47
F (min)	47,70	48,32	45,16	45,96	45,83	47,73	45,39	45,86	46,43	45,40	45,71	46,23
Ciclo 2 Temp(°C) média ±	121,44 ± 0,47	121,45 ± 0,45	121,43 ± 0,44	121,37 ± 0,48	121,37 ± 0,50	121,55 ± 0,53	120,93 ± 0,47	120,91 ± 0,49	121,05 ± 0,46	121,00 ± 0,49	120,81 ± 0,47	121,00 ± 0,47
F (min)	53,05	53,21	51,96	52,20	54,51	47,44	47,52	47,27	48,76	48,27	46,17	48,13
Ciclo 3 Temp(°C) média ±	121,36 ± 0,51	121,46 ± 0,55	121,49 ± 0,53	121,45 ± 0,49	121,50 ± 0,54	121,10 ± 0,58	121,53 ± 0,51	121,22 ± 0,53	121,44 ± 0,48	121,31 ± 0,49	121,93 ± 0,45	121,10 ± 0,44
F (min)	50,55	51,63	52,27	51,56	52,33	57,46	47,79	52,63	49,23	51,48	50,02	57,95

### **5.5. Qualificação da esterilização pelo estudo de penetração de calor na carga máxima de produtos**

Os resultados dos dados registrados nos estudos de penetração de calor na carga máxima de produtos são mostrados nas tabelas 15, 16 e 17, referentes aos ciclos 1, 2 e 3, respectivamente, para: tempo do ciclo, temperaturas nos sensores 01 a 11; temperatura do sensor de referência (TR).

Nas mesmas tabelas estão apresentados os cálculos de:  $T_M$ ;  $F_{Tr}$ ;  $F_{Tr}$  acumulado;  $n$ ;  $n$  acumulado;  $\text{Log } N_f$ ; e  $N_f$ .

As figuras 8 e 9 mostram o perfil de temperaturas no decorrer dos ciclos de penetração de calor, valores de  $F_{121^\circ\text{C}}^{10^\circ\text{C}}$  e população final de esporos ( $N_f$  ou SAL).

TABELA 18 Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas do produto proteico vegetal); Ciclo 01

t (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)											TR (C)	Ftr min	Ftr acum	n	n acum	Log Nr	NF	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11								
0	100,80	90,88	96,80	91,16	91,67	94,38	93,98	94,38	94,88	91,87	92,17	127,23	96,98	0,004	0,004	0,001	0,001	8,000	1,00E+08
1	102,11	92,37	100,50	92,77	93,17	95,98	95,68	96,98	96,98	93,47	93,88	128,42	96,19	0,008	0,008	0,001	0,002	8,999	9,99E+05
2	103,91	94,19	101,71	94,58	94,98	97,48	97,28	97,48	97,98	95,08	95,38	127,13	96,71	0,007	0,017	0,002	0,004	8,997	9,93E+05
3	104,82	95,59	102,71	96,08	96,28	98,90	98,69	98,90	98,90	96,58	96,88	126,82	100,80	0,010	0,028	0,003	0,007	8,984	9,88E+05
4	108,12	98,99	103,92	97,49	97,79	100,80	100,10	100,80	100,40	97,98	98,28	126,32	102,20	0,013	0,040	0,004	0,011	8,980	9,77E+05
5	107,13	98,29	104,82	96,80	98,00	101,81	101,41	101,81	101,81	98,40	98,60	126,72	103,33	0,017	0,057	0,005	0,018	8,988	9,68E+05
6	108,23	99,80	106,92	100,20	100,40	103,01	102,81	103,01	102,81	100,70	101,00	126,82	104,54	0,023	0,078	0,008	0,021	8,980	9,55E+05
7	109,04	100,80	108,83	101,41	101,61	104,22	103,92	104,12	104,02	101,81	102,21	126,11	106,61	0,028	0,108	0,008	0,028	8,972	9,38E+05
8	110,14	102,01	107,93	102,61	102,71	106,32	106,12	106,32	106,22	103,11	103,61	127,43	106,70	0,037	0,148	0,010	0,038	8,982	9,16E+05
9	110,84	103,11	108,83	103,71	103,92	108,33	108,12	108,33	108,12	104,22	104,82	126,72	107,56	0,048	0,190	0,012	0,052	8,949	8,69E+05
10	111,76	104,12	109,54	104,82	104,92	107,43	107,23	107,33	107,23	105,32	105,82	126,21	108,46	0,068	0,248	0,016	0,087	8,934	8,60E+05
11	112,50	105,22	110,44	106,82	106,02	108,33	108,23	108,13	108,23	108,22	108,63	126,82	108,38	0,088	0,314	0,018	0,088	8,916	8,23E+05
12	113,20	106,02	111,14	106,83	106,93	108,24	108,24	108,24	108,04	107,33	107,83	126,72	110,21	0,083	0,388	0,023	0,108	8,883	7,82E+05
13	113,80	107,03	111,85	107,83	107,93	110,24	110,04	110,04	110,04	108,23	108,63	126,32	111,00	0,100	0,498	0,027	0,135	8,866	7,34E+05
14	114,40	107,83	112,85	108,84	108,94	111,04	110,84	110,84	110,84	109,14	109,44	126,42	111,78	0,120	0,618	0,033	0,168	8,833	6,81E+05
15	115,10	108,63	113,45	109,84	109,74	111,98	111,88	111,75	111,95	110,04	110,34	126,62	112,56	0,143	0,761	0,038	0,207	8,784	6,23E+05
16	115,80	109,34	113,98	110,34	110,44	112,66	112,48	112,45	112,36	110,74	110,94	127,02	113,17	0,166	0,928	0,048	0,261	8,760	6,02E+05
17	116,20	110,14	114,68	111,35	111,35	113,36	113,36	113,15	113,15	111,85	111,85	126,82	113,92	0,198	1,121	0,063	0,305	8,698	4,97E+05
18	116,80	110,74	115,28	111,88	111,88	113,98	113,88	113,76	113,65	112,16	112,66	126,32	114,39	0,218	1,340	0,068	0,384	8,637	4,34E+05
19	117,20	111,55	115,88	112,65	112,65	114,68	114,58	114,36	114,36	112,88	113,28	126,82	115,05	0,264	1,594	0,088	0,433	8,568	3,70E+05
20	117,70	112,35	116,47	113,45	113,45	115,38	115,18	115,18	114,98	113,78	113,98	127,02	115,73	0,287	1,881	0,081	0,514	8,487	3,07E+05
21	118,20	112,95	116,97	114,08	114,18	115,88	115,78	115,78	115,58	114,28	114,68	126,82	116,24	0,334	2,228	0,091	0,605	8,398	2,48E+05
22	118,50	113,55	117,37	114,68	114,68	116,37	116,27	116,16	116,16	114,98	115,18	126,32	116,98	0,368	2,593	0,100	0,708	8,298	1,98E+05
23	119,10	114,18	117,97	115,16	115,26	117,07	116,97	116,77	116,77	115,88	116,08	127,33	117,31	0,428	3,021	0,116	0,821	8,180	1,51E+05
24	119,30	114,88	118,47	115,88	115,88	117,47	117,37	117,27	117,17	116,08	116,27	126,82	117,73	0,471	3,492	0,128	0,949	8,082	1,13E+05
25	119,80	115,48	118,88	116,37	116,37	117,97	117,87	117,77	117,67	116,67	116,87	126,62	118,20	0,528	4,017	0,143	1,091	4,910	8,12E+04
26	120,10	115,98	119,28	116,87	116,87	118,47	118,37	118,27	118,17	117,17	117,37	126,82	118,56	0,582	4,599	0,158	1,260	4,761	6,84E+04
27	120,40	116,47	119,68	117,47	117,37	118,88	118,78	118,67	118,47	117,47	117,67	126,52	119,00	0,631	5,230	0,171	1,421	4,580	3,60E+04
28	120,70	116,97	119,98	117,87	117,87	119,38	119,18	119,08	118,88	117,87	118,07	126,42	119,39	0,680	5,920	0,188	1,608	4,362	2,47E+04
29	121,00	117,37	120,28	118,17	118,27	119,88	119,68	119,58	119,28	118,37	118,57	126,21	119,69	0,740	6,660	0,201	1,810	4,191	1,56E+04
30	121,30	117,77	120,58	118,67	118,67	119,88	119,68	119,58	119,28	118,78	118,98	126,82	120,09	0,811	7,471	0,220	2,030	3,971	9,36E+03
31	121,70	118,27	120,88	119,08	119,08	120,68	120,28	120,18	120,08	119,18	119,48	126,72	120,47	0,885	8,368	0,241	2,270	3,731	5,36E+03
32	122,00	118,78	121,28	119,48	119,38	120,88	120,68	120,48	120,38	119,68	119,88	126,92	120,79	0,963	9,308	0,259	2,528	3,472	2,96E+03
33	122,10	119,18	121,59	119,78	119,78	121,08	120,98	120,78	120,78	119,98	120,28	126,92	121,10	1,023	10,332	0,278	2,807	3,184	1,59E+03

TABELA 16 Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas do produto proteico vegetal): Ciclo 01

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)											TR	Tm (°C)	FTr min	FTr acum	n	Log Nf	Nf	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11								
34	121,71	119,69	121,79	120,18	120,18	121,39	121,28	121,18	121,08	120,98	120,88	127,13	121,37	1,088	11,421	0,268	3,103	2,888	7,91E+02
35	121,90	119,89	121,83	120,48	120,48	121,69	121,49	121,49	121,39	120,88	120,88	127,23	121,60	1,148	12,589	0,312	3,418	2,888	3,65E+02
36	122,09	120,33	122,02	120,68	120,78	121,89	121,78	121,69	121,59	120,98	121,19	128,62	121,80	1,202	13,771	0,327	3,742	2,289	1,82E+02
37	122,19	120,73	122,22	121,08	120,98	122,19	121,99	121,99	121,79	121,18	121,49	128,62	122,05	1,274	15,045	0,348	4,088	1,913	8,16E+01
38	122,48	121,14	122,52	121,39	121,39	122,39	122,39	122,29	122,19	121,59	121,79	127,13	122,39	1,377	16,422	0,374	4,462	1,539	3,46E+01
39	122,67	121,44	122,62	121,69	121,69	122,69	122,49	122,49	122,49	121,79	122,09	126,92	122,61	1,449	17,871	0,394	4,856	1,146	1,40E+01
40	122,77	121,65	122,82	121,89	121,89	122,89	122,79	122,69	122,69	121,99	122,29	126,92	122,73	1,498	19,360	0,406	5,261	0,741	5,60E+00
41	122,87	121,85	122,92	122,19	122,09	122,99	122,79	122,79	122,79	122,19	122,49	126,92	122,84	1,528	20,867	0,418	5,678	0,326	2,12E+00
42	123,06	122,26	123,21	122,29	122,29	123,19	123,09	123,09	123,09	122,49	122,89	128,00	122,97	1,574	22,481	0,428	6,104	-0,102	7,90E-01
43	123,06	122,46	123,31	122,59	122,59	123,39	123,19	123,19	123,19	122,59	122,99	124,39	123,07	1,611	24,072	0,438	6,541	-0,640	2,88E-01
44	123,26	122,76	123,61	122,79	122,79	123,59	123,49	123,39	123,39	122,79	123,19	123,99	123,25	1,679	25,751	0,458	6,997	-0,888	1,01E-01
45	123,45	122,87	123,81	122,99	122,99	123,79	123,69	123,59	123,59	122,99	123,39	124,79	123,52	1,692	27,613	0,508	7,503	-1,602	3,15E-02
46	123,45	123,07	123,71	123,19	123,09	123,89	123,89	123,89	123,89	123,29	123,69	124,02	124,02	2,004	29,617	0,545	8,048	-2,047	8,98E-03
47	123,74	123,37	123,61	123,29	123,19	123,99	123,99	123,99	123,99	123,39	123,79	124,02	124,02	2,037	31,655	0,554	8,802	-2,800	2,51E-03
48	123,74	123,48	124,01	123,39	123,39	124,19	124,09	124,09	124,09	123,49	123,89	124,13	124,13	2,068	33,687	0,552	9,154	-3,153	7,04E-04
49	123,84	123,58	124,11	123,59	123,59	124,39	124,29	124,29	124,29	123,69	124,09	124,15	124,15	2,088	35,743	0,559	9,713	-3,711	1,94E-04
50	123,83	123,78	124,11	123,69	123,69	124,39	124,29	124,29	124,29	124,09	124,09	124,32	124,32	2,088	37,808	0,561	10,274	-4,273	5,34E-05
51	124,03	123,88	124,31	123,80	123,80	124,49	124,39	124,39	124,39	124,29	124,29	124,81	124,81	2,084	39,902	0,569	10,843	-4,842	1,44E-05
52	124,03	123,88	124,31	124,00	124,00	124,59	124,49	124,49	124,49	124,39	124,39	124,80	124,80	2,088	42,001	0,570	11,413	-6,412	3,87E-06
53	124,03	124,09	124,40	124,00	124,00	124,59	124,49	124,49	124,49	124,39	124,39	124,80	124,80	2,113	44,115	0,574	11,988	-6,986	1,03E-06
54	124,22	124,29	124,60	124,20	124,20	124,69	124,59	124,59	124,59	124,49	124,49	124,80	124,80	2,163	46,297	0,593	12,561	-6,579	2,63E-07
55	124,32	124,49	124,70	124,30	124,30	124,89	124,79	124,79	124,79	124,69	124,69	124,80	124,80	2,223	48,521	0,604	13,185	-7,164	6,55E-08
56	124,22	124,59	124,80	124,40	124,40	125,09	124,99	124,99	124,99	124,89	124,89	124,80	124,80	2,264	50,775	0,613	13,797	-7,796	1,60E-08
57	124,42	124,70	124,70	124,50	124,50	125,09	124,99	124,99	124,99	124,89	124,89	124,49	124,49	2,344	53,119	0,637	14,434	-8,433	3,09E-09
58	124,42	124,70	124,80	124,60	124,60	125,09	124,99	124,99	124,99	124,89	124,89	124,49	124,49	2,323	55,442	0,631	15,088	-9,084	8,82E-10
59	124,42	124,80	124,90	124,60	124,60	125,09	124,99	124,99	124,99	124,89	124,89	124,80	124,80	2,312	57,754	0,628	15,694	-9,683	2,09E-10
60	124,22	124,80	125,00	124,70	124,70	125,09	124,99	124,99	124,99	124,70	124,70	125,00	125,00	2,568	59,310	0,423	16,117	-10,115	7,67E-11
61	124,22	124,80	124,90	124,70	124,70	125,09	124,99	124,99	124,99	124,80	124,80	125,00	125,00	2,278	60,588	0,347	16,484	-10,482	3,45E-11
62	123,26	124,80	124,70	124,60	124,60	124,70	124,60	124,60	124,60	124,70	124,70	124,80	124,80	1,208	61,794	0,328	16,792	-10,790	1,82E-11
63	123,74	124,80	124,31	124,60	124,30	124,60	124,60	124,60	124,60	124,70	124,70	124,80	124,80	1,102	62,896	0,299	17,091	-11,090	8,13E-12
64	123,55	124,70	123,61	124,50	124,30	124,60	124,40	124,40	124,40	124,50	124,50	124,70	124,70	0,828	63,724	0,225	17,316	-11,316	4,84E-12
65	123,06	124,49	122,72	124,20	123,19	124,00	123,89	123,89	123,89	124,00	124,00	124,40	124,40	0,640	64,363	0,174	17,490	-11,489	3,25E-12
66	122,36	124,09	121,23	123,80	121,69	123,49	122,69	123,19	121,99	124,30	124,30	124,10	124,10	0,493	64,857	0,134	17,624	-11,623	2,39E-12
67	121,80	123,78	119,74	123,19	120,38	122,79	121,39	122,59	119,18	123,80	123,80	123,90	123,90	0,383	65,239	0,104	17,728	-11,727	1,88E-12



TABELA 16 Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas do produto proteico vegetal): Ciclo 02

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)											FTr (min)	FTr acum	n	n acum	Log Nf	Nf		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11							TR	Média
0	99,13	96,85	97,42	93,88	95,08	97,29	97,69	98,59	96,59	93,78	94,19	126,92	98,95	0,006	0,006	0,002	0,002	6,000	1,00E+06
1	100,56	98,37	98,91	95,68	96,69	99,00	99,30	100,10	98,09	95,38	95,79	126,62	100,38	0,009	0,015	0,002	0,004	5,998	9,95E+05
2	102,03	99,70	100,20	96,89	97,99	100,00	100,40	101,41	99,50	96,69	97,10	127,02	101,58	0,011	0,026	0,003	0,007	5,995	9,88E+05
3	103,20	101,02	101,59	98,19	99,20	101,41	101,81	102,51	100,80	97,99	98,40	127,13	102,77	0,015	0,041	0,004	0,012	5,990	9,78E+05
4	104,26	102,24	102,78	99,60	100,60	102,61	103,01	103,81	102,01	99,20	99,61	126,62	103,85	0,019	0,060	0,005	0,017	5,985	9,67E+05
5	105,23	103,46	103,87	100,90	101,81	103,82	104,12	104,82	103,21	100,40	100,81	126,32	104,90	0,025	0,085	0,007	0,023	5,979	9,52E+05
6	106,20	104,47	105,06	102,21	103,01	105,02	105,42	106,12	104,42	101,71	102,12	126,32	106,01	0,032	0,117	0,009	0,032	5,970	9,33E+05
7	107,07	105,69	105,95	103,21	104,02	106,02	106,33	106,93	105,42	102,81	103,22	126,32	106,92	0,039	0,156	0,011	0,043	5,959	9,11E+05
8	108,04	106,71	107,04	104,32	105,02	106,83	107,33	107,83	106,53	103,71	104,13	127,63	107,93	0,049	0,205	0,013	0,056	5,946	8,83E+05
9	108,91	107,72	108,04	105,32	106,12	107,93	108,33	108,84	107,53	104,82	105,23	126,92	108,81	0,060	0,265	0,016	0,073	5,929	8,50E+05
10	109,86	108,84	109,03	106,43	107,13	108,94	109,34	109,74	108,53	105,82	106,24	126,62	109,69	0,074	0,339	0,020	0,083	5,909	8,12E+05
11	110,56	109,55	109,92	107,33	108,03	109,74	110,14	110,54	109,54	106,73	107,14	127,02	110,52	0,090	0,429	0,024	0,117	5,885	7,67E+05
12	111,53	110,57	110,91	108,33	108,94	110,74	111,14	111,45	110,64	107,73	108,14	127,13	111,44	0,111	0,540	0,030	0,147	5,855	7,16E+05
13	112,21	111,38	111,51	109,14	109,74	111,45	111,75	112,05	111,14	108,43	108,85	126,52	112,01	0,128	0,666	0,034	0,181	5,821	6,62E+05
14	112,89	112,09	112,20	109,94	110,54	112,15	112,55	112,85	111,95	109,34	109,75	126,52	112,73	0,149	0,815	0,040	0,222	5,780	6,03E+05
15	113,47	112,91	113,00	110,74	111,24	112,85	113,25	113,55	112,75	110,14	110,55	126,72	113,43	0,175	0,990	0,048	0,269	5,733	5,40E+05
16	114,05	113,62	113,69	111,55	112,05	113,65	114,05	114,35	113,35	110,84	111,26	126,72	114,07	0,203	1,192	0,055	0,324	5,678	4,78E+05
17	114,63	114,23	114,29	112,25	112,75	114,26	114,66	114,96	114,06	111,55	111,96	126,72	114,68	0,233	1,426	0,063	0,388	5,614	4,11E+05
18	115,31	115,04	114,98	112,95	113,45	114,96	115,26	115,46	114,86	112,35	112,76	126,62	115,32	0,270	1,696	0,073	0,461	5,541	3,47E+05
19	115,89	115,75	115,56	113,76	114,16	115,56	115,86	115,96	115,36	112,95	113,36	126,72	115,91	0,310	2,006	0,084	0,545	5,457	2,86E+05
20	116,57	116,36	116,17	114,36	114,76	116,16	116,47	116,57	115,96	113,55	113,97	126,42	116,44	0,350	2,356	0,095	0,641	5,361	2,30E+05
21	116,86	116,77	116,67	114,86	115,26	116,67	116,97	117,07	116,47	114,26	114,67	126,52	116,92	0,391	2,747	0,106	0,747	5,255	1,80E+05
22	117,44	117,28	117,26	115,56	115,86	117,27	117,47	117,67	117,07	114,76	115,17	126,52	117,44	0,441	3,187	0,120	0,866	5,136	1,37E+05
23	117,93	117,78	117,76	116,06	116,37	117,67	117,97	118,07	117,57	115,36	115,77	126,82	117,93	0,493	3,680	0,134	1,000	5,002	1,00E+05
24	118,31	118,29	118,15	116,57	116,87	118,17	118,47	118,57	118,07	115,86	116,28	126,92	118,38	0,547	4,227	0,149	1,149	4,853	7,13E+04
25	118,60	118,70	118,45	116,97	117,37	118,57	118,88	118,88	118,47	116,37	116,78	126,92	118,75	0,598	4,823	0,162	1,311	4,691	4,91E+04
26	118,99	119,21	118,95	117,47	117,87	118,98	119,28	119,38	118,78	116,77	117,18	126,72	119,13	0,650	5,473	0,177	1,488	4,514	3,27E+04
27	119,38	119,61	119,25	117,97	118,27	119,38	119,68	119,68	119,28	117,27	117,68	126,72	119,51	0,710	6,183	0,193	1,680	4,322	2,10E+04
28	119,77	120,02	119,64	118,37	118,67	119,78	120,08	120,08	119,68	117,77	118,18	127,02	119,92	0,780	6,963	0,212	1,882	4,110	1,29E+04
29	119,96	120,33	120,04	118,78	119,08	120,08	120,38	120,38	120,08	118,07	118,48	126,42	120,17	0,826	7,789	0,224	2,117	3,885	7,68E+03
30	120,35	120,73	120,54	119,18	119,38	120,46	120,78	120,78	120,48	118,57	118,98	127,33	120,63	0,916	8,707	0,250	2,366	3,636	4,32E+03
31	120,64	121,04	120,63	119,68	119,78	120,78	121,08	121,08	120,78	118,98	119,39	126,42	120,86	0,968	9,675	0,263	2,630	3,372	2,36E+03
32	121,03	121,34	121,13	119,98	120,18	121,18	121,39	121,39	121,08	119,38	119,79	126,92	121,23	1,054	10,730	0,287	2,916	3,086	1,22E+03
33	121,32	121,65	121,33	120,28	120,48	121,49	121,69	121,69	121,49	119,68	120,09	127,43	121,55	1,135	11,865	0,308	3,224	2,778	5,99E+02

TABELA 16 Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas do produto proteico vegetal): Ciclo 02

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)																	TR	Média (min)	FTr (min)	FTr acum	n	n acum	Log Nf	Nf
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11														
34	121,41	121,85	121,53	120,58	120,78	121,69	121,89	121,89	121,69	119,88	120,29	126,72	121,68	1,169	13,034	0,318	3,542	2,460	2,88E+02						
35	121,61	122,05	121,83	120,78	120,98	121,89	122,19	122,09	121,89	120,18	120,59	127,33	121,95	1,245	14,279	0,338	3,880	2,122	1,32E+02						
36	121,90	122,46	122,02	121,18	121,49	122,29	122,49	122,39	122,09	120,68	121,09	126,72	122,23	1,327	15,606	0,361	4,241	1,761	5,77E+01						
37	122,09	122,66	122,32	121,49	121,69	122,59	122,69	122,59	122,39	120,88	121,30	126,42	122,43	1,390	16,996	0,378	4,619	1,383	2,42E+01						
38	122,29	122,97	122,52	121,69	121,89	122,79	122,89	122,79	122,59	121,18	121,60	126,01	122,62	1,452	18,448	0,395	5,013	0,989	9,74E+00						
39	122,48	123,07	122,72	121,89	122,19	122,89	123,09	123,09	122,89	121,39	121,80	125,81	122,78	1,507	19,955	0,409	5,423	0,579	3,79E+00						
40	122,67	123,27	122,92	122,19	122,39	123,19	123,29	123,19	122,99	121,69	122,10	125,51	122,96	1,570	21,525	0,427	5,850	0,152	1,42E+00						
41	122,77	123,48	123,02	122,49	122,59	123,29	123,49	123,39	123,19	121,99	122,40	125,30	123,12	1,629	23,154	0,443	6,292	-0,290	5,12E-01						
42	122,87	123,58	123,12	122,59	122,79	123,39	123,49	123,29	123,09	122,09	122,50	125,10	123,19	1,656	24,810	0,450	6,742	-0,740	1,82E-01						
43	122,97	123,78	123,31	122,89	122,99	123,49	123,80	123,69	123,49	122,39	122,80	124,90	123,38	1,730	26,540	0,470	7,212	-1,210	6,16E-02						
44	123,16	123,88	123,41	122,99	123,19	123,69	123,90	123,90	123,59	122,49	122,90	124,80	123,49	1,774	28,314	0,482	7,694	-1,692	2,03E-02						
45	123,26	123,98	123,61	123,19	123,29	123,90	124,00	123,90	123,69	122,79	123,20	124,70	123,63	1,832	30,147	0,498	8,192	-2,190	6,45E-03						
46	123,45	124,19	123,71	123,29	123,39	123,90	124,10	124,10	123,90	122,99	123,40	124,49	123,74	1,879	32,026	0,511	8,703	-2,701	1,99E-03						
47	123,55	124,19	123,81	123,39	123,59	124,10	124,20	124,10	123,90	123,09	123,50	124,39	123,82	1,914	33,940	0,520	9,223	-3,221	6,01E-04						
48	123,55	124,29	123,81	123,49	123,59	124,20	124,20	124,00	123,09	123,09	123,50	124,09	123,83	1,919	35,859	0,521	9,745	-3,743	1,81E-04						
49	123,64	124,49	124,01	123,59	123,80	124,30	124,30	124,30	124,00	123,19	123,61	124,09	123,96	1,977	37,836	0,537	10,282	-4,280	5,25E-05						
50	123,64	124,49	124,01	123,69	123,80	124,30	124,40	124,30	124,30	123,29	123,71	123,99	123,99	1,991	39,826	0,541	10,823	-4,821	1,51E-05						
51	123,74	124,49	124,11	123,80	124,00	124,40	124,50	124,40	124,30	123,49	123,91	123,89	124,08	2,032	41,859	0,552	11,375	-5,373	4,24E-06						
52	123,55	124,49	124,01	123,90	123,90	124,40	124,40	124,30	124,30	123,49	123,91	123,68	124,03	2,008	43,868	0,546	11,921	-5,919	1,21E-06						
53	123,74	124,49	124,11	123,90	124,00	124,40	124,40	124,30	124,30	123,59	124,01	123,68	124,09	2,037	45,905	0,554	12,475	-6,473	3,37E-07						
54	123,64	124,59	124,01	124,00	124,10	124,60	124,60	124,40	124,40	123,69	124,11	123,58	124,18	2,080	47,985	0,565	13,040	-7,038	9,17E-08						
55	123,64	124,59	124,01	124,00	124,10	124,50	124,50	124,40	124,30	123,59	124,01	124,39	124,17	2,075	50,060	0,564	13,604	-7,602	2,50E-08						
56	123,64	124,59	124,01	124,00	124,10	124,50	124,50	124,40	124,30	123,69	124,11	124,09	124,16	2,070	52,130	0,563	14,166	-8,164	6,85E-09						
57	123,64	124,49	124,01	124,00	124,00	124,30	124,40	124,30	124,20	123,49	123,91	113,77	123,21	1,663	53,793	0,452	14,618	-8,616	2,42E-09						
58	123,64	124,49	124,01	124,00	124,00	124,30	124,40	124,30	124,30	123,49	123,91	100,30	122,11	1,291	55,084	0,351	14,969	-8,967	1,08E-09						
59	123,55	124,49	123,91	123,90	123,90	124,10	123,90	124,40	123,09	123,49	123,91	91,50	121,15	1,035	56,119	0,281	15,250	-9,248	5,65E-10						
60	123,55	124,39	123,91	123,90	123,90	124,10	123,90	124,50	122,49	123,59	124,01	96,96	121,60	1,148	57,268	0,312	15,562	-9,560	2,75E-10						
61	123,35	123,98	121,63	123,69	123,69	123,59	113,76	124,20	123,19	123,49	123,91	89,47	119,83	0,764	58,031	0,208	15,770	-9,768	1,71E-10						
62	123,06	123,58	123,12	123,59	123,59	123,59	123,29	123,90	123,09	123,39	123,81	83,40	119,56	0,718	58,749	0,195	15,965	-9,963	1,09E-10						
63	122,97	122,76	122,82	123,49	123,29	122,69	120,78	123,39	122,29	123,19	123,61	80,36	119,30	0,676	59,425	0,184	16,149	-10,147	7,14E-11						
64	121,22	121,85	122,22	123,19	122,89	120,96	121,18	122,89	120,48	122,99	123,40	76,32	119,20	0,537	59,962	0,146	16,294	-10,292	5,10E-11						
65	120,83	120,53	120,93	122,59	122,09	119,68	120,38	121,89	118,47	122,29	122,70	73,99	117,20	0,417	60,379	0,113	16,408	-10,406	3,93E-11						
66	120,74	119,31	119,84	121,99	115,26	119,88	121,08	116,47	121,79	122,20	71,96	115,98	115,98	0,315	60,694	0,086	16,493	-10,491	3,23E-11						
67	118,02	117,89	117,86	121,08	120,28	109,74	118,88	120,08	110,84	120,88	121,30	69,53	113,87	0,194	60,888	0,053	16,546	-10,544	2,86E-11						



TABELA 17 - Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas de produto protéico vegetal); Ciclo:03

T (min)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	TR Média (min)	FTr FTr acum	n n acum	Log Nf	Nf	
0	96,40	98,69	96,99	94,68	96,18	98,80	98,19	101,10	96,15	90,26	94,33	127,61	99,28	0,007	0,007	0,002	6,000
1	100,60	100,00	98,29	95,98	97,59	99,90	99,40	102,21	97,31	91,67	95,67	126,61	100,42	0,009	0,016	0,002	5,998
2	101,71	101,20	99,60	97,29	98,69	101,10	100,70	103,11	98,46	93,07	97,02	126,41	101,55	0,011	0,027	0,003	5,995
3	102,91	102,61	100,90	98,59	100,10	102,31	102,01	104,32	98,81	94,78	98,27	126,61	102,78	0,015	0,042	0,004	5,990
4	103,92	103,51	102,01	99,80	101,20	103,31	103,11	105,32	100,87	95,98	99,52	126,81	103,78	0,019	0,061	0,005	5,985
5	105,12	104,72	103,21	100,90	102,41	104,42	104,22	106,43	102,02	97,19	100,77	126,81	104,85	0,024	0,085	0,007	5,979
6	106,02	105,82	104,22	102,21	103,61	105,42	105,32	107,43	103,08	98,59	101,92	126,81	105,86	0,031	0,116	0,008	5,970
7	107,13	106,83	105,42	103,31	104,72	106,63	106,43	108,43	104,23	99,80	103,08	126,71	106,90	0,039	0,155	0,011	5,960
8	108,03	107,83	106,63	104,42	105,72	107,53	107,43	109,34	105,19	101,00	104,13	126,81	107,83	0,048	0,203	0,013	5,947
9	108,94	108,73	107,53	105,52	106,73	108,43	108,33	110,24	106,25	102,01	105,10	126,71	108,68	0,059	0,262	0,016	5,931
10	109,64	109,54	108,33	106,33	107,53	109,14	109,14	110,94	107,02	103,01	105,96	126,41	109,42	0,070	0,331	0,019	5,912
11	110,54	110,44	109,34	107,23	108,53	110,14	110,14	111,85	107,88	104,12	106,92	126,51	110,29	0,085	0,416	0,023	5,889
12	111,24	111,24	110,14	108,13	109,34	110,94	110,94	112,55	108,75	105,12	107,88	126,41	111,07	0,102	0,518	0,028	5,861
13	111,95	112,05	110,94	109,04	110,24	111,65	111,65	113,25	109,52	106,02	108,65	126,51	111,78	0,120	0,637	0,033	5,829
14	112,65	112,75	111,65	109,84	110,94	112,45	112,45	113,96	110,29	106,93	109,52	126,41	112,50	0,141	0,779	0,038	5,790
15	113,35	113,45	112,55	110,64	111,75	113,15	113,15	114,56	111,06	107,83	110,29	126,61	113,19	0,166	0,944	0,045	5,745
16	113,96	114,16	113,15	111,35	112,45	113,76	113,76	115,16	111,63	108,63	111,06	126,51	113,79	0,190	1,134	0,052	5,694
17	114,66	114,76	113,86	112,05	113,15	114,46	114,46	115,78	112,31	109,44	111,73	126,41	114,43	0,220	1,355	0,060	5,634
18	115,18	115,36	114,46	112,75	113,76	114,96	114,96	116,37	112,98	110,24	112,40	126,51	115,01	0,252	1,606	0,068	5,565
19	115,86	116,06	115,06	113,45	114,46	115,66	115,66	116,97	113,65	110,94	113,08	126,51	115,62	0,280	1,896	0,079	5,487
20	116,37	116,57	115,76	114,16	115,06	116,16	116,27	117,47	114,33	111,75	113,75	126,51	116,18	0,330	2,226	0,090	5,397
21	116,87	117,07	116,16	114,66	115,56	116,67	116,77	117,97	114,81	112,35	114,23	126,51	116,64	0,366	2,592	0,100	5,297
22	117,27	117,47	116,67	115,16	116,06	117,07	117,27	118,27	115,19	112,85	114,81	126,51	117,03	0,401	2,993	0,109	5,189
23	117,77	117,97	117,17	115,76	116,67	117,57	117,77	118,78	115,77	113,65	115,29	126,31	117,55	0,452	3,445	0,123	5,066
24	118,17	118,47	117,67	116,27	117,07	118,07	118,17	119,18	116,25	114,26	115,77	126,41	117,98	0,500	3,945	0,136	4,930
25	118,67	118,88	118,07	116,87	117,67	118,57	118,67	119,58	116,73	114,76	116,35	126,51	118,45	0,556	4,501	0,151	4,779
26	118,98	119,28	118,47	117,27	118,07	118,88	118,98	119,98	117,12	115,26	116,73	126,61	118,79	0,601	5,102	0,163	4,615
27	119,38	119,68	118,98	117,67	118,47	119,28	119,48	120,28	117,50	115,86	117,21	126,51	119,20	0,661	5,763	0,180	4,436
28	119,68	119,98	119,28	118,17	118,78	119,68	119,78	120,78	117,98	116,37	117,60	126,61	119,55	0,716	6,479	0,195	4,241
29	120,08	120,38	119,68	118,47	119,18	120,08	120,18	120,98	118,27	116,77	117,98	126,51	119,88	0,773	7,252	0,210	4,031
30	120,38	120,68	119,98	118,88	119,58	120,38	120,38	121,29	118,65	117,27	118,46	126,51	120,19	0,830	8,081	0,226	3,806
31	120,68	120,98	120,38	119,28	119,88	120,68	120,78	121,49	119,04	117,67	118,75	126,31	120,50	0,891	8,973	0,242	3,564
32	120,98	121,29	120,68	119,58	120,28	120,98	121,08	121,79	119,33	118,07	119,13	126,41	120,81	0,957	9,930	0,260	3,304
33	121,29	121,49	120,88	119,88	120,58	121,29	121,29	122,09	119,62	118,47	119,42	126,51	121,08	1,014	10,944	0,276	3,028
34	121,59	121,79	121,18	120,28	120,88	121,59	121,59	122,29	119,90	118,88	119,71	126,41	121,34	1,081	12,025	0,294	2,734
35	121,79	122,09	121,59	120,58	121,18	121,79	121,79	122,49	121,08	119,18	120,88	126,41	121,70	1,175	13,200	0,319	2,415

TABELA 17 - Estudo de penetração de calor na carga máxima (950 latas de produto proféico vegetal); Ciclo:03

T (min)	Temperatura dos Sensores nos Pontos (°C)										TR	Média (min)	FTR	FTR acum	n	n acum	Log	NF	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									11
36	121,99	122,29	121,69	120,86	121,39	122,09	122,09	122,69	121,29	119,48	121,16	126,00	121,89	1,227	14,428	0,334	3,921	2,081	1,21E+02
37	122,19	122,49	121,99	121,18	121,69	122,19	122,89	121,59	119,86	121,99	121,39	125,60	122,10	1,288	15,716	0,350	4,271	1,731	5,39E+01
38	122,49	122,69	122,19	121,65	121,89	122,49	122,59	123,09	121,89	120,08	121,69	125,40	122,32	1,355	17,071	0,368	4,639	1,363	2,31E+01
39	122,69	122,89	122,49	121,95	122,19	122,89	122,79	123,29	121,99	120,99	121,99	125,10	122,60	1,445	18,516	0,383	5,032	0,970	9,34E+00
40	122,89	123,09	122,69	122,15	122,29	122,99	123,39	122,29	121,30	121,30	122,19	124,90	122,75	1,496	20,013	0,407	5,436	0,564	3,66E+00
41	123,09	123,19	122,89	122,36	122,59	123,09	123,59	122,59	121,60	121,60	122,49	124,70	122,93	1,560	21,572	0,424	5,862	0,140	1,38E+00
42	123,09	123,39	122,99	122,56	122,69	123,19	123,69	122,69	121,71	122,59	122,59	124,60	123,02	1,592	23,164	0,433	6,295	-0,293	5,10E-01
43	123,29	123,49	123,19	122,76	122,99	123,39	123,89	122,89	122,02	122,79	122,79	124,50	123,19	1,656	24,820	0,450	6,745	-0,743	1,81E-01
44	123,39	123,59	123,19	122,87	123,09	123,49	123,99	122,99	122,12	122,99	122,99	124,30	123,28	1,690	26,511	0,459	7,204	-1,202	6,28E-02
45	123,49	123,69	123,29	123,17	123,09	123,59	124,09	123,09	122,43	123,09	123,09	124,20	123,38	1,730	28,240	0,470	7,674	-1,672	2,13E-02
46	123,59	123,69	123,39	123,27	123,19	123,69	124,09	124,09	122,53	123,19	123,19	124,00	123,45	1,758	29,988	0,478	8,152	-2,150	7,08E-03
47	123,59	123,80	123,49	123,27	123,39	123,80	123,69	124,10	123,29	122,74	123,29	123,90	123,51	1,782	31,781	0,484	8,636	-2,634	2,32E-03
48	123,80	123,80	123,59	123,48	123,49	123,90	123,90	124,20	123,39	122,94	123,39	123,69	123,63	1,832	33,613	0,498	9,134	-3,132	7,38E-04
49	123,69	123,80	123,69	123,48	123,49	123,90	123,90	124,20	123,49	123,05	123,49	123,69	123,64	1,837	35,450	0,499	9,633	-3,631	2,34E-04
50	123,80	123,80	123,69	123,48	123,49	123,90	124,00	124,20	123,49	123,15	123,59	123,49	123,66	1,845	37,295	0,501	10,135	-4,133	7,37E-05
51	123,80	123,80	123,69	123,48	123,49	123,90	124,00	124,20	123,49	123,15	123,59	123,39	123,66	1,845	39,140	0,501	10,636	-4,634	2,32E-05
52	123,80	124,00	123,69	123,48	123,49	123,90	124,00	124,20	123,49	123,15	123,59	123,39	123,66	1,845	40,985	0,501	11,137	-5,135	7,32E-06
53	123,90	124,00	123,80	123,68	123,69	124,10	124,10	124,20	123,69	123,46	123,80	123,39	123,87	1,936	42,921	0,526	11,663	-5,661	2,18E-06
54	123,42	124,06	123,69	123,27	123,47	123,97	123,97	123,97	122,97	122,97	123,38	124,00	123,69	1,858	44,779	0,505	12,168	-6,166	6,82E-07
55	123,42	124,16	123,69	123,27	123,47	124,07	124,07	124,07	123,87	122,97	123,38	124,27	123,71	1,866	46,645	0,507	12,675	-6,673	2,12E-07
56	123,52	124,37	123,88	123,47	123,67	124,17	124,17	124,17	124,07	123,07	123,48	123,96	123,83	1,919	48,564	0,521	13,197	-7,195	6,39E-08
57	123,52	124,37	123,88	123,57	123,67	124,17	124,17	124,17	124,17	123,17	123,58	123,96	123,87	1,936	50,500	0,526	13,723	-7,721	1,90E-08
58	123,62	124,37	123,96	123,67	123,67	124,27	124,27	124,27	124,17	123,37	123,78	123,86	123,96	1,977	52,477	0,537	14,260	-8,258	5,52E-09
59	123,42	124,37	123,88	123,77	123,77	124,27	124,27	124,27	124,17	123,37	123,78	123,76	123,90	1,950	54,427	0,530	14,790	-8,786	1,63E-09
60	123,62	124,37	123,96	123,77	123,87	124,27	124,27	124,27	124,17	123,47	123,88	123,96	123,97	1,992	56,409	0,538	15,329	-9,327	4,71E-10
61	123,62	124,57	123,96	123,87	123,87	124,47	124,47	124,47	124,27	123,57	123,96	123,96	124,06	2,023	58,432	0,550	15,878	-9,876	1,33E-10
62	123,52	124,47	123,88	123,87	123,87	124,37	124,37	124,27	124,17	123,47	123,86	123,46	124,04	2,014	60,445	0,547	16,425	-10,423	3,77E-11
63	123,52	124,47	123,88	123,87	123,87	124,37	124,37	124,27	124,17	123,57	123,96	124,27	124,04	2,014	62,459	0,547	16,973	-10,971	1,07E-11
64	123,52	124,37	123,88	123,87	123,87	124,17	124,17	124,17	124,07	123,37	123,76	123,96	123,06	1,614	64,074	0,439	17,411	-11,409	3,90E-12
65	123,52	124,37	123,88	123,87	123,87	124,17	124,17	124,17	124,17	123,37	123,78	113,64	121,99	1,256	65,330	0,341	17,753	-11,751	1,78E-12
66	123,42	124,37	123,78	123,77	123,77	123,67	123,77	124,27	122,97	123,37	123,78	100,16	121,03	1,007	66,336	0,274	18,026	-12,024	9,46E-13
67	123,42	124,27	123,78	123,77	123,77	123,97	123,77	124,37	122,37	123,47	123,88	91,37	121,47	1,114	67,451	0,303	18,329	-12,327	4,71E-13
68	123,23	123,96	121,50	123,57	123,57	123,47	113,63	124,07	123,07	123,37	123,78	96,64	119,71	0,743	68,194	0,202	18,531	-12,529	2,96E-13
69	122,94	123,45	122,99	123,47	123,47	123,17	118,74	123,77	122,97	123,27	123,68	89,35	119,43	0,687	68,890	0,189	18,720	-12,718	1,91E-13
70	122,64	122,64	122,69	123,37	123,17	122,57	120,66	123,27	122,18	123,07	123,48	83,26	119,18	0,658	69,548	0,179	18,859	-12,897	1,27E-13
71	121,10	121,73	122,10	123,07	122,77	120,86	122,77	120,36	122,87	123,28	80,24	118,18	0,522	70,070	0,142	19,041	-13,039	9,14E-14	



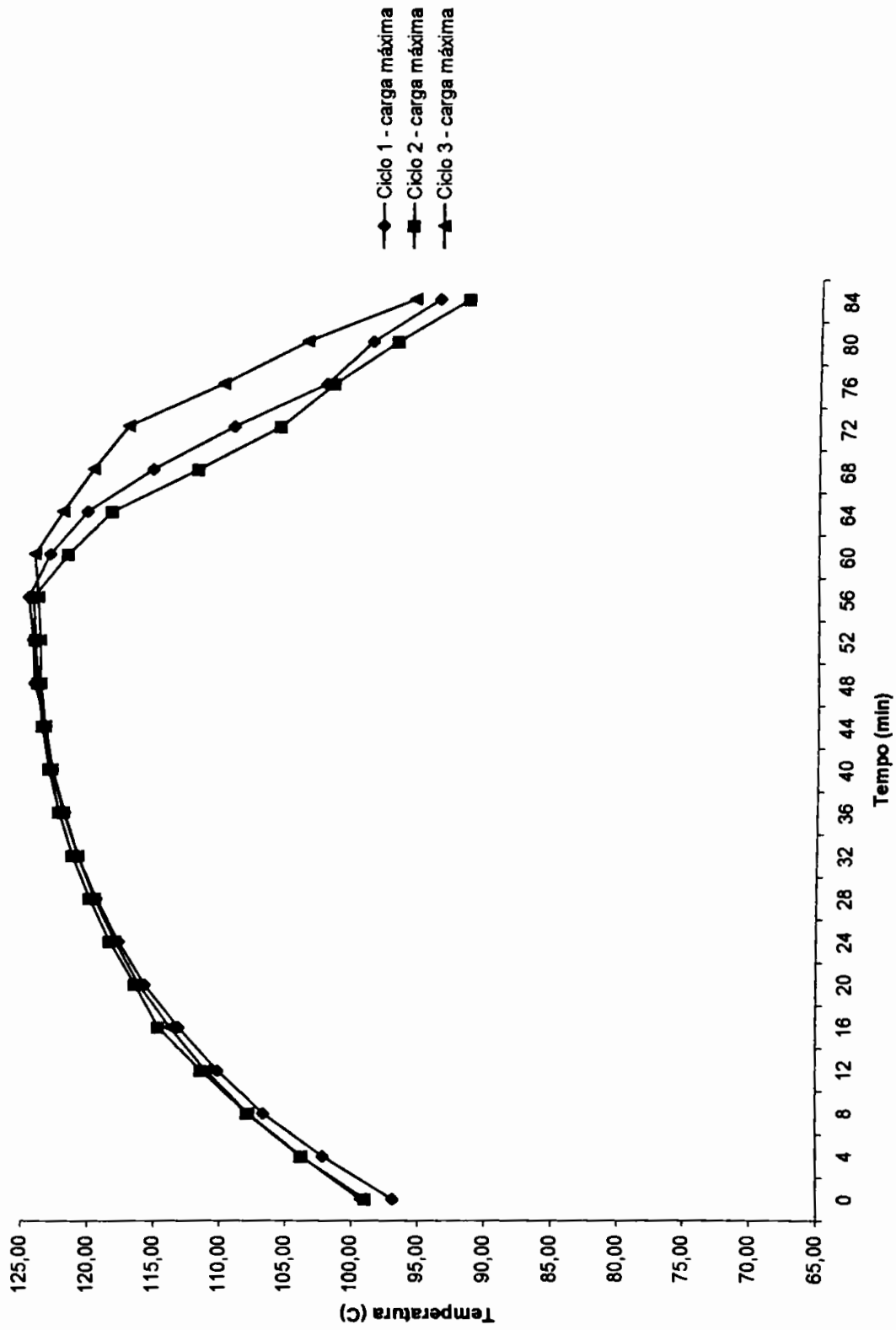
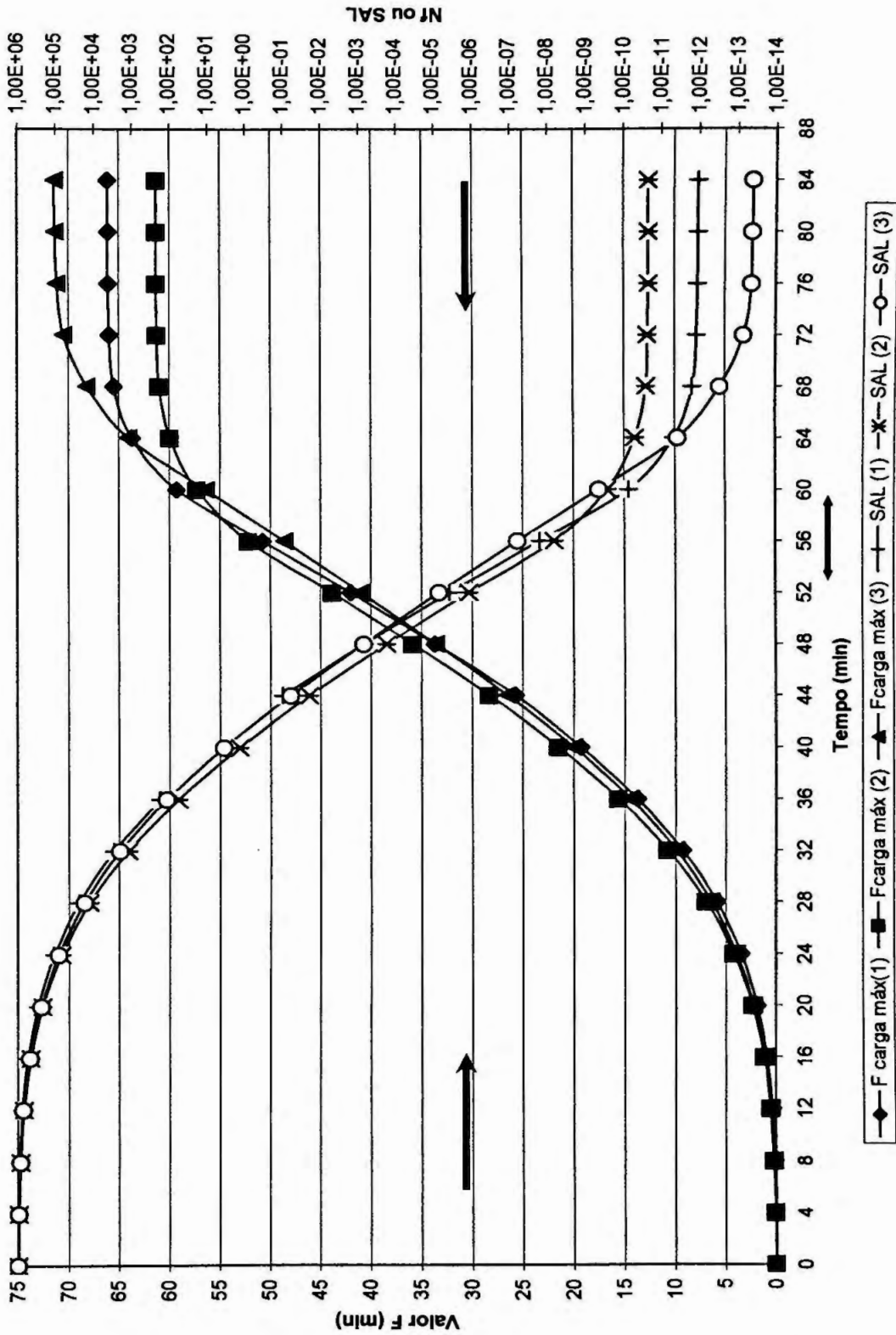


FIGURA 8 - Perfil de temperaturas no decorrer dos ciclos com carga máxima



Tempo = 53 min.  
 Fcarga = 44 min.  
 Log Nf = - 6

FIGURA 9 - Valor F e S.A.L. - 03 estudos de penetração de calor (latas de 850 g)

### 5.5.1. Estudo da distribuição de calor na carga máxima de produtos

Conforme realizado com a câmara vazia, para a avaliação da variação de calor recebido em cada ponto, recorreu-se aos valores de  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  de cada ponto, como mostrado na tabela 18.

O menor valor obtido de  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  foi 64,86 minutos (ponto 5). Com este valor de  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$ , se fosse simulada a redução logarítmica de esporos de Indicador Biológico (valor de  $D_{121^{\circ}\text{C}} = 3,68 \pm 0,43$  minutos), teria-se: número de reduções logarítmicas ( $n$ ) =  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}} / D_{121^{\circ}\text{C}}$ ,  $n = 64,86 / 3,68 \dots n = 17,6$  reduções logarítmicas.

Portanto, mesmo nestas condições, teria-se SAL mínimo de  $10^{-12}$  para os esporos de Indicador Biológico com população de  $1,00 \times 10^6$  UFC/fita e valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  de  $3,68 \pm 0,43$  minutos. Este nível de segurança de esterilidade é maior que o sugerido pela Farmacopéia Americana para produção de medicamentos ( $10^{-6}$  UFC).

Conforme indicado na figura 9, no tempo de 53 minutos o valor  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  foi de 44,00 minutos e  $n = 12$  (reduções logarítmicas). Nestas condições, já se teria SAL mínimo de  $10^{-6}$  para os esporos de Indicador Biológico com população de  $1,00 \times 10^6$  UFC/fita e valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  de  $3,68 \pm 0,43$  minutos. Portanto, o processo apresentou uma segurança além do necessário, para esterilização do produto protéico vegetal, mesmo para a condição mais crítica.

As figuras 8 e 9 foram plotadas com os pares tempo e temperatura considerados, para cálculo do valor de  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  (temperatura que contribui na taxa de letalidade do processo). Sendo assim, o ciclo considerado foi: aquecimento (35 min), patamar de estabilização (24 min) e resfriamento (24 min), sendo que o ponto de ajuste do processo foi de  $121^{\circ}\text{C}/20\text{min}$ .

Sendo que a carga de produtos não sofreu um pré-condicionamento antes da entrada no autoclave, foi constatada uma temperatura interna média do produto de  $T = 35^{\circ}\text{C}$  no início da fase de aquecimento, portanto o tempo real de aquecimento foi de 70 minutos, e o patamar de 24 min. Na fase de resfriamento, as latas foram resfriadas através de um chuveiro de água (figura 2). Neste processo, o resfriamento é muito lento, demandando um tempo real de 70 minutos para que a temperatura interna das latas pudesse atingir  $T = 35^{\circ}\text{C}$ .

Foi constatado que, para se atingir o valor  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}} = 44$  minutos, o que equivaleria a 53 minutos de processo total, poderia-se reduzir os tempos de aquecimento e resfriamento, já que o tempo de patamar esteve dentro do especificado para o ciclo. Os carrinhos com as latas podem sofrer um pré-condicionamento antes do início do ciclo de esterilização, de maneira que a temperatura média inicial do ciclo seja de  $T=60^{\circ}\text{C}$ , e poderia reduzir 20 minutos na fase de aquecimento. Na fase de resfriamento poderia ser usado o sistema de resfriamento por imersão (o autoclave é totalmente cheio com água, sendo esta água substituída, algumas vezes, durante o tempo de resfriamento). Este processo deve ser testado, como proposta para redução do tempo de resfriamento.

Na figura 9 constata-se que após 12 minutos de aquecimento ( $T = 110^{\circ}\text{C}$ ) teve início a redução de esporos no Indicador Biológico com população de  $1,00 \times 10^6$  UFC/fita e valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  de  $3,68 \pm 0,43$  minutos, sendo que no final do patamar, após 63 minutos de ciclo, o valor  $n$  médio atingiu 16. A etapa de resfriamento não interferiu no valor de  $n$ .

O produto final autoclavado foi analisado nos laboratórios de físico-química e microbiologia da empresa Produtos Alimentícios Superbom, São Paulo, SP, pelo teste de esterilidade comercial. Constatou-se ausência de alterações físico-químicas e microbiológicas, portanto, um produto comercialmente estéril. Testes sensoriais no produto autoclavado apresentaram resultados dentro das especificações estabelecidas pelo fabricante deste produto. Porém, faz-se necessário um estudo mais detalhado no estudo da influência do processo de esterilização sobre a textura, a cor e as características sensoriais do produto protéico vegetal.

O produto protéico final autoclavado analisado pelo Instituto Adolfo Lutz, conforme metodologias analíticas descritas em IAL (1985) & AOAC (1996) apresentou a seguinte composição centesimal: proteínas, 19,98%; gorduras, 1,63%; carboidratos, 3,05%; fibras, 1,29%; ferro, 0,2%; fósforo, 0,6%; teor de umidade, 69,98 % e valor calórico total de 127 kcal.

**TABELA 18** - Valores de temperatura média (°C) e de  $F_{121^{\circ}\text{C}}$  em minutos, em cada ponto para cada ciclo de penetração de calor.

Pontos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ciclo 1 Temp(°C) média ± SD	122,62 ± 0,47	121,73 ± 0,45	122,40 ± 0,43	121,89 ± 0,40	121,54 ± 0,52	122,62 ± 0,51	122,42 ± 0,45	121,79 ± 0,43	122,06 ± 0,44	122,26 ± 0,47	121,59 ± 0,52
F (min)	78,44	76,00	76,33	70,50	64,86	80,60	77,58	78,71	71,47	81,78	77,21
Ciclo 2 Temp(°C) média ± SD	122,35 ± 0,44	122,48 ± 0,43	122,12 ± 0,40	122,22 ± 0,41	120,96 ± 0,43	122,55 ± 0,50	122,05 ± 0,53	122,68 ± 0,47	121,20 ± 0,42	121,87 ± 0,41	122,28 ± 0,43
F (min)	68,20	74,43	67,97	65,17	65,06	69,34	70,32	75,83	66,58	66,35	66,37
Ciclo 3 Temp(°C) média ± SD	122,43 ± 0,49	122,44 ± 0,53	122,05 ± 0,51	122,10 ± 0,42	121,00 ± 0,51	121,20 ± 0,54	122,04 ± 0,51	122,84 ± 0,55	121,34 ± 0,47	121,24 ± 0,43	122,15 ± 0,42
F (min)	81,19	85,90	77,69	75,50	76,62	80,93	80,70	83,25	71,11	66,65	76,99

## 6. CONCLUSÕES

A qualidade microbiológica do produto enlatado, antes da esterilização terminal com calor úmido, foi determinada por dois fatores: a) os elevados níveis de microrganismos na matéria-prima proteína de soja e b) a exposição da proteína de soja hidratada às condições ótimas de crescimento de microrganismos durante a preparação do produto protéico vegetal.

A validação física do autoclave confirmou uma distribuição homogênea do calor nos 12 pontos distribuídos na câmara vazia, e a repetibilidade dos ciclos.

A validação física e biológica da esterilização do produto protéico vegetal (850 gramas, em latas metálicas) confirmou uma distribuição homogênea do calor no produto.

Para os ciclos realizados com carga máxima do produto, o menor valor  $F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}}$  (64,86 minutos) garantiu nível de esterilidade (SAL) de pelo menos  $10^{-12}$  em relação ao indicador biológico de *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (valor  $D_{121^{\circ}\text{C}}$  de  $3,68 \pm 0,43$  minutos e população média de  $1,00 \times 10^6$  esporos).

Para todas as operações de esterilização a presença de esporos sobreviventes no indicador biológico não foi detectada.

## 6.1. RECOMENDAÇÃO

A resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 – ANVISA – Ministério da Saúde do Brasil, recomenda no item 9 – Alimentos processados em embalagens herméticas, estáveis a temperatura ambiente – do regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, que as indústrias realizem o teste de esterilidade comercial. Este teste consiste na incubação de amostras aleatórias dos lotes de produtos acabados, expostas à temperatura de 35 – 37°C por um período de 10 dias. Após este período, devem ser verificadas possíveis alterações físico-químicas e microbiológicas nestas amostras. Contudo, este regulamento não define um parâmetro para o nível de esterilidade a ser atingido no processamento térmico de alimentos enlatados. Desta maneira, a validação adequada do processo de esterilização proporciona maior confiabilidade na avaliação da esterilidade.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAOCC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Wheat Chemistry and Technology. [On-line], Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/>> Acesso em: 07 fev. 2003.

ABIA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS. Departamento de economia, estatística e planejamento. [On-line], Disponível em: <<http://www.abia.org.br/>> Acesso em: 18 jan. 2004.

AGALLOCO, J. Steam sterilization and steam quality. **PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology**, v.54, n.1, p. 59-63, 2000.

AKTERIAN, S. G., FERNANDEZ, P.S., MARTINEZ, A. Risk analysis of the thermal sterilization process. **International Journal of Food Microbiology**, n.47, p.51-57, 1999.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – **Official methods of analysis**. 15 ed. Washington: AOAC. 1996. 1093p.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 13 ed. Washington: APHA, 1992. 175p.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 16 ed. Washington: APHA, 1995.154p.

ATHAYDE, A. Validação comprova e documenta qualidade dos produtos e equipamentos. **Revista Controle de Contaminação**, ano 3,n.17,p.16 -21, 2000.

BARROSO, S. O grão avança. **Revista Agro Cargill**, n. 65, p. 7-10, 2003.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu Editora, 1998. 317p.

BRASIL. Ministério da Saúde, ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução - RDC nº 12, de 2 janeiro de 2001, **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 500, de 13 de outubro de 1997 – Anexo I – **Validação do processo de esterilização por vapor**.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária Portaria nº 1469 de 29 de Dezembro de 2000. **Controle e vigilância da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade**.

BRASILATA – Aspectos técnicos das latas metálicas, [On-line], Disponível em: < <http://www.brasilata.com.br> > Acesso em 15 mar. 2004.

BRINGERT, G. Ensuring measurement integrity in validation of thermal processes. Kaye Instruments, Inc., [On-line], Disponível em: < <http://www.kayeinc.com/> > Acesso em 26 maio 2003.

BUSTAMANTE, F. Qualificação nos processos de esterilização por vapor. **Revista Controle de Contaminação**, ano 4, n.18, p.30-36, 2001.

CANTO, W.L.; SANTOS, L.C. Soja: uma fonte de alimentos. **Informativo Agropecuário**, n.8, p.62-72, 1982.

CARRÃO – PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J. M. G. Soja: Potencial de Uso na Dieta Brasileira. Londrina: EMBRAPA – CNPSO, **Documentos**, 113, 1998. 16p.

DE ANGELIS, R. C. **Fisiologia da nutrição**, 1.ed. São Paulo: EDART, 1987.

DEGRANI , H. I. A soja na alimentação humana. **Revista Engarrafador Moderno**, n. 111, p. 24-29, 2003.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 175p.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Food Labeling Healthy Claims, Soy Protein and Coronary Heart Disease. [On-line], Disponível em: <<http://www.fda.gov/>> Acesso em:13 mar. 2003.

FERNANDEZ, P. S.; OCIO, M. J.; SANCHEZ, T.; MARTINEZ, A. D-values of *Bacillus stearothermophilus* spores as a function of pH and recovery medium acidulant. **Journal of Food Protection, Ames**, v. 58, n.6, p.628-632, 1995.

FMCFoodTEC – Food processing systems. [On-line], Disponível em: <<http://www.fmcfoodtech.com>> Acesso em: 23 out. 2003.

GAILANI, M. B. Critical review of water activities and microbiology of drying of meats. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, v. 25, p. 159-178.2001.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. 5.ed. São Paulo: Nobel, 1983. 242p.

GEDRAITE, R.; LEONHARDT, G. F.; BASTOS, J.L.F.; GARCIA, C.; SANTOS, G. C. A utilização da modelagem matemática para avaliação da evolução da temperatura de alimentos processados em autoclaves estacionárias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n. 2, p. 258-264.2001.

GERMER, S. P. M. Avaliação dos desvios no processamento térmico de alimentos em conserva. **Informativo FRUTHOTEC**, v.3, n.2, p. 2 – 3, 1997.

GRAHAM, G.S.; BORIS, C.A. Chemical and biological indicators. **Sterilization technology – A practical guide for manufactures and users of health care products**. New York: Van Nostrand reinhold, 1993, p.36-69.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: O Instituto, 1985. 156p.

INTERNATIONAL FEDERATION OF THE PHARMACEUTICAL INDUSTRIES. Sterility assurance based on validation of the sterilization process steam under pressure .**J. Parenter. Sci. Technol.**, v. 43, n. 5, p. 226-230, 1989.

INTERNATIONAL FEDERATION OF THE PHARMACEUTICAL INDUSTRIES. Validation and control of non-standard sterilization process. **J. Parenter. Sci. Technol.**,v. 47, n. 1, p. 1- 15, 1993.

ISHISAKI, E. T. **Validação da autoclave na esterilização de solução parenteral**. 1998. 129p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Universidade de São Paulo. São Paulo,1998.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION **Sterilization of health care products – Requirements for validation and routine control – Industrial moist heat sterilization**. 1994. [ISO 11134].

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION **Sterilization of health care products – General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices**. 2000. [ISO 14937].

KANATT, S. R.; CHAWLA, S.P.; CHANDER, R.; BONGIRWAR, D.R. Shelf-stable and safe intermediate-moisture meat products using hurdle technology. **Journal of Food Protection**,v.65, n.10, p. 1628-1631.2002.

KASARDA, D. D.; NIMMO, C. C.; KOHLER, G. O. **Wheat Chemistry and Technology**. 4.ed. Minnesota: AAOCC, 1988. 821p.

LARANJEIRA, P. R. Como qualificar autoclaves a vapor para atender normas cGMP, **Informativo e Seminário EXPOLABOR**, n.33, p. 1 – 6, 2000.

LEITÃO, M.F.F. Controle microbiológico na indústria de alimentos, Campinas: ITAL: **Instruções técnicas do ITAL**, n.11, 1976.

LINDBOE, W.G.; HAYAKAWA, K. Comparative thermal sterilization, **Journal of Parenteral Science and Technology**, Philadelphia, v.47, n.3, p.138-141, 1993.

LOPEZ, A. **A Complete Course in Canning**. 12.ed. Maryland: Canning Trade Inc., 1987. 375p.

MADL, R.L. Evolution of protein quality determination. **Cereal foods world**, v.38, n.8, p. 576-577, 1993.

MARTÍNEZ, A.; OCIO, M.J.; RODRIGO, F. Heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores in alginate-mushroom puree mixture. **International Journal of Food Microbiology**, n.29, p. 391-395, 1996.

MESSINA, M.; MESSINA, V. Increasing use of soyfoods and their potencial role in cancer prevention. **Journal of the American Dietetic Association**, v.91, n.7, p. 836-840, 2001.

MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. **Soja suas aplicações**. 1.ed. Rio de Janeiro: Medsi Editora, 1996, 251p.

NASH, R.A. **Pharmaceutical Process Validation**, 1.ed. New York: Academic Press. 1993. 602p.

---

NEVERO, J.A. El enlatado de los productos cárnicos. **Carne e tecnologia**, n. 57, p. 32-35. 2002.

ODLAUG, T. E.; OCWIEJA, D. A.; YOUNG, W. E. Sterility assurance for terminal sterilized products without end-product sterility testing. **Journal of Parenteral Science & Technology**, v.38, n.4. p. 141-147, 1984.

PATASHNIK, M. A simplified procedure for thermal process evaluation. **Food Technology**, v.7, p.16-26, 1953.

PDA - PARENTERAL DRUG ASSOCIATION. Technical Report N. 33: Evaluation, Validation and Implementation of New Microbiological Testing Methods. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v.54, n3 suppl.TR33, p. 15-42, 2000.

PEREIRA, L.; CAMPOS, S.D.S. Soya protein products for institutional feeding systems. **Journal Of The American Oil Chemist's Society**, v.58, p.355-361,1981.

PFLUG, I. J. Discussion of the z-value to use in calculating  $F_0$ - value for high-temperature sterilization process. **PDA – Journal of Pharmaceutical Science & Technology**, v.50, n.1, p.51-54, 1996.

PFLUG, I. J. Using the straight-line semilogarithmic microbial destruction model as an engineering design model for determining the F-value for heat process. **Journal of Food Protection**, v.50, n.4, p.342-346, 1987.

PFLUG, I. J. Evaluating a ground-beef patty cooking process using the general method of process calculation. **Journal of Food Protection**, v.60, n.10, p.1215-1223. 1997.

PFLUG, I. J. Using thermocouples to measure temperatures during retort or autoclave validation. **Journal of Food Protection**, v.50, n.11, p. 975-981.1997.

RAJARAM, S.; SABATÉ, J. 2000. **Health benefits of a vegetarian diet. Nutrition** 16:531-533.

RODRIGUES, A.D.; SCHMIDT, F.L.; VITALI, A.A.; GERMER, S.P.M.; SADAHIRA, M.S. Comparação entre técnicas numéricas para a resolução do problema de transferência de calor em alimentos enlatados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.2. p.1-16. 1998.

RUSSEL, A. D. **The destruction of bacterial spores**. New york: Academic Press, 1982. 333p.

SANTOS, G. C. F.; VESSONI, T.C.P.; ISHISAKI, E.T. Validação de dois autoclaves na esterilização de solução parenteral e de um produto protéico vegetal enlatado. **Revista Controle de Contaminação**, ano 5,n.35,p.44-54, 2002.

SANTOS, G. C. F.; VESSONI, T. C. P. Microbiological quality of vegetable protein during meat analog preparation stages. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 39, supl. 3, 2003.

SANTOS, G. C. F.; VESSONI, T. C. P. Validação do processamento térmico de um produto protéico vegetal enlatado. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol.39, n.4, out./dez.,2003.

SCHAFFNER, R. M. **Canned foods: principles of thermal process control, acidification and container closure avaluation**. 12.ed. Washington: The Food Processors Institute, 1982. 205p.

---

SERP, D.; STOCKAR, V.; MARISON, I. W. Immobilized bacterial spores for use as bioindicators in the validation of thermal sterilization processes. **Journal of Food Protection**, v.65, n.7, p. 1134-1141. 2002.

SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. **Soybeans Chemistry and Technology**. 1.ed. Connecticut :The AVI Publishing Company, 1972. 187p.

STUMBO, C. R. **Termobacteriology in food processing**, 2.ed. New York: Academic press, 1973, 329p.

TEIXEIRA, A . A.; BALABAN, M. **Notas de Aula do Curso Computer Applications in Thermal Processing of Canned Foods**. ITAL, Campinas, 1996.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**, 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994, 252p.

TORÚN, B. Soybeans and soy products in the feeding of children. **Journal Of The American Oil Chemist`s Society**, v.58, p.460-463,1981.

UNIFAR - UNIÃO FARMACÊUTICA DE SÃO PAULO, **Apostila do 1º Workshop: VALIDAÇÃO**, Grupo de Estudos em Validação (VALFAR), São Paulo, 2000.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – Federal Specification, Vegetable protein product (VPP) Regulation: May 31, 1991. [On-line] Disponível em: <<http://www.fda.gov/>> Acesso em:15 jun. 2003.

USP - UNITED STATES PHARMACOPOEIAL CONVENTION. **The United States Pharmacopoeia**. USP XXV: NF 20. Rockville, 2002.

VESSONI PENNA, T. C.; MACHOSHVILI, I. A . Esterilização Térmica. Conceitos Básicos da Cinética de Morte Microbiana. **Revista de Farmácia e Bioquímica Universidade de São Paulo**, supl.( 1), p.1 - 5, 1997.

VESSONI PENNA, T.C.; MASCHOSHVILLI, I.A.; TAQUEDA, M.H.S. Thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores on strips previously treated with calcium. **Journal of Pharmaceutical Science & Technology**, v.50, n.4, p.01-11, 1996.

VESSONI PENNA, T. C. Validação de processos de esterilização I. Conceitos básicos. **Laes & Haes**, São Paulo,v.15, n. 88, p. 46-48, 1994.

VESSONI PENNA, T. C.; MACHOSHVILI, I. A.; BASTON, L.M. Importância do autoclave em lactário hospitalar. **Laes & Haes**, São Paulo,v.16, n.91. p.68- 74. 1994.

YOUNG, V. R. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59 (supl.) p. 1203S – 1212S, 1994.

## **ANEXO**

### **ARTIGOS PUBLICADOS**

**1 - Microbiological quality of vegetable proteins during meat analog preparation stages.**

**Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**

**2 - Validação do processamento térmico de um de produto protéico vegetal enlatado.**

**Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**

**3 - Validação de duas autoclaves na esterilização de solução parenteral e de um produto protéico vegetal enlatado.**

**Revista Controle de Contaminação**

### **ARTIGO NO PRELO**

**4 - Microbiological quality of vegetable proteins during meat analog preparation stages.**

**Journal of Food Protection – Colorado State University – USA**

## OBSERVAÇÃO

NÃO FOI AUTORIZADA A INCLUSÃO DO(S)  
ARTIGO(S) NESTE ARQUIVO