

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA
DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS
EM BANANAS-PASSAS E AVALIAÇÃO DA
CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

Parcer
Este exemplar corresponde a redação final da
tese defendida por Margarida Kikuta Barbieri
e aprovada pela Comissão Julgadora em 08/12/94

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE
MATÉRIAS ESTRANHAS EM BANANAS-PASSAS E AVALIAÇÃO
DA CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS**

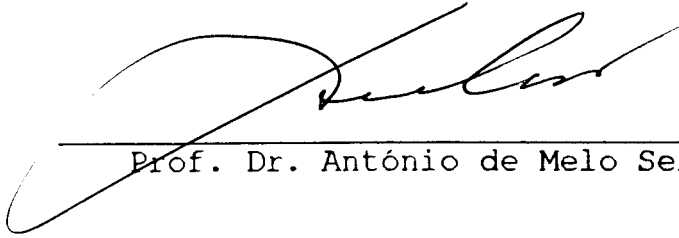
Margarida Kikuta Barbieri 224
Orientada

Prof. Dr. Antônio de Melo Serrano 76
Orientador

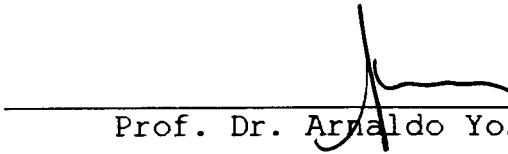
**TESE DE MESTRADO APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA
DE ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.**

Campinas,
1994

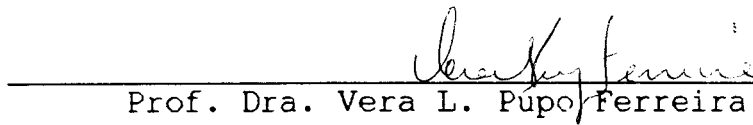
BANCA EXAMINADORA



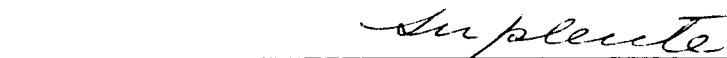
Prof. Dr. António de Melo Serrano (orientador)



Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye (membro)



Prof. Dra. Vera L. Pupo Ferreira (membro)



Prof. Dr. Carlos R.F. Grosso (membro)

Campinas, 09 de dezembro
1994

A Deus.

Ao meu pai, pela luz e proteção.

Ao meu esposo, Lino Fernando pelo amor e compreensão.

À minha filha, Melissa pelo amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. António de Melo Serrano, pela orientação.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos e à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas por terem possibilitado a realização do curso de Mestrado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela bolsa de estudo concedida.

À Vera Lúcia P. Ferreira pelo valioso apoio e incentivo.

As integrantes do Laboratório de Higiene, Raquel, Dirce e D.Jacinta, pela convivência e colaboração na realização do trabalho.

À Eliana, Cristina, Adriana e Rosana pela colaboração.

Ao Prof. Dr. Louis Bernard Klaczlo e sua assistente técnica Vilma Nascimento de Souza do Laboratório de Genética da Faculdade de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pela atenção e colaboração.

Ao Prof. Dr. Carlos H.W. Flechtmann da Universidade Estadual de Agronomia Luiz de Queiroz de Piracicaba - ESALQ/USP, pela colaboração e incentivo.

Aos meus familiares pelo apoio e amizade.

Ao Normandis, Eliete, Valquíria e Judith pela força e amizade.

As amigas e colegas do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Emília, Sônia, D.Rita, Verinha, Iacy, Marilena, Izildinha e Ariene, pela amizade e incentivo.

À Cássia, Clayton, Marcelo, Rubens e Andréia, pela valiosa colaboração na impressão final do texto.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv

	PÁGINA
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 - PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO DE BANANAS "IN NATURA"	3
2.2 - PRODUTOS DE BANANA	5
2.3 - TIPOS DE MATÉRIAS ESTRANHAS	8
2.4 - CONTAMINAÇÃO DOS ALIMENTOS POR MATÉRIAS ESTRANHAS	10
2.4.1 - CONTAMINAÇÃO DURANTE O CULTURA E/OU COLHEITA	10
2.4.2 - CONTAMINAÇÃO DURANTE O TRANSPORTE OU ESTOCAGEM	11
2.4.3 - CONTAMINAÇÃO DURANTE O PROCESSAMENTO	15
2.4.4 - CONTAMINAÇÃO DURANTE A ESTOCAGEM APÓS O PROCESSAMENTO	17

2.4.5 - CONTAMINAÇÃO DURANTE A DISTRIBUIÇÃO	18
2.4.6 - CONTAMINAÇÃO PELO CONSUMIDOR	18
2.5 - PRINCÍPIOS GERAIS DE DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS	18
2.6 - PROCEDIMENTOS BÁSICOS DE ISOLAMENTO PARA A DETECÇÃO MICROSCÓPICA DAS MATÉRIAS ESTRANHAS	20
2.6.1 - SEDIMENTAÇÃO	21
2.6.2 - DISPERSÃO-SOLUÇÃO	21
2.6.3 - FLUTUAÇÃO	24
2.6.4 - FILTRAÇÃO	27
2.7 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM FRUTAS SECAS	29
2.8 - IDENTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS CONTAMINANTES	31
2.8.1 - INSETOS	31
2.8.2 - EXCREMENTOS E PÊLOS	35
2.9 - IMPLICAÇÕES COM A SAÚDE HUMANA	37
2.10 - LEGISLAÇÕES E LIMITES EXISTENTES PARA MATÉRIAS ESTRANHAS EM ALIMENTOS	39
2.10.1 - LEGISLAÇÃO AMERICANA	40
2.10.2 - LIMITES DO GOVERNO CANADENSE	41

2.10.3 - LEGISLAÇÃO BRASILEIRA	42
3 - MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1 - MATERIAIS	43
3.1.1 - BANANAS-PASSAS	43
3.1.1.1 - AMOSTRAS PROCESSADAS EXPERIMENTALMENTE	43
3.1.1.2 - AMOSTRAS COMERCIAIS	43
3.1.2 - ARTRÓPODES	43
3.1.2.1 - MOSCAS	43
3.1.2.2 - COLEÓPTEROS	44
3.1.2.3 - ÁCAROS	44
3.1.3 - REAGENTES E SOLUÇÕES	44
3.1.4 - EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS	45
3.2 - MÉTODOS	46
3.2.1 - DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BANANA PROCESSADA EXPERIMENTALMENTE	46
3.2.2 - CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DAS AMOSTRAS	47
3.2.3 - AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS USADOS PARA FRUTAS SECAS QUANDO APLICADOS À BANANA-PASSA	47

3.2.3.1 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO	49
3.2.3.2 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO PROPOSTO PELA AGVIC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO	49
3.2.3.3 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELO HPB PARA TÂMARAS SECAS	52
3.2.3.4 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA FIGOS SECOS	52
3.2.4 - ESTUDO DA ETAPA DE LAVAGEM DA BANANA POR DOIS SISTEMAS DE LAVAGEM	52
3.2.5 - ESTUDO DE DIFERENTES TRATAMENTOS DE ATAQUE AO RESÍDUO CONSTITUINTE DA BANANA	54
3.2.5.1 - ATAQUE COM ENZIMAS	54
3.2.6.2 - ATAQUE COM HIDRÓXIDO DE SÓDIO	56
3.2.5.3 - ATAQUE COM ÁCIDO CLORÍDRICO	57
3.2.6 - OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DO TRATAMENTO DO RESÍDUO DE BANANA-PASSA COM ÁCIDO CLORÍDRICO	57
3.2.7 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO NOVO MÉTODO	60
3.2.7.1 - AVALIAÇÃO EM BANANAS-PASSAS CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE	60

3.2.7.2 - AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO EM BANANAS-PASSAS 60
DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO 62

4.1 - AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS USADOS PARA FRUTAS SECAS 63
QUANDO APLICADOS À BANANA-PASSA

4.1.1 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS 63
ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC
PARA UVA-PASSA, MODIFICADO QUANDO APLICADO
À BANANA-PASSA

4.1.2 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS 66
ESTRANHAS PELO MÉTODO PROPOSTO PELA AGVIC
PARA UVA-PASSA, MODIFICADO QUANDO APLICADO
À BANANA-PASSA

4.1.3 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS 68
ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELO HPB
PARA TÂMARAS SECAS, QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

4.1.4 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS 69
ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC
PARA FIGOS SECOS, QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

4.2 - OTIMIZAÇÃO DE FASES DO TRATAMENTO DA BANANA-PASSA 69

4.2.1 - FASE DE LAVAGEM DA BANANA COM DOIS SISTEMAS DE 70
LAVAGEM

4.2.2 - FASE DE ATAQUE AO RESÍDUO CONSTITUINTE DA BANANA 70

4.2.2.1 - ATAQUE COM ENZIMAS 70

4.2.2.2 - ATAQUE COM HIDRÓXIDO DE SÓDIO	72
4.2.2.3 - ATAQUE COM ÁCIDO CLORÍDRICO	73
4.3 - AVALIAÇÃO DE MÉTODO ESPECÍFICO, AGORA PROPOSTO, PARA BANANAS-PASSAS	79
4.4 - AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM BANANAS-PASSAS DE DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS	81
5 - CONCLUSÕES	93
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
FIGURA 1 - Fluxogramas dos métodos de determinação de matérias estranhas em frutas secas	48
FIGURA 2 - Fluxograma do método nº969.42 da AOAC para uva-passa e do modificado para banana-passa	50
FIGURA 3 - Fluxograma do método da AGVIC para uva-passa e do modificado para banana-passa	51
FIGURA 4 - Esquema do estudo da etapa de lavagem das bananas-passas por dois sistemas de lavagem	53
FIGURA 5 - Esquema do estudo dos diferentes tratamentos de ataque ao resíduo da lavagem da banana-passa	55
FIGURA 6 - Pontos do delineamento central composto rotacionável para duas variáveis	59
FIGURA 7 - Descrição das etapas do método para a determinação de matérias estranhas em bananas-passas	61
FIGURA 8 - Contornos de superfície de resposta relativo ao modelo de resposta ajustada do segundo grau: $\hat{Y} = -87,82 + 134,46X_1 + 10,21X_2 - 36,39X_1^2 - 0,2370X_2^2 - 1,75.X_1X_2$, com ponto de máximo: $X_1 = 1,5\%$ de HCl e $X_2 = 16$ min	78

FIGURA 9 - Contaminação média (5 repetições), por artrópodes, em bananas-passas de diferentes marcas comerciais, provenientes dos Estados da Bahia e de São Paulo

84

FIGURA 10 - Contaminação média (5 repetições) por fezes e pêlos de roedores, pêlos humanos, fios diversos e partículas carbonizadas, em bananas-passas de diferentes marcas provenientes dos Estados da Bahia e de São Paulo

89

TABELA 1- Produção brasileira de banana "in natura" (em toneladas) e participação do principais Estados(%)na produção total,no período de 1985 a 1990	3
TABELA 2 - Produção de banana "in natura"(em 1.000 toneladas)e percentual de participação dos principais países na produçãomundial, no período de 1985 a 1990	4
TABELA 3 - Exportação de banana "in natura" (em toneladas) e participação dos principais exportadores(%) no total mundial, no período de 1985 a 1990	5
TABELA 4 - Países importadores de banana-passa brasileira, no período de 1985 a 1991	8
TABELA 5 - Delineamento central composto rotacionável para as variáveis concentração de ácido clorídrico (%) e tempo de tratamento (min)	59
TABELA 6 - Composição centesimal da banana-passa, uva-passa, tâmara seca e figo seco	62
TABELA 7 - Recuperação média, em percentagem, de matérias estranhas adicionadas em bananas-passas, aplicando-se os diferentes métodos para frutas secas (em duplicata)	64

TABELA 8 - Determinação de matérias estranhas de bananas-passas de marca comercial aplicando-se os diferentes métodos de frutas secas (em duplicata)	66
TABELA 9 - Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (<u>Drosophila melanogaster</u>) após o ataque do resíduo constituinte da banana passa com enzimas	71
TABELA 10 - Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (<u>Drosophila melanogaster</u>) após o ataque do resíduo constituinte da banana-passa com hidróxido de sódio	72
TABELA 11 - Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (<u>Drosophila melanogaster</u>) após o ataque do resíduo constituinte da banana-passa com ácido clorídrico	73
TABELA 12 - Resultados experimentais do delineamento composto rotacionável, para a recuperação de ovos de mosca (<u>Drosophila melanogaster</u>)	75
TABELA 13 - Análise de variância dos dados de recuperação de ovos de mosca (<u>Drosophila melanogaster</u>), TABELA 12, considerando o modelo polinomial de segunda ordem	77
TABELA 14 - Porcentagem de recuperação de matérias estranhas adicionadas em bananas-passas processadas experimentalmente	80

TABELA 15 - Incidência de matérias estranhas (nº/100g) em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras diferentes de 4 marcas comerciais de bananas-passas provenientes da Bahia (A,B,C,D) e de 7 de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K)	82
TABELA 16 - Valores extremos de matérias estranhas (nº/100g) observados em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras de banana-passa de diferentes marcas comerciais provenientes do Estado da Bahia (A,B,C,D) e de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K)	83
TABELA 17 - Incidência de matérias estranhas (nº/100g) em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras diferentes de 4 marcas comerciais de bananas-passas provenientes da Bahia (A,B,C,D) e de 7 de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K)	88

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM BANANAS-PASSAS E AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS

RESUMO

Os métodos recomendados para determinação de matérias estranhas de uvas-passas, tâmaras e figos secos, baseados na flutuação em frasco armadilha de Wildman, foram testados em bananas-passas contaminadas artificialmente com ovos de mosca (Drosophila melanogaster), insetos (Cryptolestes ferrugineus) na forma de larvas, de adultos inteiros e cabeças, ácaros (Tyrophagus putrescentiae), pêlos de roedores e de humanos, e nenhum deles se mostrou adequado devido à grande quantidade de material constituinte da banana que aparecia na etapa de flutuação. A etapa de lavagem das bananas foi testada com água aquecida a 55-70°C obtida de dois sistemas hidráulicos diferentes, um com fluxo de 6,4L/min e outro com 2,7L/min, não havendo diferença na recuperação das matérias estranhas. O ataque ao resíduo foi testado com algumas enzimas (protease, alfa-amilase, pectinase, celulase, alcalase, amiloglicosidase) e hidróxido de sódio e ácido clorídrico em diferentes concentrações. O ataque ao resíduo com ácido mostrou-se mais adequado, pela diminuição da quantidade do resíduo e por não provocar alteração drástica na morfologia dos ovos de mosca recuperados. A concentração de HCl e o tempo de contato a serem utilizados foram otimizados e obtiveram-se os valores de 1,5% de HCl e 16 minutos de aquecimento como melhores.

A recuperação média de matérias estranhas adicionadas nas amostras de banana-passa processada experimentalmente, com o novo método desenvolvido foi de 97,6% e o coeficiente de variação de 5,6%, demonstrando a sua adequação ao tipo de produto.

A avaliação da contaminação de bananas-passas comerciais foi feita com o novo método, analisando-se 5 pacotes de 200g de diferentes marcas produzidas nos Estados da Bahia e São Paulo, num

total de 55 amostras. A incidência média (nº/100g) observada nas bananas-passas dos dois Estados foi de 0,5 ovos de Drosophila sp, 0,3 larvas de Drosophila sp, 0,4 insetos inteiros, 5,8 fragmentos de insetos, 0,1 ácaros, 0,1 fragmentos de fezes e de pêlos de roedores, 0,3 pêlos humanos, 5,4 fios diversos, 5,6 partículas carbonizadas e 0,6mg/100g de areia. Embora os valores médios obtidos sejam relativamente baixos em comparação aos limites estabelecidos pela "Food and Drug Administration - FDA" (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1982) e pelo "Health Protection Branch - HPB" do Canadá (HEALTH PROTECTION BRANCH, 1984) para uvas-passas bem como para tâmaras secas, nenhuma das bananas-passas analisadas foi isenta de matérias estranhas.

SUMMARY

Development of a method to determine foreign matter in dried banana sticks and evaluation of the contamination in commercial products

The recommended methods for foreign matter determination of raisins, dates and dried figs, based on flotation in Wildman's trap flask were tested on dried banana sticks artificially contaminated with fly eggs (Drosophila melanogaster), insects (Cryptolestes ferrugineus) in the form of larvae, while adults and heads, mites (Tyrophagus putrescentiae), and rodent and human hairs. None of these methods was shown to be appropriate for dried bananas, due to the considerable amount of banana constituents which appeared in the flotation stage. Two different hydraulic systems were tested in the banana washing stage (water 55-70°C), one with a flow-rate of 6,4l/min and the other 2,7l/min, but no difference was noted. Various enzymes and different concentrations of sodium hydroxide and hydrochloric acid were tested for their capacity to attack the residue. Hydrochloric acid was shown to be more adequate than the remaining treatments, diminishing the amount of residue without producing drastic morphological alterations in the fly eggs recovered. After optimization of the process, an HCl concentration of 1,5% and a heating time of 16 minutes were chosen.

Using the new method, an average recovery rate of 97,6% was obtained for the foreign matter added to the experimentally processed dried bananas, with a coefficient of variation of 5,6% showing that the method was adequate for this type of product.

The evaluation of the contamination of commercial dried banana sticks was carried out by the new method, analyzing five 200g packets of different brands produced in the States of Bahia

and São Paulo, giving a total of 55 samples analysed by the new method. The average values of incidence (nº/100g) observed in the dried bananas from the two states were 0,5 Drosophila sp eggs, 0,3 Drosophila sp larvae, 0,4 whole insects, 5,8 insect fragments, 0,1 acarids, 0,1 fragments of rodent faeces and hairs, 0,3 human hairs, 5,4 diverse strands, 5,6 burnt particles and 0,6mg/100g sand. Although the average values obtained were relatively low compared to the limits fixed by the Food and Drug Administration (FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1982) and the Health Protection Branch (HPB) of Canada (HEALTH PROTECTION BRANCH, 1984) for raisins and dried dates, none of the dried banana sticks analyzed were devoid of foreign matter.

1 - INTRODUÇÃO

Do ponto de vista higiênico é muito importante determinar a presença de matérias estranhas como insetos, excrementos e pêlos de roedores, visto que estes contaminantes podem indicar o nível das condições e práticas de higiene utilizadas para a produção dos alimentos. Esses contaminantes podem ser provenientes da matéria-prima ou de práticas e condições de higiene inadequadas durante o processamento, estocagem e distribuição.

A presença de matérias estranhas em alimentos pode ser detectada a olho nu, quando os contaminantes são macroscópicos. Além destes contaminantes facilmente detectados pela simples avaliação visual, o alimento pode conter outros tipos de materiais estranhos muito pequenos, fragmentados, escondidos em frestas e depressões ou na intimidade do produto, de coloração semelhante à do alimento e, portanto, de difícil visualização a olho nu. A detecção e identificação segura de tais contaminantes só pode ser efetuada pelo emprego de técnicas adequadas de isolamento e exame microscópico.

A elaboração de produtos de banana tem recebido considerável atenção por parte dos produtores, devido à necessidade de se aproveitar rentavelmente a produção de bananas "in natura".

A banana-passa é um dos produtos de banana que apresenta grande potencial para a introdução e ampliação de mercado em vários países. Alguns dos problemas levantados para a exportação da banana-passa brasileira consistem na pequena quantidade produzida, na qualidade inferior do produto brasileiro em relação à de outros países produtores (CAIXETA & JANK, 1990) e à inexistência de boa qualidade do produto, principalmente, quanto às condições higiênicas, já que a grande maioria dos fabricantes a produz a nível artesanal.

Após pesquisa bibliográfica da literatura científica não encontramos método oficial para a determinação de matérias estranhas de bananas-passas. Os métodos para produtos análogos existentes são para uvas-passas, tâmaras e figos secos e baseiam-se na flutuação das sujidades leves e, portanto, não recuperam ovos e larvas de moscas.

A pesquisa de novas metodologias e/ou modificações das existentes para determinação de matérias estranhas deve sempre levar em consideração o aperfeiçoamento da recuperação dos principais elementos contaminantes, a obtenção de papel de filtro limpo (sem partículas de alimento em excesso que possam interferir no exame microscópico), a obtenção de resultados reproduzíveis, redução no tempo de análise, padronização de reagentes, equipamentos e técnicas básicas de isolamento (EISENBERG, 1968).

Assim este trabalho teve como objetivo desenvolver um método simples e confiável de recuperação das matérias estranhas, tanto as leves como os ovos e larvas de moscas, para viabilizar a avaliação da contaminação de bananas-passas por matérias estranhas.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO DE BANANAS "IN NATURA"

A produção brasileira de banana (Musa cavendish), (Tabela 1) variou de 4,8 a 5,5 milhões de toneladas, nos anos de 1985 a 1990, sendo o Estado da Bahia o maior produtor, com uma média, neste período, de 792.667 toneladas, correspondente a 15,3% da produção nacional, seguido dos Estados de São Paulo e de Santa Catarina com produções de 611.898 e 396.093 toneladas, correspondentes, respectivamente, a 11,8% e 7,5% da produção nacional.

TABELA 1. Produção brasileira de banana "in natura" (em toneladas) e participação dos principais Estados (%) na produção total, no período de 1985 a 1990.

Anos	Bahia		São Paulo		Santa Catarina		Produção total
1985	744.120	15,5	478.310	9,9	390.850	7,7	4.815.030
1986	792.350	15,7	662.660	13,1	384.580	7,6	5.051.590
1987	767.420	14,9	691.060	13,5	389.560	7,6	5.131.150
1988	801.050	15,7	532.100	10,4	396.300	7,7	5.118.440
1989	814.100	14,8	659.560	12,0	390.580	7,1	5.504.750
1990	836.940	15,2	647.700	11,8	424.690	7,6	5.510.690
Média	792.663	15,3	611.898	11,8	396.093	7,5	5.188.608

Fonte: Anuário Estatístico do Brasil (FUNDAÇÃO IBGE, 1985 a 1990).

Segundo PEREZ, 1993, desde 1985, a produção brasileira de bananas representa mais de 11% da produção mundial, disputando com a Índia o primeiro lugar (Tabela 2). Exportando ao redor de 1% da produção, o Brasil se caracteriza como grande consumidor da fruta. Por outro lado, os maiores exportadores da fruta, o Equador e a Costa Rica, apresentam situação inversa, destinando menos de 30%

da produção para o consumo interno. Estes países ampliaram significativamente seus mercados a partir de 1989, tendo atingido, em conjunto, uma participação ao redor de 39% do comércio mundial (Tabela 3). O crescente aumento das exportações pelo Equador, segundo o "The Marketing and Distribution System for Bananas" da ONU, se deve ao programa governamental, iniciado em 1971, com o objetivo de desenvolver a produção e exportação. Com o mesmo objetivo de aumentar a participação, no mercado internacional, a União dos Países Exportadores de Banana (UPEB), formada pela Costa Rica, Colômbia, República Dominicana, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá e Venezuela, foi criada em 1974 (*apud* CAIXETA & JANK, 1990).

TABELA 2. Produção de banana "in natura" (em 1.000 toneladas) e percentual de participação dos principais países na produção mundial, no período de 1985 a 1990.

Anos	Brasil		Índia		Equador		Costa Rica		Produção mundial
1985	4.815	11,88	4.500*	11,10	1.970	4,86	1.008	2,49	40.544
1986	5.052	11,76	4.608*	10,72	2.316	5,39	1.096	2,55	42.968
1987	5.131	11,45	4.600*	10,26	2.386	5,33	1.143	2,55	44.818
1988	5.118	11,34	4.600*	10,19	2.576	5,71	1.162	2,57	45.135
1989	5.505	12,24	6.000*	13,34	2.576	5,73	1.512	3,36	44.970
1990	5.502	11,73	6.200*	13,21	3.055	6,51	1.740	3,71	46.923

* = valores estimados

Fonte: Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 1985 a 1990).

A qualidade inferior das bananas brasileiras, em relação às de outros países produtores, como o Equador e a Costa Rica, e o aumento da produção mundial de bananas (Tabela 3) têm feito com que o Brasil perca ou diminua sua participação em muitos mercados, tendo reduzida sua participação de 1,55% para 0,56%, no período

de 1985 a 1990 (CAIXETA FILHO & JANK, 1990). Com o objetivo de reverter esse processo, vários estudos têm sido conduzidos, diagnosticando os problemas da produção, identificando o potencial, a situação e perspectivas de exportação (HASHIZUME et al., 1989, CAIXETA & JANK, 1990 e PEREZ, 1993). Recentemente, na região do Vale do Ribeira, no sul do Estado de São Paulo, um programa de qualidade total vem sendo implantado pela ABRe (Associação dos Bananicultores de Registro) com apoio da Cooperativa Agrícola de Cotia e da Delegacia Agrícola de Registro, de modo a obter uma banana "in natura" de qualidade internacional, em condições de reconquistar parte do mercado externo (GLOBO RURAL, 1994).

TABELA 3. Exportação de banana "in natura" (em toneladas) e participação dos principais exportadores (%) no total mundial, no período de 1985 a 1990.

Anos	Brasil		Equador		Costa Rica		Exportação mundial
1985	105.296	1,55	1.075.027	15,79	841.245	12,36	6.806.759
1986	101.166	1,37	1.399.581	18,95	890.090	12,05	7.385.696
1987	81.220	1,06	1.406.218	18,42	991.240	12,99	7.633.157
1988	76.160	0,98	1.551.181	19,98	1.060.817	13,67	7.762.040
1989	83.526	1,00	1.769.976	21,20	1.275.693	15,28	8.347.577
1990	56.066	0,56	2.209.631	23,38	1.443.639	15,27	9.452.659

Fonte: Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 1985 a 1990).

2.2 - PRODUTOS DE BANANA

O problema do excedente de banana "in natura" do mercado de exportação tem-se agravado e necessssitado maior atenção por parte dos produtores. Geralmente, há perdas muito grandes de frutos defeituosos, que, embora de boa qualidade gustativa, são

rejeitados por não atenderem às especificações exigidas pelos países importadores. Assim sendo, WILSON, 1975 enfatiza a necessidade de se aproveitar rentavelmente o excedente e parte da produção, na elaboração de produtos industrializados.

Os produtos comumente feitos com banana são bananas secas, purê acidificado, congelado, banana em pó, farinha, flocos, fritas, em calda e doces em pasta. Dentre estes produtos, a banana seca, o purê, o pó e banana em calda eram os de maior importância no comércio internacional (WILSON, 1975). Infelizmente, os dados estatísticos que relatam a produção e o comércio de produtos de banana eram e continuam sendo muito pobres e esporádicos, o que dificulta o acesso a dados confiáveis.

A banana do tipo passa ou seca é obtida pela secagem natural ou artificial da fruta inteira, sem a casca, retendo a sua forma. Ocasionalmente, o fruto pode ser dividido ao meio ou fatiado para facilitar a secagem. Uma descrição detalhada sobre a industrialização da banana-passa é apresentada por TRAVAGLINI, 1978 e 1993. O autor apresenta considerações sobre a matéria-prima, o processamento e equipamentos, acondicionamento e preservação.

De acordo com WILSON, 1975, o produto de boa qualidade deve apresentar coloração castanha, textura firme, porém que não seja dura ou coriácea, não apresente crostas duras ou superfície excessivamente pegajosa.

A banana-passa, no Brasil, na maioria das vezes, é apresentada em porções de 200g embalada em celofane incolor, sobreposto por celofane amarelo.

Por muitos anos, o Equador e o Brasil têm sido os maiores produtores da América do Sul de banana-passa em escala comercial. Na África, a banana passa tem sido processada para comercialização

pela Libéria, Angola, República dos Camarões e Zaire (WILSON, 1975).

Na maioria as fábricas produtoras de banana-passa, no Equador, eram pequenas e em muitos casos havia a necessidade de melhorar as técnicas de processamento, a fim de produzir um produto seco mais atraente, além de ser difícil obtê-lo em bons padrões higiênicos, particularmente, quanto à prevenção da infestação por insetos (WILSON, 1975). De forma análoga, a maioria das indústrias brasileiras de banana-passa é de porte caseiro e necessita melhorar as técnicas de processamento, instalações e condições operacionais de higiene e sanificação para obter um produto de melhor qualidade e atingir maior eficiência na produção (TRAVAGLINI, 1978 e HASHIZUME et al., 1989).

Em 1957, a indústria equatoriana de banana, em face ao problema de aproveitamento rentável das grandes quantidades de excedentes de bananas frescas, começou a organizar a indústria de banana seca através de linhas modernas e eficientes, o que resultou em aumento considerável na qualidade (WILSON, 1975).

Os principais importadores de banana-passa são os países desenvolvidos, sendo o Equador o maior fornecedor da banana-passa para o mercado europeu. Em 1987, o Equador forneceu 62% das bananas-passas consumidas pelo Reino Unido, 79% das consumidas pela França e 66% das consumidas pela Alemanha. As exportações brasileiras de banana-passa (Tabela 4) destinam-se principalmente a países como os Estados Unidos, Alemanha Ocidental, Países Baixos, Suíça, Portugal e França, sendo os dois primeiros os compradores mais importantes (CAIXETA FILHO & JANK, 1990).

De acordo com CAIXETA FILHO & JANK, 1990, a qualidade inferior da banana passa brasileira frente à equatoriana tem feito com que o Brasil perca ou diminua sua participação em muitos mercados, necessitando, portanto, a maior atenção, por parte dos produtores, dessa situação.

TABELA 4. Países importadores de banana-passa brasileira, em toneladas, no período de 1985 a 1991.

Países	Anos						
	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991
Estados Unidos	21,68	37,08	31,64	51,90	—	—	—
Alemanha Ocidental	5,03	0,50	0,02	11,10	—	—	—
Países Baixos	4,08	—	12,00	13,00	—	—	—
França	—	—	—	17,00			
Suíça	8,16	—	—	7,69	—	—	—
Portugal	—	—	0,22	3,39	—	—	—
Total	38,95	37,58	43,88	104,08	89,87	52,72	70,15

Fonte: CACEX/DECEX - Carteira de Comércio Exterior Banco do Brasil (COMERCIO EXTERIOR DO BRASIL, 1985 a 1991).

2.3 - TIPOS DE MATÉRIAS ESTRANHAS

As matérias estranhas podem ser conceituadas como qualquer material indesejável presente no produto, que seja associado a condições ou práticas inadequadas de produção, estocagem ou distribuição, como as sujidades, matérias decompostas, miscelâneas ou outras substâncias, excluindo-se as bactérias (BOESE & BANDLER, 1990).

As sujidades podem ser classificadas, segundo o seu peso específico, em leves e pesadas. As sujidades leves possuem características lipófilas e podem ser separadas do alimento pela flutuação em mistura líquida de óleo-água. Insetos inteiros, fragmentados, pêlos de roedores, pêlos humanos, fios diversos e bárbulas de penas são os exemplos deste tipo de sujidade. As pesadas caracterizam-se por serem mais pesadas que o alimento e, portanto, separadas por sedimentação. Como exemplo têm-se os

excrementos de roedores e de insetos, seus fragmentos, partículas metálicas, areia, terra, vidro, etc.

As sujidades separadas por peneira são caracterizadas por apresentarem tamanhos específicos e serem separadas do alimento pelo uso de peneiras de malha selecionada, como, por exemplo, os insetos inteiros, pedras e excrementos de roedores separados das frutas secas e de grãos.

As matérias decompostas podem ser devido às causas parasíticas ou não como, por exemplo, as partículas de material orgânico em decomposição, acumuladas ou incrustadas na linha de processo, partes do tecido vegetal deteriorado, etc.

Outros tipos de matérias estranhas como partes de embalagens, pontas de cigarros, pedaços de borracha, ferrugem, lascas de madeira, materiais plásticos, ratos mortos, materiais cirúrgicos, cartas de baralho, lâminas de barbear, além dos contaminantes já exemplificados, foram detectados em diversos produtos de panificação e confeitaria (massas, farinhas e doces), EDWARDS, 1974.

KIRK & SAWYER, 1989, afirmam que o alimento, freqüentemente, está contaminado por matérias sólidas ou matérias estranhas específicas, independentemente das contaminações química e/ou microbiológica e tais contaminações são utilizadas como indicativo de práticas de higiene e manufatura precárias ou distribuição e estocagem deficientes.

No Brasil, há diversos trabalhos publicados sobre avaliação de matérias estranhas em alimentos (SOUTO et al., 1946; CARVALHO et al., 1953; MENEZES, 1956; DECANIO, 1971; ZAMBONI et al., 1985a e 1985b; ZAMBONI & BATISTIC, 1985; ZAMBONI et al., 1988; ZAMBONI et al., 1989; CAMPOS & BARBIERI, 1989; RODRIGUES et al., 1990; SANTOS et al., 1991; ZAMBONI et al., 1991, etc.), verificando-se a presença de sujidades, parasitos e larvas.

2.4 - CONTAMINAÇÃO DOS ALIMENTOS POR MATÉRIAS ESTRANHAS

Mesmo com a moderna tecnologia de hoje, as matérias estranhas contaminam os alimentos e a FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1982; HEALTH PROTECTION BRANCH, 1984 e PEACE & GARDINER, 1990 consideram impossível a produção de alimentos totalmente livres de contaminação de diversas origens, embora as boas práticas de higiene possam reduzir grandemente a contaminação.

Várias são as fases em que o alimento está sujeito à contaminação por matérias estranhas. PEACE & GARDINER, 1990 consideram as seguintes fases de contaminação: durante o cultivo e/ou colheita, durante o transporte ou estocagem, durante o processamento, durante o armazenamento do produto final, na distribuição e pelo consumidor.

2.4.1 - CONTAMINAÇÃO DURANTE A CULTURA E/OU COLHEITA

No campo, durante a cultura e/ou colheita, a plantação está sujeita a uma variedade muito grande de tipos de contaminação, como por insetos, ácaros, roedores, pássaros, pêlos, penas, excrementos, fungos e ainda areia, terra e pedriscos. Algumas destas contaminações são inevitáveis, pois nem sempre é possível plantar e colher um vegetal isento de material estranho, mesmo utilizando as melhores e mais sofisticadas técnicas de cultivo. Outras contaminações, porém, podem ser reduzidas e/ou evitadas, desde que boas práticas agrícolas sejam utilizadas (PEACE & GARDINER, 1990).

Moscas e vespas que polinizam flores podem ser presas e permanecer até o fruto se desenvolver. Vespas da figueira, Blastophoga sp, são encontradas regularmente nos figos ou doces de figos, porque a fêmea responsável pela polinização fica presa no interior do fruto (PEACE & GARDINER, 1990).

Pequenos insetos da superfamília Coccoidea, que se alimentam de vários tipos de plantas, podem ser encontrados nos alimentos, pois as ninfas velhas e machos, que são desprovidos de pernas e asas, ficam aderidos uns aos outros e também à planta, através da camada de cera que envolve seus corpos. Como resultado, a sua remoção se torna difícil ou até impossível (PEACE & GARDINER, 1990).

Segundo FLECHTMANN, 1972, algumas vezes, as folhas de bananeira podem mostrar-se parcial ou totalmente revestidas de grande quantidade de teias de aranha, em cujos fios se abrigam ácaros vermelhos, como o Tetranychus (T.) abacae e Tetranychus (T.) desortorum (Banks). Tais infestações são facilmente lavadas das folhas pelas chuvas e muito raramente chegam a ter importância agrícola. Contudo, na elaboração de produtos de banana podem ter importância pois podem ser transferidas para os frutos e permanecer no produto processado, se as boas práticas de manufatura não forem observadas.

Pássaros, ao sobrevoarem as plantações, podem contaminar com penas e/ou excrementos.

Diferentes tipos de fungos podem invadir os alimentos no campo e alguns podem produzir toxinas que, quando ingeridas, podem causar sérios danos ao organismo humano (GORHAM, 1989).

Areia, terra e pedriscos podem ser espalhados e penetrar nas frutas e vegetais durante o cultivo, pela ação de chuvas fortes e/ou ventos. O manuseio inadequado também pode contribuir para essa contaminação.

2.4.2 - CONTAMINAÇÃO DURANTE O TRANSPORTE OU ESTOCAGEM

No transporte ou estocagem, os alimentos também podem ser contaminados até mesmo por outros produtos estocados, já

contaminados por insetos, ácaros, fungos e roedores ou ainda por contaminantes presentes nos veículos de transporte ou no armazém.

Baratas (Orthoptera) constituem um problema sério em áreas de estocagem pois consomem qualquer tipo de alimento e ração animal; como se alimentam tanto de alimentos são como deteriorados, freqüentam ambientes sujos e poluídos e carregam uma série de patógenos em suas patas e corpos, transmitindo-os mecanicamente aos alimentos (KURTZ & HARRIS, s.d.).

Um dos insetos de produtos estocados dos mais comuns no Canadá é o coleóptero de grãos Oryzaephilus mercator, que infesta grãos, castanhas, frutas secas, leveduras, açúcar, balas e carnes secas. A fêmea põe de 50 a 300 ovos e produz de 4 a 6 gerações por ano. Esta espécie não necessita de umidade relativa alta para sobreviver e, se não forem tomadas as providências para o controle, a população pode aumentar e causar sérios danos ao alimento que está sendo armazenado (PEACE & GARDINER, 1990).

Segundo ARBOGAST, 1991, o coleóptero Lasioderma serricorne é a praga onipresente em todos os produtos estocados em regiões de clima tropical e subtropical e em regiões de clima temperado também pode ser encontrado nas câmaras de armazenamento com temperatura controlada. Essa praga desenvolve-se numa ampla variedade de produtos, incluindo os de origem vegetal e animal, tais como frutas secas, castanhas, feijões, biscoitos, mandiocas, ervilhas, sementes de cacau, grãos de café, especiarias e condimentos, cenouras secas, fermentos e peixes secos.

Seis espécies de coleópteros do gênero Cryptolestes são conhecidos por infestar produtos estocados. Destes, as espécies de Cryptolestes ferrugineus e as de Cryptolestes pulsillus são cosmopolitas, sendo a distribuição do C. pulsillus restringida pelas baixas temperaturas e pela baixa umidade, porém, em regiões de clima tropical e úmido, ele é mais abundante que o C. ferrugineus. As espécies de Cryptolestes se alimentam de grãos e

produtos de cereais, bem como de uma variedade grande de outros materiais. A ocorrência de C. ferrugineus tem sido registrada em frutas secas, farinhas, grãos, dentre outros produtos (ARBOGAST, 1991).

Os ácaros que contaminam produtos estocados são muito pequenos (100 a 400µm de comprimento), mas a sua ocorrência pode ser observada a olho nu. As infestações são caracterizadas por uma camada semelhante à poeira fina, de cor ligeiramente castanha, que é composta por metabólitos, ovos, ácaros vivos e mortos e partículas de alimento. Uma fêmea pode produzir de 100 a 400 ovos, que se tornam adultos dentro de 1 a 4 meses. O número de ácaros pode aumentar sensivelmente onde há alimento em abundância e umidade relativa alta (75-85%), como no caso de queijos, presuntos, grãos úmidos e alimentos estocados por longo período (PEACE & GARDINER, 1990).

LINHARES et al. , 1991, relatam a ocorrência de Acarus siro em charque brasileiro embalado a vácuo, com 6 meses de estocagem e com o vácuo parcialmente perdido, em consequência, provavelmente, de pequenas aberturas ou rupturas na linha de soldagem da embalagem plástica. Segundo o autor, a importância deste relato é a constatação do ácaro, que é uma das pragas mais conhecidas que infestam grãos e farinhas e que também pode infestar outros tipos de produtos.

BAGGIO et al. , 1987, em estudo realizado no Brasil, detectaram a presença de ácaros primários e secundários de produtos estocados em vários cereais após a incubação das amostras por 42 dias sob temperatura e umidade controlada. Os primários foram os Tyrophagus putrescentiae, Aleuroglyphus ovatus, Glycyphagus domesticus, Chortoglyphus arcuatus, Suidasia pontifica, Blomia tropicalis, Histiostoma sp, e Dermatophagoides pteronyssinus e; os secundários os Tarsonemus sp, Cheyletus malaccensis e Blattosocius dentriticus. Os resultados positivos, após 42 dias de incubação, quando os exames na recepção das

amostras eram negativos, mostram que um simples exame de uma amostra quanto à presença de ácaros não é suficiente para detectar as suas ausências.

GUIMARÃES, 1970, identificou várias espécies de ácaros associadas à indústria de figo seco da região do Algarve, em Portugal, tais como o Tyrophagus putrescentiae Schr., Carpoglyphus lactis L., Glycyphagus domesticus Deg., Cheyletus eruditus Schr., Melichares mali Ouds., sendo o Carpoglyphus lactis L. apontado como o mais importante entre os ácaros que infestam o figo seco.

Segundo BOESE, 1985, o Carpoglyphus lactis L., ácaro de frutas secas, é originalmente conhecido como praga de figos secos, tâmaras secas, uvas passas e outras frutas secas, mas também tem sido encontrado em batatas, farinhas velhas, castanhas, sementes de cacau, vinhos, geléias, queijos e outros produtos. De acordo com HUGLES, 1961, o C. carpoglyphus também tem sido encontrado em favos de mel e resíduos de sucos de fruta. Esta espécie é atraída por produtos de fermentação microbiana, como o ácido láctico, acético e succínico. Esta espécie, por meio das quelíceras, alimenta-se da secreção açucarada que cobre os frutos secos e seu ciclo de vida pode ser completado em cerca de 2 semanas em condições favoráveis (OBOUSSIER *apud* ENDLEIN & FLECHTMANN, 1976).

ENDLEIN & FLECHTMANN, 1976 encontraram, no Brasil, ácaros pertencentes à espécie Carpoglyphus lactis (L., 1758) em um pacote bem fechado de bananas-passas. Estes só foram vistos, através do papel de celofane, devido à pulverulência esbranquiçada e pelo movimento de pequenos pontos brancos. O odor da banana era estranho e o sabor ligeiramente amargo e desagradável. O exame do produto, sob microscópio estereoscópico, mostrou que os ácaros abrigavam-se nas frestas e depressões das frutas, aglomerados de 5 a 12 ninfas e/ou adultos ou sob a forma de ovos.

O Tyrophagus putrescentiae, ácaro de fungos, é uma espécie cosmopolita que infesta vários tipos de produtos estocados, tais

como grãos, farinhas, ervas medicinais, bananas secas, etc. (BOCZEK, 1991). Esta espécie é encontrada, com mais frequência, em moinhos, nas bicas de empacotamento da farinha. O T. putrescentiae, muitas vezes, pode ser encontrado em casas de cultivo de cogumelos. Raramente, é encontrado em habitat silvestre, como tocas de roedores e de pássaros. Eles também são comumente encontrados na poeira doméstica e conhecidos como causadores de reações alérgicas (GORHAM, 1975).

FLECHTMANN, 1986 enumera algumas medidas de prevenção e controle de ácaros de frutas secas, com base nos estudos realizados por GUIMARÃES, 1970, em Portugal, sobre figos secos da região de Algarve, tais como: construção de local para a secagem das frutas que permita fácil limpeza e que possua superfícies lisas, com cantos e arestas arredondadas e ausência de fendas e interstícios; cuidadosa limpeza do local de secagem; secagem adequada do produto de modo que, na embalagem final, a umidade relativa do ar intersticial não exceda 65%, o que corresponde a cerca de 20% de teor de umidade no figo seco (no caso de bananas secas não há dados); no caso de infestações já instaladas, pode-se remover os ácaros através da lavagem das frutas secas com jatos de água a 50°C sob forte pressão (nesta temperatura, a água não provoca elevada mortalidade dos ácaros, mas estimula a sua movimentação, tornando-se provável a remoção).

2.4.3 - CONTAMINAÇÃO DURANTE O PROCESSAMENTO

Nas fábricas, além dos contaminantes advindos das matérias-primas, os alimentos podem ser contaminados por manipuladores e equipamentos utilizados no processamento. Equipamentos que não foram limpos e higienizados adequadamente podem acumular matéria orgânica, que favorece o crescimento de fungos, leveduras e bactérias, que podem contaminar o alimento. O uso e a manutenção incorreta ou deficiente dos equipamentos podem provocar desgastes de materiais e, conseqüentemente, a contaminação dos alimentos com

partículas metálicas ou porções de graxa. Os alimentos também podem ser contaminados se as instalações não forem adequadas, como barracões abertos, janelas desprovidas de telas de proteção e portas que não evitem a entrada de insetos, pássaros e roedores ou se a seleção e lavagem das matérias-primas forem ineficientes.

Um exemplo de contaminação, durante o processamento, é dado por SONNENBLICK, 1950, que considera a superfície da banana madura descascada um substrato muito atrativo para a mosca Drosophila melanogaster, que deposita os ovos que se desenvolvem normalmente na fruta.

Nos países do Mediterrâneo, segundo EDWARDS, 1974, as uvas-passas e groselhas secas são, muitas vezes, espalhadas em pátios ou sobre telhados desprovidos de telas de proteção e secadas ao sol, o que explica a presença de contaminações com pedras, terra, excrementos de roedores e de pássaros. Já nas áreas de secagem da Califórnia e Austrália, onde as áreas de secagem são protegidas de vendavais e tempestades, os frutos estão sujeitos a essas contaminações.

Fibras têxteis, embora não sejam consideradas prejudiciais à saúde, podem ser encontradas ocasionalmente nos produtos acabados. Igualmente pêlos humanos são contaminantes difíceis de ser removidos, mas a utilização de vestuário adequado, como toucas e aventais pode reduzir esta incidência no alimento (PEACE & GARDINER, 1990).

Embalagens de vidro ou lâmpadas posicionadas inadequadamente e desprovidas de proteção podem quebrar-se e contaminar o produto com seus fragmentos, causando sérios danos à saúde, se ingeridos.

SUTHERLAND et al. , 1986, consideram que sabotagem ou contaminação deliberativa do produto podem ocorrer durante o manuseio do alimento. Este tipo de contaminação é um dos mais difíceis de ser eliminado do alimento e potencialmente um dos

mais sérios e pode ser feito por um simples operador de má vontade ou por um grupo deles. Este caso é um indicativo de moral baixa e insatisfação dos trabalhadores, o que pode ser eliminado pela sua participação em programas de qualidade, por exemplo. Exemplos de matérias estranhas advindas de sabotagem variam desde material inócuo como pedaços de papel até materiais repulsivos, como contraceptivos, e perigosos como pregos, clips, vidros, dentre outros. Alguns atos de sabotagem podem ter intenção humorística, como a colocação de brinquedos de plástico em leite engarrafado, mas, assim mesmo, podem levar a direção da fábrica a confrontos com o poder judiciário.

2.4.4 - CONTAMINAÇÃO DURANTE A ESTOCAGEM APÓS O PROCESSAMENTO

Durante a estocagem, após o processamento, insetos e roedores vêm se associando ao homem, causando sérios prejuízos ao competir no consumo dos alimentos e contaminá-los com excrementos (urina e fezes) e pêlos (GORHAM, 1985).

A presença desses roedores em armazéns pode ser detectada por seus excrementos nas paredes, pisos e forros, pegadas e embalagens corroídas. A limpeza adequada e o uso de telas de proteção nas portas e janelas reduzem a incidência destes contaminantes.

Morcegos também podem infestar áreas de estocagem, porém somente quando as medidas de higiene são muito precárias. Seus excrementos são parecidos com os de ratos e camundongos e acumulam-se em pilhas por baixo do local onde estavam empoleirados. A diferenciação pode ser feita pela presença de pêlos e pela grande quantidade de fragmentos de insetos contidos nos seus excrementos (PEACE & GARDINER, 1990).

2.4.5 - CONTAMINAÇÃO DURANTE A DISTRIBUIÇÃO

Durante o transporte, para a distribuição ao varejo e atacado, os alimentos podem sofrer contaminações por insetos, roedores, fungos e materiais de embalagem. Produtos expostos e estocados em pontos de distribuição, juntamente com outros já infestados podem se tornar contaminados.

Como mencionado na contaminação durante a estocagem, as baratas também podem contaminar os alimentos durante a distribuição. Segundo WILLETO (*apud* EBELING, 1991), baratas são atraídas por certos odores de alimentos. Dentre os odores mais atraentes estão o do pão, xarope de refrigerante do tipo cola, cerveja e seu levedo, casca de banana e maçã ou batata fatiada. MIESCH (*apud* EBELING, 1991) observou que as baratas da espécie germânica podem encontrar facilmente qualquer alimento, mesmo que este esteja com odor alterado.

2.4.6 - CONTAMINAÇÃO PELO CONSUMIDOR

A contaminação pelo consumidor também pode ocorrer. PEACE & GARDINER, 1990 também consideram que os alimentos podem ser contaminados pelo consumidor com material estranho, ou por outros agentes de sua casa: os contaminantes comuns são o mofo de outros produtos, pêlos de animais de estimação ou humanos, fragmentos metálicos advindos da abertura das embalagens, fragmentos de madeira, fibras têxteis de vestuário ou toalhas, cerdas de pincéis e insetos que entram no alimento acidentalmente.

2.5 - PRINCÍPIOS GERAIS DE DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS

Com o advento do "Food and Drug Act", nos Estados Unidos, em 1906, e com o intuito de proteger o público contra as práticas e

condições sanitárias inadequadas de manufatura, vários métodos de análise para a detecção de sujidades em alimentos vêm sendo desenvolvidos. Estes métodos têm sido estudados por vários pesquisadores em trabalhos de colaboração e padronizados quanto à confiabilidade e reprodutibilidade das recuperações de fragmentos de insetos, pêlos de roedores e de outros tipos de matérias estranhas. Também são freqüentemente revisados com a finalidade de torná-los mais simples e precisos (HARRIS & KNUDSEN, 1948 e BANDLER et al. , 1984).

EISENBERG, 1968 enumera alguns dos pontos que devem ser levados em consideração no desenvolvimento de novas metodologias, como o aperfeiçoamento da recuperação dos principais elementos de sujidade, a obtenção de resultados reproduzíveis, a redução do tempo de análise, a obtenção de papel de filtro limpo (sem partículas em excesso que possam interferir na observação e identificação microscópica) e a padronização de reagentes, equipamentos e técnicas básicas para o isolamento.

A determinação de matérias estranhas presentes nos alimentos é feita pelo método direto de observação macroscópica ou por meio de métodos de isolamento para a detecção microscópica.

Segundo SMITH (*apud* KRAMER & TWIGG 1970), o método direto de observação macroscópica é empregado quando a contaminação por insetos, roedores, pedras ou outras matérias estranhas pode ser detectada de maneira adequada pelo exame a olho nu. Como exemplo menciona-se a observação de pedras e insetos inteiros em grãos de cereais e frutas secas, insetos em massas alimentícias, fungos em pães e doces.

Certos constituintes solúveis de urina podem ser detectados por métodos microquímicos (teste de urease e teste de xantidol para uréia); substâncias relativamente insolúveis, como o ácido úrico de excremento de aves e insetos, podem ser precipitados com

solução aquosa de ácido nítrico (1:1) e os cristais formados identificados pelo exame microscópico (BOESE & BANDLER, 1990).

Fragmentos de insetos e de pêlos de roedores são detectados por meio de métodos de isolamento e de detecção microscópica. De acordo com KRAMER & TWIGG, 1970, os métodos de isolamento para a detecção microscópica envolvem a, separação das matérias estranhas das partículas de alimento e a recuperação dessas matérias para que possam ser examinadas, identificadas e quantificadas.

Assim, os métodos para a determinação microscópica de matérias estranhas podem ser divididos em 3 partes distintas. 1) Pré-tratamento: a etapa onde as matérias estranhas são liberadas do produto pela lavagem sobre peneiras, dispersão do alimento em água, desengorduramento, ataque das partículas do alimento por enzimas, álcalis ou ácidos. 2) Extração: etapa de separação das sujidades por flutuação ou sedimentação. 3) Recuperação da sujidade pela filtração e exame: etapa executada em papel de filtro e exame microscópico e/ou pesagem.

2.6 - PROCEDIMENTOS BÁSICOS DE ISOLAMENTO PARA A DETECÇÃO MICROSCÓPICA DAS MATÉRIAS ESTRANHAS

A maioria das separações das matérias estranhas é feita por procedimentos básicos que levam em conta os tipos de sujidade e de alimento, os diferenciais de umedecimento pelos reagentes do método, as densidades específicas, tamanho das partículas, aparência e/ou solubilidade do alimento. Os procedimentos para o isolamento das matérias estranhas são: sedimentação, dispersão-solução, flutuação em mistura óleo/água e a filtração, segundo o "Food and Drug Technical Bulletin Administration nº1" (KRAMER & TWIGG, 1970).

2.6.1 - SEDIMENTAÇÃO

A sedimentação é utilizada para a separação de sujidades pesadas, ou seja, quando o contaminante a ser isolado possui densidade específica maior que a do alimento e, principalmente, quando o tamanho da matéria estranha é semelhante ao do alimento. Areia, terra, vidro e outros materiais semelhantes são isolados por sedimentação. A decantação com água ou solvente orgânico de densidade específica adequada é utilizada para separar o material (WINTER, 1971).

Um exemplo deste tipo de separação é o isolamento de fezes de roedores da farinha de milho e da pasta de amendoim. Com solvente de densidade específica ao redor de 1,49, os fragmentos de fezes tendem a sedimentar-se e os do material vegetal a flutuar. Com o aumento da densidade específica do reagente, mais tecido vegetal tende a flutuar, porém arrastando alguns fragmentos de excrementos. É importante, por isso, um balanço perfeito entre a necessidade de flutuar os tecidos vegetais e a crescente possibilidade de perder os fragmentos de excrementos. No método de sedimentação, a fase flutuante deve ser agitada de tempos em tempos para libertar as sujidades da massa de tecidos flutuantes (FAO, 1974).

2.6.2 - DISPERSÃO-SOLUÇÃO

Quando o produto alimentício é solúvel ou parcialmente solúvel em água, o procedimento mais adequado de isolamento de contaminantes é pela dissolução do produto, filtração e coleta do resíduo num papel de filtro para exame. Esse procedimento é adequado, no caso do teor de resíduos insolúveis em água não ser muito grande de modo a interferir no exame microscópico. Esse procedimento é aplicado com sucesso em açúcar, sal, mel, xaropes e balas.

A substituição da água por solvente orgânico adequado, como clorofórmio, éter etílico, tetracloreto de carbono ou mistura dos mesmos em proporções balanceadas, permite a análise de um grande número de alimentos gordurosos de origem animal e vegetal (KRAMER & TWIGG, 1970).

Utilizando-se solução ácida e aquecimento (ebulição ou autoclavagem), ao invés de água, pode-se dispersar e dissolver um número grande de outros alimentos, tais como manteiga, queijos, farinhas e certos produtos compostos de amido (BOESE & BANDLER, 1990). A hidrólise ácida, como testada por HARRIS & KNUDSEN (1948), KURTZ & MC CORMACK (1965), DENT (1972), MILLER (1972), GARDINER & PEACE (1986), WEISS et.al. (1988), ZAMBONI & ATUI (1989), LANDIM (1990) confirmou ser uma das técnicas das mais rápidas e eficazes para remover proteínas e amido do alimento.

A hidrólise de proteínas e amido para o isolamento das matérias estranhas também pode ser feita por reação enzimática. A pancreatina é a enzima mais usada nos métodos para isolamento das matérias estranhas recomendados por BOESE & BANDLER, 1990. Ao contrário do amido cru, o cozido é completamente hidrolisado pela pancreatina e a solução pode ser filtrada por completo em papel de filtro de rápida filtração, para a recuperação das sujidades.

KRAMER & TWIGG, 1970 consideram que o extrato de pâncreas fresco digere gordura e que a pancreatina comercial possui pouca atividade lipolítica. A pancreatina possui pouco ou nenhum efeito na cutícula de insetos, mas digere certas partes de pêlos de roedores.

Raramente é possível isolar completamente as matérias estranhas por meio da digestão enzimática dos alimentos e, uma vez que muito resíduo permaneça, outras técnicas devem ser empregadas em conjunto com a pancreatina. O etileno diamino tetracetato tetrassódico (Na_4EDTA) e outros ácidos aminocarboxílicos seqüestrantes hidrolisam e solubilizam as proteínas. Como a reação

entre as proteínas e enzimas geralmente é muito lenta, utilizam-se as enzimas em combinação com este reagente para uma digestão rápida e completa, como a utilizada no isolamento de matérias estranhas de produtos de queijo (GARDINER & PEACE, 1986).

A maioria dos contaminantes de alimentos pode resistir a tratamentos químicos severos e manter as suas características de identificação. Contudo, no isolamento de sujidades que também tenham pêlos de roedores, o uso de soluções de álcalis fortes, até mesmo concentrações de 1% de NaOH ou KOH com aquecimento, pode dissolvê-los (KRAMER & TWIGG, 1970). Portanto, a utilização desses e de outros álcalis fortes deve ser evitada nas técnicas de dispersão.

BRICKEY & GECAN, 1972 constataram que o fosfato de sódio (Na_3PO_4) utilizado para dispersar o glúten também danifica parcialmente os pêlos de roedores.

KRAMER & TWIGG, 1970 consideram os pêlos mais susceptíveis ao ataque por ácidos do que os outros contaminantes, porém mais resistentes aos ácidos do que aos álcalis. O aquecimento em solução ácida diluída antes da extração, algumas vezes, amolece a superfície externa do pêlo, porém não causa alterações sérias nas estruturas de identificação. Aquecimento prolongado com ácidos deve ser evitado, principalmente antes da extração. Sempre que for necessário o aquecimento com ácido, esse tratamento deve ser o mais breve possível para que a medula do pêlo sofra menos alterações. WEISS et al., 1988 confirmaram que alterações na estrutura dos pêlos de roedores, tornando-os pouco visíveis ao exame microscópico, ocorreram quando isolados de macarrão com solução de HCl a 3% e aquecidos durante 30 minutos a 121°C.

Os fragmentos de insetos não são afetados nem por ácidos nem por álcalis mas o seu aquecimento em solução de hidróxido de sódio a 10%(p/v) durante 5 a 10 minutos pode torná-los mais quebradiços à ação mecânica na agitação e no exame. No procedimento de

insetos não são afetados pelos ácidos como se referiu, mas a carbonização pode ocorrer pelo aquecimento em ebulição prolongada com ácido sulfúrico concentrado (KRAMER & TWIGG, 1970).

COULTER, 1961 testou o ácido clorídrico para diminuir a matéria péctica de produtos de tomate, no isolamento de ovos de Drosophila sp, observando que soluções de 1 e 2%(v/v) causaram redução considerável do resíduo péctico, mas também promoveram a destruição de alguns ovos e a remoção dos filamentos dos ovos remanescentes.

2.6.3 - FLUTUAÇÃO

Observou-se que quando se misturava gasolina a uma solução contendo insetos, fragmentos de insetos e pêlos de roedores, estes flutuavam para a camada superior da gasolina. Os fragmentos de insetos flutuam em óleo, principalmente devido à afinidade da cutícula do inseto com o óleo e não com água. O empuxo exercido sobre os fragmentos de insetos ou pêlos de roedores depende, parcialmente, do peso específico do óleo aderido ao contaminante em relação ao peso específico do meio aquoso, devendo ser selecionado de acordo com a afinidade com a cutícula do inseto ou pêlo.

Os óleos especificados no "Official Methods of Analysis of Association of Analytical Chemists" (BOESE & BANDLER, 1990) são: querosene desodorizado, óleo mineral, heptano, óleo de rícino. O n-heptano e o querosene desodorizado são compostos fluidos e não causam maiores problemas operacionais, em função da baixa viscosidade que apresentam. Já o óleo de rícino caracteriza-se por apresentar alta viscosidade, devendo-se ter cuidado em usá-lo, porque, devido ao alto peso específico, afunda em soluções alcoólicas, o que limita seu uso somente em meio aquoso aquecido (BOESE & BANDLER, 1990 - método nº55.46, ítem B).

No passado, a gasolina livre de contaminação com benzeno e chumbo também era um dos óleos especificados pela AOAC (HORWITZ, 1965). THRASHER & BRICKEY (1969) compararam a recuperação de fragmentos de insetos e pêlos de roedores de produtos alimentícios com a gasolina branca e o n-heptano e recomendaram a substituição da gasolina pelo heptano que era mais eficiente na recuperação e, apresentava composição constante (menos de 8% de tolueno). As gasolinas utilizadas variavam na composição de hidrocarbonetos, dependendo das condições ambientais de uso e da região do país e os hidrocarbonetos aromáticos interferiam na recuperação.

As soluções alcoólicas em água são utilizadas como meio "aquoso" do processo de flutuação. Estas soluções atuam de duas formas: diminuindo o peso específico e a tensão superficial do meio aquoso e, conseqüentemente, proporcionando umedecimento e sedimentação mais rápidos das partículas de alimento.

A adição de surfactantes como o polissorbato-80 (Tween-80) e do sequestrante etileno diamino tetracetato tetrassódico (Na_4EDTA) em soluções alcoólicas tem sido utilizada em vários métodos de determinação de sujidades leves (BOESE & BANDLER, 1990), para prevenir a flutuação indesejável dos constituintes de alimento na fase oleosa. Dados experimentais obtidos por BOESE et al., 1985 comprovaram a eficiência do Tween-80 e do Na_4EDTA , na separação de sujidades leves de folhas de hortelã.

Outros fatores como o pH e o aquecimento devem ser controlados pois podem influenciar na recuperação de fragmentos de insetos. A flutuação em soluções com valores de pH muito baixos ou elevados resulta numa recuperação incompleta, que pode ser parcialmente explicada pela ação emulsificante da maioria dos ácidos e bases.

O aquecimento de alimentos contendo amido ou proteínas em água ou solução alcoólica diluída proporciona o cozimento e/ou gelatinização, o que implica na diminuição da recuperação por

flutuação, tornando, portanto, o seu uso não recomendável. Porém, quando necessário, o aquecimento deve ser feito em solução aquosa de álcool a 60% (BOESE & BANDLER, 1990).

FREEMAN, 1981 desenvolveu a técnica de flutuação em mistura de salmoura saturada e óleo de oliva, em substituição aos solventes caros e tóxicos. Esta técnica baseia-se no aumento do peso específico das partículas do alimento previamente desengordurado, com posterior substituição da água e/ou ar intersticial pelo NaCl da salmoura, de modo que as partículas afundam e a sujidade leve flutua na fase oleosa. A aplicação desta técnica com farinha de milho mostrou uma recuperação média de 95,8% para fragmentos de insetos e 84,3% para pêlos de roedores.

No estudo em colaboração com outros laboratórios, aplicando esta técnica para folhas de sálvia inteiras e moídas, a recuperação média foi de 78,7% para fragmentos de insetos e 92,1% para fragmentos de pêlos de roedores. A baixa recuperação dos fragmentos de insetos se deveu a problemas de aquecimento da solução saturada de NaCl e dissolução da matriz de gelatina, que continha os fragmentos de insetos (FREEMAN, 1985).

Ovos e larvas de moscas e de alguns nematóides sedimentam em sistema de separação por flutuação, ao invés de flutuar como a maioria das sujidades oriundas de insetos. As razões deste comportamento não estão completamente esclarecidas, mas parece que ovos e larvas, quando íntegros, são umedecidas pela água e sedimentam. Certas partes de algumas larvas, tais como os espiráculos, são oleófilos e podem ser isoladas por flutuação (KRAMER & TWIGG, 1970).

Princípio de flutuação tem sido utilizado para a extração e recuperação das sujidades leves, no frasco armadilha de Wildman ou no percolador.

O frasco armadilha de Wildman foi desenvolvido, em meados de 1930, por B.J.Howard e J.D.Wildman, pesquisadores da "Food and Drug Administration", para a determinação de sujidades leves em produtos de tomate. Este frasco consta de um erlenmeyer no qual foi inserida uma rolha de borracha, presa em bastão de metal de 5mm de diâmetro e cerca de 10cm mais comprido que a altura do frasco (bastão de maior diâmetro não é aconselhável porque provoca um maior deslocamento de líquido). O frasco permite a separação da interface entre a fase oleosa e a fase aquosa. A extração é feita quando a rolha é levantada até ao gargalo do frasco, a parte superior (oleosa), contendo as sujidades leves acima da rolha, é coletada e a parte inferior, contendo material constituinte do alimento é descartada (DENT, 1985).

O funil de separação (percolador) foi introduzido em 1970 por J.J. Thrasher, pesquisador da "Food and Drug Administration", para a análise de farinhas e produtos de panificação e caracteriza-se por ser um sistema aberto que permite a fácil drenagem da fase aquosa contendo partículas de alimento e a lavagem da fase oleosa, com a adição cíclica de água e nova separação de partículas de alimentos. O percolador utiliza o mesmo princípio de separação e flutuação que o frasco armadilha de Wildman, permitindo separação das partículas do alimento, previamente hidrolisado, das dos contaminantes (DENT, 1985).

2.6.4 - FILTRAÇÃO

Se uma pequena porção de resíduo de alimento permanecer na fase que se vai recuperar, após a dispersão-solução ou flutuação, as matérias estranhas podem ser facilmente recuperadas e examinadas pela filtração em papel de filtro. Quando o material a ser filtrado é relativamente grande e composto de partículas de tamanho reduzido, recomenda-se que a filtração seja efetuada em funil de Hirsch, a vácuo, em papel de filtro de filtração rápida.

Se o teor de resíduo de alimento for grande e as partículas de sujidades de tamanhos diferentes, é aconselhável a utilização previamente à filtração, de peneiras ou tecidos para a redução deste interferente. O tamanho da abertura da peneira ou a malha do tecido deve ser sempre escolhido em função do tamanho da partícula do alimento e do contaminante, a fim de proporcionar uma boa separação. GECAN & BRICKEY, 1972, constataram que os pêlos curtos de roedores, quando lavados em peneira nº140 passavam facilmente através da malha e eram perdidos. Por este motivo substituíram a peneira nº140 pela nº230. Com a nova peneira, o número de pêlos recuperados aumentou de 86,0% para 94,0% e o coeficiente de variação das repetições da mesma amostra diminuiu significativamente de 12,8 para 4,2.

A maioria dos procedimentos de filtração das matérias estranhas é realizada em papel de filtro de filtração rápida, adquirido já com linhas separadas pela distância de aproximadamente 5 a 10mm ou feitas utilizando-se tintas à prova de água, óleo ou de álcool. Estas linhas servirão de guia para o exame final feito em regra sob microscópio estereoscópico com aumento de 10 a 40 vezes.

Para a contagem de ovos e larvas de moscas pode-se utilizar papel de filtro tingido em cor escura, o que proporciona maior contraste e, conseqüentemente, contagem mais rápida e precisa.

Muitos produtos alimentícios são constituídos por pigmentos escuros, que, ao passarem pelo processo de filtração em papel de filtro, não são eliminados, dificultando a percepção do fragmento de inseto ou de outras sujidades e aumentando o tempo de exame microscópico.

Algumas técnicas de coloração para diferenciar fragmentos de insetos, penas de pássaros e pêlos de roedores de tecidos vegetais foram citadas por STEIN et al., 1968. Com o intuito de facilitar a identificação, métodos analíticos propostos pela "Association of

Official Analytical Chemists" utilizaram hipoclorito de sódio para branquear o produto alimentício. TRHASHER, 1972, ao analisar matérias estranhas em café, comprovou que o tratamento com esse reagente danificou completamente os pêlos de roedores e, por este motivo, substituiu-o por peróxido de hidrogênio, pois, conforme estudos realizados por GECAN & BRICKEY, 1967, o peróxido não danifica os pêlos e branqueia os materiais histológicos presentes.

2.7 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM FRUTAS SECAS

De acordo com DENT, 1985, é importante a utilização de métodos e técnicas de isolamento adequados ao tipo de produto e que foram desenvolvidos e/ou ajustados aos procedimentos oficiais reconhecidos, como, por exemplo, os recomendados pela "Association of Official Analytical Chemists" (BOESE & BANDLER, 1990).

Métodos existentes para algumas frutas secas estão publicados no "Official Methods of Analysis" (BOESE & BANDLER, 1990) e no HPB Methods and Laboratory Procedures of Extraneous Material Analysis for Food" (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADÁ, 1991).

Os primeiros métodos desenvolvidos para o isolamento de sujidades leves em uvas-passas basearam-se na hidratação das frutas em solução de detergente, lavagem em peneiras sobrepostas e transferência do material retido na peneira de menor abertura diretamente para papéis de filtro ou então envolveram a hidratação das frutas em solução detergente e flutuação das sujidades em óleo de rícino. Embora pouca ou nenhuma perda significativa das sujidades fosse esperada por esses procedimentos, todos os métodos promoveram baixas recuperações e quantidades excessivas de tecido da uva no papel de filtro, o que dificultou a detecção e identificação dos elementos contaminantes (GECAN & BRICKEY, 1969).

Como os métodos desenvolvidos posteriormente e os de outras frutas secas não eram apropriados para a uva-passa, pois continuavam a isolar quantidade excessiva de material vegetal, GECAN & BRICKEY, 1969, desenvolveram um novo método. Este método (ver Figura 1) baseia-se no tratamento preliminar com clorofórmio para remover a camada cerosa da superfície da casca, hidratação com água aquecida e aquecimento em banho de vapor; lavagem sobre peneiras sobrepostas para permitir o deslocamento das matérias estranhas da superfície das uvas para a peneira de menor abertura; observação de ovos e larvas de moscas nas frutas danificadas; ataque do material constituinte da uva retido na peneira de menor abertura com ácido clorídrico (reduzindo a quantidade de tecido vegetal sujeito à flutuação); extração das sujidades leves pela flutuação em frasco armadilha com óleo-heptano e meio líquido alcoólico e filtração. Os testes interlaboratoriais mostraram que o método era rápido e fornecia bons resultados de recuperação, reprodutibilidade e papéis de filtro limpos. O método desenvolvido foi proposto à AOAC e tem sido recomendado até o presente momento (BOESE & BANDLER, 1990).

AMOS & EVANS, 1982 desenvolveram um outro método para o isolamento de matérias estranhas de uvas-passas e groselhas secas. Este (ver Figura 1) baseia-se na hidratação da amostra com água aquecida (55-70°C) e corante azul de metileno, com aquecimento em ebulição; lavagem da fruta hidratada sobre peneira, com a coleta da água de lavagem, e descarte do material retido na peneira; extração das sujidades leves e dos ovos e larvas de moscas (na água de lavagem coletada) pela flutuação em funil de separação com fluido líquido Shell X₄ e filtração. O método, quando comparado ao recomendado pela "Association of Official Analytical Chemists" (HORWITZ, 1980) mostrou ser mais rápido, seguro e barato, pois tanto as sujidades leves como os ovos e larvas de mosca foram extraídos na interface óleo-solução alcoólica e não utilizou reagentes considerados perigosos, como o ácido clorídrico e o álcool isopropílico.

O método usado para figos secos e pasta de figo foi proposto por KVENBERG et al., 1975, e baseia-se (ver Figura 1) na hidratação da amostra com água aquecida sob agitação e aquecimento em ebulição; lavagem da fruta hidratada, sobre peneira, com jatos de água aquecida, descartando-se a água de lavagem; extração das sujidades pela flutuação com n-heptano em frasco armadilha de Wildman; filtração e exame. O método permite procedimento opcional de flutuação em percolador, uma vez que um método oficial anterior forneceu papéis de filtro com quantidade excessiva de tecidos da fruta. Esta opção adicional, a flutuação do material vegetal em excesso no percolador reduz o tempo analítico necessário para o exame dos papéis de filtro pela redução do material vegetal, sem causar perda significativa dos fragmentos de insetos, no entender dos autores.

O método de determinação de sujidades leves de tâmaras secas recomendado pelo HPB (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADÁ, 1991) baseia-se (ver Figura 1) na hidratação da amostra com água aquecida sob agitação e aquecimento em ebulição; lavagem da fruta hidratada com jatos de água aquecida sobre peneira (as sujidades ficam concentradas no material retido na peneira); extração das sujidades pela flutuação com heptano em frasco armadilha de Wildman; filtração e exame.

2.8 - IDENTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS CONTAMINANTES

2.8.1 - INSETOS

A identificação dos contaminantes de um alimento, principalmente, fragmentos de insetos, pode ser dificultada quando está recoberto por partículas do produto e/ou quando o fragmento está reduzido a dimensões muito pequenas (WOODBURY, 1983), impossibilitando o reconhecimento dos caracteres taxonômicos (KURTZ & HARRIS, 1955). Os fragmentos identificáveis contribuem

para o conhecimento etiológico da contaminação (PRADO, 1986 e BASTOS & GAZZINELLI, 1992).

De acordo com HEUERMANN & KURTZ, 1955, o conhecimento das características microscópicas morfológicas e histológicas do material analisado e dos insetos é essencial para a diferenciação destes dois tipos de contaminantes.

As partes de insetos ou fragmentos destes encontradas com mais frequência nos alimentos, são antenas, mandíbulas, cutículas, élitros, patas e labros. Portanto, cada parte deve ser estudada com o objetivo de identificar o espécime infestante (VAZQUEZ, 1977). As antenas são formadas por 3 partes distintas: escapo, pedicelo e flagelo. O flagelo é a parte principal para a identificação e classificação das espécies, pois apresenta grande variação na forma de seus segmentos e cada espécie apresenta padrão estrutural característico. KLEIN, 1986 elaborou um guia ilustrado para a identificação rápida de insetos adultos comuns em produtos estocados, baseado nas características morfológicas dos fragmentos dos insetos. O guia fornece, além dos testes para a identificação, informações sobre o nome e hábitos, desenhos ampliados de antenas e mandíbulas.

Trabalhos conduzidos por KURTZ et al. , 1952, mostram que as mandíbulas resistem à fragmentação, no processamento do alimento, devido à sua rigidez, sendo, geralmente, recuperadas intactas e facilmente identificadas no exame microscópico. As mandíbulas apresentam pigmentações escuras e estruturas específicas, que são utilizadas como caráter taxonômico na identificação de espécies de coleópteros (JACKSON et al. , 1958).

PEACE, 1985 utilizou as características estruturais das mandíbulas para a elaboração de uma chave de identificação para 135 espécies, das quais 90% representam insetos de alimentos estocados. Estudos detalhados sobre essas características estruturais foram realizados por KVENBERG, 1981, comparando

mandíbulas de larvas de coleópteros por microscopia óptica e microscopia eletrônica.

A cutícula do inseto possui certas características universais. Uma partícula suspeita pode definitivamente identificar um artrópode, se apresentar uma destas características: a) forma facilmente reconhecível de uma parte inteira ou do pedaço de um apêndice específico e/ou parte do corpo de um artrópode; b) apresentar uma articulação ou uma junta; c) possuir uma ou mais setas, originando-se em uma fosseta; d) apresentar uma ou mais fossetas setais; e) uma ou mais suturas (VAZQUEZ, 1977).

Os élitros possuem células superficiais, com padrões e formas estruturais específicos para cada espécie, que são utilizados na identificação do espécime contaminante (HEUERMANN & KURTZ, 1955).

As patas de insetos adultos raramente estão recobertas por partículas do alimento e são facilmente identificadas, pois são recuperadas com todos os segmentos (coxa, fêmur, tíbia e tarso) ou com alguns deles isoladamente (THRASHER & KURTZ, 1957).

O labro ou lábio superior é uma peça da armadura bucal articulada ao clipeo ou epistoma, pela sutura clipeolabral. Sua forma é bastante variada, podendo ser quadrangular, retangular, bilobada ou triangular (GALLO et al., 1988). Por meio de chave fotomicrográfica do labro, RATTAY et al., 1958 reconheceram 20 espécies de insetos encontrados em farinhas de cereais e derivados. CARSON & MARTINEZ, 1967 descreveram as características das partes bucais de dez espécies de moscas (Aphiochaeta picta Lehm, Drosophila melanogaster Meigen, Euxesta notata Wjedemann, Musca domestica (Linn.), Muscina stabulans Fall., Phaenicia sericata Meigen, Piophilha casei (Linn.), Psychoda alternata Say, Rhagoletis pomonella (Walsh) e Sarcophaga bullata Park) para serem utilizadas como base para a identificação das espécies.

A traça mediterrânea de farinha (Anagasta kuehniella) e a traça de milho (Plodia interpunctella e a Sitotroga cerealella) são espécies cosmopolitas que atacam os alimentos na fase larval, por causa de seus hábitos alimentares e de seus padrões de desenvolvimento e de crescimento. As traças adultas intactas são diferenciadas, pois apresentam estruturas perfeitas e cores distintas (HARRIS, 1960).

A identificação das larvas de traça da ordem Leptoptera, em farinhas e em produtos de padaria, permite conhecer os ciclos e necessidades biológicas da espécie hospedeira do produto e reconstruir a origem da falta de higiene, sabendo em que momento houve a contaminação, se antes, durante ou após o processamento (ENSMINGER, 1958).

JOHNSON et al., 1973, estudaram as propriedades antigênicas de seis insetos comuns (adultos e ovos de Drosophila melanogaster, larvas de traças de Plodia interpunctella, larvas de coleópteros de farinhas de Tribolium confusum, larvas de traças do tabaco de Ephestia elutella, gorgulhos adultos de arroz de Sitophilus oryzae, gorgulhos adultos de armazéns de Sitophilus granarius) envolvidos na contaminação de alimentos. Os dados obtidos mostram que a detecção e identificação destes insetos contaminantes é facilitada pelo imunoensaio.

A identificação e a contagem dos contaminantes provenientes de insetos nem sempre fornecem dados quantitativos relativos à higiene e condições da matéria-prima e/ou produto, mas mostram, como se disse, qualitativamente, a origem da contaminação (SMITH apud KRAMER & TWIGG, 1970). O número de contaminantes encontrado num produto pode ser afetado pela falta de concordância nas contagens entre analistas e pela fragmentação da sujidade. Assim, KITELEY, 1954 observou uma variação de 32 a 855 fragmentos de insetos microscópicos encontrados por libra de farinha branca devido à falta de concordância entre os pesquisadores pela diferença de acuidade visual de cada analista.

WOODBURY, 1983 relata que estudos interlaboratoriais realizados com páprica moída comprovaram que a contagem de fragmentos de insetos variou consideravelmente entre os laboratórios. Isso se devia ao tamanho dos fragmentos, que, ao sofrerem trituração durante o processo de moagem da páprica, ficaram reduzidos em tamanho, tornando-se dificilmente identificáveis, pois variaram de 0,01 a 0,03mm .

Assim, resultados de uma única determinação podem não dar a verdadeira imagem de uma infestação. E o julgamento deve sempre ser baseado em várias ou uma série de contagens representativas do lote de um produto ou das condições de produção.

2.8.2 - EXCREMENTOS E PÊLOS

A identificação de excrementos depositados nos alimentos pode ser útil para se verificar a sua origem, se de roedor ou de inseto. SCOTT & BOROM, 1964 elaboraram um guia para a identificação dos excrementos de roedores dos de baratas pela comparação da forma e do tamanho, além de permitir a identificação do gênero e espécie do contaminador. EIDUSON, 1958 constatou a presença de três espécies de baratas em produtos alimentícios, a germânica (Blatella germânica), a oriental (Blatta orientalis) e a americana (Periplaneta americana) através da identificação dos excrementos depositados no local de processamento e armazenamento dos produtos.

Embora as formas das bolinhas de excrementos de camundongos e de lagartixas domésticas sejam diferentes, por vezes, é impossível ver essas formas; então, a comparação do conteúdo dos excrementos auxilia na sua identificação e diferenciação dos de outros roedores. As fezes do camundongo Suncus murinus apresentam uma grande quantidade de fragmentos de insetos (inclusive partes de baratas) envolvidas por material amorfo escuro, ocasionalmente apresentam pedacinhos de material vegetal, de embalagens de papel

e fibras têxteis e não apresentam pêlos. A ausência de pêlos é uma característica das fezes do Suncus murinus, o que a diferencia das fezes de outros camundongos. As fezes de lagartixas (Gekkonidae) são compostas por fragmentos de insetos fortemente compactados e não apresentam material amorfo entre estes fragmentos. Em contraste com os excrementos de camundongos e outros roedores, os de lagartixa não apresentam a superfície recoberta por material mucoso, porém, possuem um pequeno corpo branco contendo ácido úrico, aderido à extremidade final (OLSEN, 1984).

Ratos e camundongos lambem seus pêlos para a limpeza corporal, sendo que muitos deles são ingeridos e excretados nas fezes (VAZQUEZ, 1961). SMITH, 1958 relata que os pêlos de ratos encontrados em fezes apresentam estruturas alteradas pela ação das enzimas digestivas. Este autor também comprovou que a enzima digestiva pepsina danifica os pêlos com mais intensidade do que a pancreatina. Os pêlos de gatos, coelhos, esquilos e morcegos são afetados pelo processo digestivo, apresentando alterações semelhantes às dos pêlos de ratos.

O laboratório da "Food and Drug Administration" de Los Angeles, segundo OLSEN, 1981 detectou a presença de pêlos de morcegos em várias amostras de produtos importados. A maioria dos pêlos encontrados pertencia à família de morcegos Verperilionidae, dentre os quais estão incluídos os morcegos pequenos marrons (Myotis). Esses pêlos possuem a mesma aparência da penugem de pássaros, como, por exemplo, a do pardal.

Para identificar fezes em alimentos, THRASHER & GECAN, 1981 desenvolveram um teste químico baseado na determinação colorimétrica da fosfatase alcalina presente nas fezes de mamíferos, que, em pH básico, rompe o radical de fosfato da molécula de difosfato de fenolftaleína, produzindo uma cor padrão no meio.

2.9 - IMPLICAÇÕES COM A SAÚDE HUMANA

Embora as matérias estranhas nos alimentos nem sempre estejam relacionadas a problemas de saúde no consumidor, a sua detecção é extremamente importante, como indicativa das condições de higiene da matéria-prima e das práticas utilizadas na produção do alimento.

Os artrópodes causam reações alérgicas na pele e vias respiratórias através das picadas ou pela inalação de substâncias alergênicas, como sucede em dermatites, rinites e asma (GORHAM, 1975). Porém artrópodes que infestam alimentos são vistos como pouco nocivos à saúde humana e, aparentemente, pequenos artrópodes herbívoros não causam sérios riscos à saúde (WIRTZ, 1991), pois rotineiramente ingerimos insetos e seus metabólitos e não apresentamos sintomas de doença (BELL, BURGESS, EICHER, FUCHS e OKAFOR *apud* WIRTZ, 1991). Entretanto, há casos reconhecidos em que o consumo de insetos ou a exposição aos insetos e seus metabólitos apresentam risco à saúde humana, como problemas gastrintestinais causados pela ingestão de determinados artrópodes e sérias inflamações na pele causadas por ácaros (BERTON, FRAZIER, PALMER, TERBUSH, *apud* WIRTZ, 1991). O contato com produtos contaminados por insetos causando alergia ao homem foi comprovado por BERTON & BROWN, 1967, ao realizarem testes cutâneos com extratos de gorgulho do arroz (Sitophilus oryzae), da mosca-de-frutas (Drosophila melanogaster), da traça indiana de farinha de milho (Plodia interpunctella), do besouro-de-grãos (Oryzaephilus surinamensis), do besouro-vermelho de farinhas (Tribolium castaneum), do besouro Tribolium confusum e da broca menor de grão (Rhyzopertha dominica). Esses extratos foram aplicados em indivíduos alérgicos e não alérgicos. Do grupo alérgico, participaram 230 indivíduos, sendo que 69 (30%) reagiram positivamente ao teste. Do grupo não alérgico participaram 194 indivíduos, dos quais 50 (25,8%) apresentaram reações positivas. Os extratos da traça Plodia interpunctella e os do besouro

Tribolium castaneum produziram reações positivas em maior número, tanto nos alérgicos como nos não alérgicos.

WIRTZ, 1991 aponta dois grandes problemas ao determinar se o risco à saúde está associado à ingestão de artrópodes e seus metabólitos: o primeiro deles é quanto à diversidade de artrópodes e de matérias por eles infestados; o segundo é a escassez de pesquisas confiáveis e de dados disponíveis nesta área. Segundo o mesmo autor, as conclusões quanto ao perigo à saúde humana devido à ingestão de artrópodes são influenciadas mais que pela evidência, suposição e considerações estéticas e culturais do que pelos resultados de um experimento bem planejado e executado.

Segundo HOWE, 1965 e BUSVINE (apud WIRTZ, 1991), muitos dos primeiros experimentos foram mal planejados, especialmente os conduzidos com humanos. Muitos dos vários estudos conduzidos com animais, relatados recentemente, embora melhor planejados e executados, apresentam resultados conflitantes e não- conclusivos. Nestes estudos, também tem sido difícil determinar se o efeito nocivo é devido aos artrópodes, aos microrganismos presentes no meio ou a efeitos indiretos como fator nutricional ou perda calórica do produto infestado.

MILLS & PEPPER, 1939 estudaram os efeitos da ingestão do besouro Tribolium confusum em seres humanos. O experimento foi conduzido com uma dieta de cereais matinais infestados por T. confusum. Os autores concluíram que não houve evidência de injúrias causadas ao homem pela ingestão deste coleóptero em cereais matinais.

Baratas estão envolvidas na transmissão de doenças como a salmonelose e a toxoplasmose. KLOWDEN & GREENBERG (apud GORHAM, 1989) observaram que a Salmonella sobrevive por mais de 60 dias em carcaças de baratas mortas e alertam que, se parte desta carcaça infectada contaminar alimentos não pasteurizados como especiarias, cereais matinais e alimentos prontos para consumo, servirão de

rota para a disseminação da Salmonella, podendo causar riscos à saúde humana.

A transmissão de doenças patogênicas está relacionada não só aos insetos, como também às aves, aos morcegos e aos ratos, que, ao disputarem os alimentos com o homem, os deterioram e contaminam com patógenos (PUZZI, 1986 e GORHAM, 1975). Os excrementos de aves podem, às vezes, conter parasitas tal como o esporozoário Toxoplasma gondii que; em alimentos com umidade semelhante às fezes, podem continuar ativos (GORHAM, 1975 e GORHAM, 1985).

EISENBERG, 1985 considera que ratos e camundongos, por seus hábitos indiscriminados de frequentar esgotos e lixos, são uma ameaça constante, como carreadores de doenças como a salmonelose, moniliformíase (Moniliiformes moniliiformes, um acantocéfalo parasita) e a leptospirose (Spirochaeta sp).

Ácaros, baratas e alguns outros insetos disseminam mecanicamente esporos de fungos nos produtos armazenados, contribuindo indiretamente na produção de aflatoxinas, substâncias tidas como cancerígenas para homens e animais. O Aspergillus fumigatus e A. niger, ambos produtores de aflatoxinas, ocorrem como infectantes naturais de certos insetos (WKY et al., 1959; MISRA et al., 1961; AUCAMP, 1969 e RAGUNATHAN, 1974). O besouro-de-farinhas (Tribolium confusum), ao se alimentar com a farinha de trigo, eleva a sua umidade entre 60 a 70%, contribuindo para o desenvolvimento dos fungos Aspergillus glaucus, Aspergillus flavus e Aspergillus candidus.

2.10 - LEGISLAÇÕES E LIMITES EXISTENTES PARA MATÉRIAS ESTRANHAS EM ALIMENTOS

Em 15 dos 16 países europeus não há regulamentos específicos em relação ao conteúdo de sujidades em alimentos. As legislações

proíbem, para todos os alimentos, a presença visível, a olho nu, de insetos, larvas, ovos, excrementos de roedores (MAES, 1966).

2.10.1 - LEGISLAÇÃO AMERICANA

A "Food and Drug Administration FDA", dos Estados Unidos da América, há vários anos, tem dado considerável atenção à presença de matérias estranhas nos alimentos, tendo estabelecido os níveis de defeitos e as ações corretivas para a presença de sujidades a níveis considerados inaceitáveis. Os níveis de defeitos "Defect Act Levels - DALs" são fixados acima de zero, porque a FDA reconhece que não é possível e, provavelmente, nunca será possível plantar em campos abertos, colher e processar vegetais totalmente livres de defeitos naturais, tais como insetos e fungos, especialmente com a tendência atual de se diminuir o uso de pesticidas e substâncias químicas correlatas (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1982). Um dos primeiros níveis de defeitos foi estabelecido em 1911 para fungos em polpa de tomate. Em 1920, foram fixados os primeiros limites para insetos em várias frutas e vegetais. Em 1939, com o desenvolvimento de métodos analíticos novos e mais sensíveis, houve o estabelecimento de limites para fragmentos de insetos, pêlos e fragmentos de pêlos de roedores em vários alimentos. Estes níveis estavam contidos em denominadas "tolerâncias", "tolerância administrativa confidencial", "guias de campo para ação legal" e "guias administrativos". Foram mantidos em sigilo para todos, com exceção dos oficiais da FDA, até 1972, quando foram publicados pela primeira vez como "níveis correntes para defeitos naturais e inevitáveis em alimentos para uso humano, que, presentes, não causam perigo à saúde". Atualmente, são publicados na parte 21 do Código de Regulamentos Federais, 21 CFR 110.99 - Regulamentos de Boas Práticas de Manufatura de Alimentos para Humanos (BANDLER et al., 1984).

O desenvolvimento destes níveis de defeitos e ações é um processo que envolve múltiplos estágios, e os produtos

alimentícios específicos e os defeitos (sujidades) são selecionados; os métodos de análise desenvolvidos; os planos de amostragem delineados, de, acordo com a representatividade e segurança de uma indústria; as amostras coletadas e analisadas e os níveis de sujidades ajustados (BANDLER et al., 1984). Têm sido desenvolvidos e revisados periodicamente para cerca de 100 grupos de produtos diferentes e, aproximadamente, 200 produtos específicos.

2.10.2 - LIMITES DO GOVERNO CANADENSE

O "Health Protection Branch HPB", órgão vinculado ao "Health and Welfare Canada", tem desenvolvido várias diretrizes para avaliar os níveis de matérias estranhas que podem ser encontrados nos alimentos, (HEALTH PROTECTION BRANCH, HEALTH AND WELFARE, 1984). O plano de amostragem de aceitação de 3 classes "ICMSF" (apud PEACE & GARDINER, 1990) é usado para avaliar um lote e determinar se diferentes tipos de sujidades tornam o lote aceitável, marginalmente aceitável ou inaceitável, estabelecendo-se os valores de $\underline{n}$, $\underline{m}$, $\underline{M}$ e $\underline{c}$ para cada produto.

De acordo com a Comissão Internacional em Especificações Microbiológicas para Alimentos - "ICMSF" (apud PEACE & GARDINER, 1990) deve-se estabelecer um $\underline{n}$ (número de unidades analíticas de um lote que devem ser examinadas para satisfazer os requisitos nesse plano de aceitação); $\underline{m}$ (um número que separa qualidade boa da qualidade marginalmente aceitável); $\underline{c}$ (o número máximo marginalmente aceitável em uma amostra individual); e $\underline{M}$ (número acima do qual o produto é inaceitável). Se nenhuma amostra defeituosa for acima de $\underline{m}$, ou se o número de unidades marginais for igual ou menor que $\underline{c}$, o lote é aceitável. Caso contrário, o lote é rejeitado. O lote também é rejeitado quando mais que três espécies de insetos de armazenamento estiverem presentes ou a infestação viva estiver presente. Se vários tipos de sujidades estiverem presentes, ou se o material estranho presente puder

causar danos físicos, doenças ou morte, a situação deve ser julgada.

2.10.3 - LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

No Brasil, as matérias estranhas são consideradas no item "Características Microscópicas", das Normas e Padrões para Alimentos da Resolução nº 12/1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, do Ministério da Saúde, na qual se estabelece o impossível: a ausência de sujidades, parasitos e larvas em muitos tipos de alimentos (BRASIL, 1978).

Já a Portaria nº 01 do DINAL/MS de 04 de abril de 1986 sobre "Características microscópicas de farinhas" permite o limite de 30 fragmentos de insetos em 100 gramas de farinhas e seus derivados (BRASIL, 1986), corrigindo, em parte, a Resolução citada anteriormente. Esta Portaria foi alterada em 04 de agosto de 1994, para 75 fragmentos de insetos em 50g.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. - MATERIAIS

3.1.1. - BANANAS-PASSAS

3.1.1.1. - AMOSTRAS PROCESSADAS EXPERIMENTALMENTE

Bananas "in natura" do gênero Musa cavendish, adquiridas no entreposto CEASA de Campinas, secas em estufa na usina piloto do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), segundo as técnicas recomendadas por TRAVAGLINI, 1978, acondicionadas em saco de polietileno e armazenadas sob refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$).

3.1.1.2. - AMOSTRAS COMERCIAIS

Bananas-passas, de diferentes marcas, secas em estufa, embaladas em pacotes de 200 gramas, sem perfurações, provenientes de fábricas dos Estados da Bahia e de São Paulo.

3.1.2. - ARTRÓPODES

3.1.2.1. - MOSCAS

Moscas, Drosophila melanogaster, cedidas pelo Laboratório de Genética da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), criadas em frasco de vidro com meio de cultura-padrão (Comunicação pessoal do professor Louis Bernard Klaczlo, 1992) para a obtenção de ovos. O meio de cultura consiste de: 100g de ágar; 400ml de mel; 3500ml de H_2O ; 200g de fermento fresco; 400g de fubá; 100ml de solução de Nipagin a 10% em álcool.

3.1.2.2 - COLEÓPTEROS

Coleópteros, Cryptolestes ferrugineus, cedidos pela Seção de Armazenamento do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), criados em frasco de vidro com aveia em flocos, segundo as técnicas de MILLER et al., 1969, para a obtenção de larvas, adultos inteiros e cabeças de adultos.

3.1.2.3 - ÁCAROS

Ácaros, Tyrophagus putrescentiae, detectados em banana-passa de marca comercial e mantidos na banana-passa em frasco de vidro para a obtenção de maior número de exemplares.

3.1.3 - REAGENTES E SOLUÇÕES

- Álcool isopropílico (isopropanol) - p.a.	Merck
- Álcool etílico (etanol) - p.a.	Merck
- Óleo mineral (vaselina líquida)- comercial	Chemco
- n-Heptano (n<8) - p.a.	Merck
- Ácido clorídrico concentrado p.a.	Merck
- Hidróxido de sódio - p.a.	Merck
- Parafenildiamina - p.a.	Merck
- Alfa-amilase	Sigma
- Alfa-amilase (Termamil)	Novo Industri
- Pectinase	Serva

- Celulase Merck
- Alcalase Novo Industri
- Amiloglicosidase Novo Industri
- Ácido cítrico - p.a. Merck
- Fosfato de sódio dibásico Merck
- Solução aquosa de protease a 1%(p/v)
- Solução aquosa de alfa-amilase a 1%(p/v)
- Solução de pectinase a 1%(v/v) em tampão citrato-fosfato a 0,05M e pH=4,2-4,8
- Solução aquosa de celulase a 1%(p/v)
- Solução de hidróxido de sódio 0,3M
- Solução de hidróxido de sódio a 2%(p/v)
- Solução de hidróxido de sódio a 10%(p/v)
- Solução de hidróxido de sódio a 50%(p/v)
- Solução de cloreto de sódio a 15%(p/v)

3.1.4 - EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS

- Peneira nº8, abertura de 2,36mm, equivalente a Tyler nº8 mesh
- Peneira nº10, abertura de 2,00mm, equivalente a Tyler nº9 mesh

- Peneira n^o140, abertura de 0,106mm, equivalente a Tyler n^o150 mesh
- Peneira n^o230, abertura de 0,063mm, equivalente a Tyler n^o250 mesh
- Peneira n^o270, abertura de 0,053mm, equivalente a Tyler n^o270 mesh
- Sistemas de lavagem. Sistemas hidráulicos com água aquecida à temperatura de 55-70°C na forma de jato com uso de aerador: SL1 (Sistema de lavagem 1) com fluxo de 6,4L/min e SL2 (Sistema de lavagem 2) com fluxo de 2,7L/min.
- Microscópio estereoscópico da marca Olympus com aumento de 10X a 30X
- Outras aparelhagens de uso comum em laboratório.

3.2 - MÉTODOS

3.2.1 - DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BANANA PROCESSADA EXPERIMENTALMENTE

Foram feitas as determinações de umidade pelo método do IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985); proteína bruta, segundo o método de Kjeldhal (HORWITZ, 1980); matéria graxa, segundo o método de Stoldt-Weibull (DIEMAIR, 1963); fibra bruta, segundo o método da AOCS-AOAC (HORWITZ, 1980); cinzas, segundo o método da AOAC de n^o31.013 (HORWITZ, 1975) e carboidratos totais calculados por diferença: 100-(umidade+cinzas+proteína+matéria graxa).

3.2.2 - CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DAS AMOSTRAS

A contaminação artificial foi feita adicionando-se 5 coleópteros (Cryptolestes ferrugineus) na forma de adultos inteiros, 5 cabeças e 5 larvas; 10 ovos de moscas (Drosophila melanogaster); 5 ácaros (Tyrophagus putrescentiae); 5 fragmentos de pêlo de roedor de 3mm de comprimento e 5 fragmentos de cabelo humano de 3mm de comprimento, sob microscópio estereoscópico, nas frestas e depressões da superfície das bananas-passas, segundo técnicas recomendadas por BRICKEY et al., 1968 e FREEMAN, 1982.

3.2.3 - AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS USADOS PARA FRUTAS SECAS QUANDO APLICADOS À BANANA-PASSA

Foram estudados, nas bananas passas, os métodos de determinação de matérias estranhas usados para uva-passa, tâmaras e figos secos (Figura 1), sendo que o de uva-passa foi modificado e os demais não.

Os testes foram conduzidos com subamostras de 100g, em duplicata, de banana-passa de marca comercial e de banana-passa processada experimentalmente, para cada método. Para compor os 100g da subamostra de banana-passa comercial, retiraram-se do pacote de 200g, porções de 50g de quadrantes diagonalmente opostos.

Para compor os 100g das subamostras de banana-passa processada experimentalmente, retiraram-se as frutas aleatoriamente da embalagem que as acondicionava.

As subamostras de banana-passa processada experimentalmente foram contaminadas artificialmente segundo o item 3.2.2.

	UVA-PASSA AOAC nº969.42	UVA-PASSA AGVIC
	1- 225g amostra;	1- 400g amostra;
	2- desengordurar c/500ml CHCl ₃ c/aquec.ebulição 10' em b.m.;	2- hidratar c/400ml H ₂ O a 55- 70°C e 0,5ml azul de meti- leno por 10' em ebulição;
	3- decantar CHCl ₃ , reter uvas no béquer e repetir desengordura/o;	3- lavar em pen.nº10 sobreposta ao béquer;
descartar CHCl ₃	4- hidratar as uvas retidas e sujeidades do papel filtro c/700ml H ₂ O 55-70°C em banho vapor por 30';	3.1- descartar as uvas retidas na pen.;
descartar H ₂ O de lavagem.	5- lavar em pen.nº8 sobreposta nº140 c/ H ₂ O a 55-70°C, esfregando uvas c/os dedos;	3.2- transferir as H ₂ O de lavagem p/ funil de separação 500ml graduado;
	5.1- examinar ovos e larvas de moscas nas uvas danificadas retidas na pen.nº8, descartar;	4- adicionar álcool metílico até a conc. do meio atingir 20%;
	5.2- umedecer o resíduo retido pen. nº140 c/isopropanol 25%;	5- juntar 5ml de fluido Shell X ₄ , agitar extrair ± 5mm da fase superior (50ml óleo-água)
	6- transferir o resíduo c/ isop. a 25% p/ frasco de Wildman 2l e completar vol. p/ 1l;	6- filtrar a vácuo
	7- ataque c/70ml HCl, aquec.10' (ebulição) resfriamento p/25°C;	7- examinar ao microscópio estereoscópico sob aumento de 30x e contar as matérias estranhas (leves e ovos e de moscas).
	8- 1ª extração c/40ml mistura de óleo-heptano (1:2);	
	8.1- 2ª extração c/25ml mistura óleo-heptano (1:2)	
9- se pouco resíduo, filtrar 1ª e 2ª extrações;	9- se muito resíduo, lavar em pen. nº230 c/álcool e H ₂ O aquec.	
	9.1- transferir o resíduo p/ béquer c/100ml H ₂ O, adicionar 7ml HCl conc. e aquecer 10min em ebulição;	
	9.2- filtrar;	
	10- examinar ao microscópio estereoscópico sob aumento de 30x e contar as matérias estranhas.	

AOAC = Association of Official Analytical Chemists (BOESE & BANDLER, 1990)

AGVIC = Agricultural Department of Victoria (AMOS & EVANS, 1982)

HPB = Health Protection Branch (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADA, 1991)

FIGURA 1. Fluxogramas dos métodos de determinação de matérias estranhas:

TÂMARAS SECAS
HPB EXFLP-14

FIGOS SECOS
AOAC nº964.23

- 1- 100g amostra
- 2- hidratar c/400ml H₂O a 55-70°C c/aquec.ebulição e agitação por 30';
- 3- lavar em pen.nº140 c/ H₂O a 55-70°C;
- 3.1- descartar H₂O de lavagem;
- 3.2- transferir resíduo retido pen.nº140 c/H₂O a 25°C p/frasco de Wildman 2l e completar vol. p/900ml;
- 4- 1ª extração c/35ml n-heptano;
- 4.1- 2ª extração c/25ml n-heptano;
- 5- filtrar a vácuo 1ª e 2ª extrações;
- 6- examinar ao microscópio estereoscópico sob aumento de 30x e contar as matérias estranhas.

- 1- 100g amostra
- 2- hidratar c/400ml H₂O a 55-70°C c/ aquec.ebulição e agitação por 30';
- 3- lavar em pen.nº140 c/ H₂O a 55-70°C;
- 3.1- descartar H₂O de lavagem;
- 3.2- transferir resíduo retido pen. nº140 c/H₂O a 25°C p/frasco de Wildman 2l e completar vol.p/900ml;
- 4- 1ª extração c/35ml n-heptano;
- 4.1- 2ª extração c/25ml n-heptano;
- 5- se há pouco resíduo nas extrações filtrar a vácuo;
- 5.1- coletar a fase oleosa em béquer;
- 5.2- filtrar a vácuo;
- 6- examinar ao microscópio estereoscópico c/aumento de 30x e contar as matérias estranhas.

(RANCH - CANADA, 1991)

matérias estranhas de frutas secas.

3.2.3.1 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO

Utilizou-se o método nº969.42 da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990), usado para a determinação de sujidades leves de uva-passa, com as seguintes modificações para a banana-passa (Figura 2):

- tomada de amostra de 100g, ao invés de 225g;
- omissão da etapa de desengorduramento;
- hidratação com 400ml de água destilada quente (55-70°C), ao invés de 700ml de água destilada quente;
- lavagem sobre peneira nº10 sobreposta à peneira nº230, ao invés de peneira nº8 sobreposta à nº140;
- agitação da peneira para que todas as faces da banana ficassem expostas ao jato de água, ao invés de esfregar as frutas com os dedos.

3.2.3.2 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO PROPOSTO PELA AGVIC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO

Utilizou-se o método de determinação de matérias estranhas de uva-passa proposto pelo "Department of Agriculture Victoria" da Austrália - AGVIC (AMOS & EVANS, 1982), com as seguintes modificações para a banana-passa (Figura 3):

- tomada de amostra de 100g, ao invés de 400g;
- peneira nº10 sobreposta à peneira nº230 para coletar o resíduo retido juntamente com as matérias estranhas na última peneira, ao invés de usar somente a peneira nº10 sobreposta ao béquer e coletar a água de lavagem;
- adição de 5ml de n-heptano ($n < 8$) como substituto do fluido de marca comercial Shell X₄.

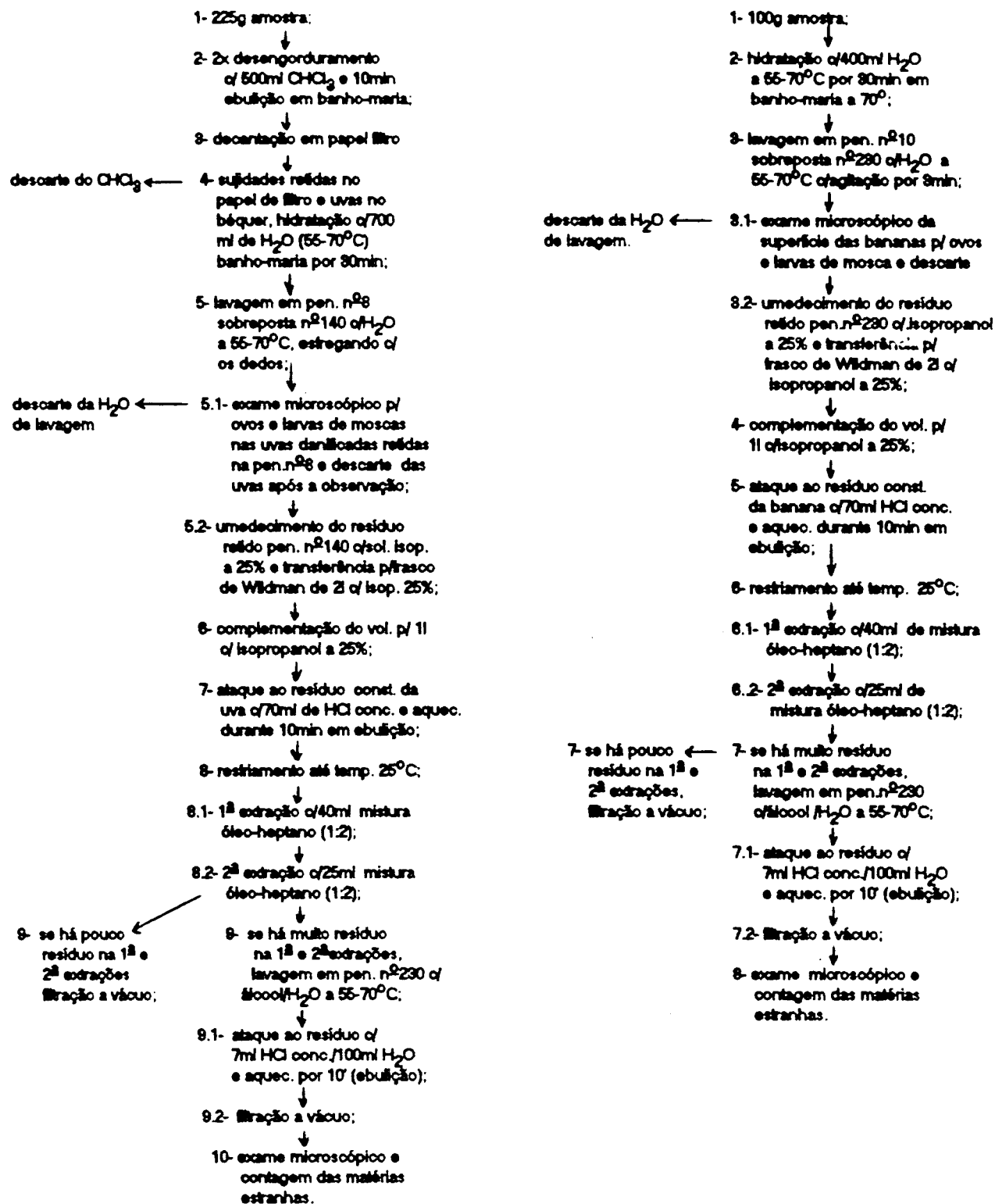


FIGURA 2. Fluxograma do método nº969.42 da AOAC para uva-passa e do modificado para banana-passa.

Método p/ uva-passa AGVIC

Método modificado para banana-passa

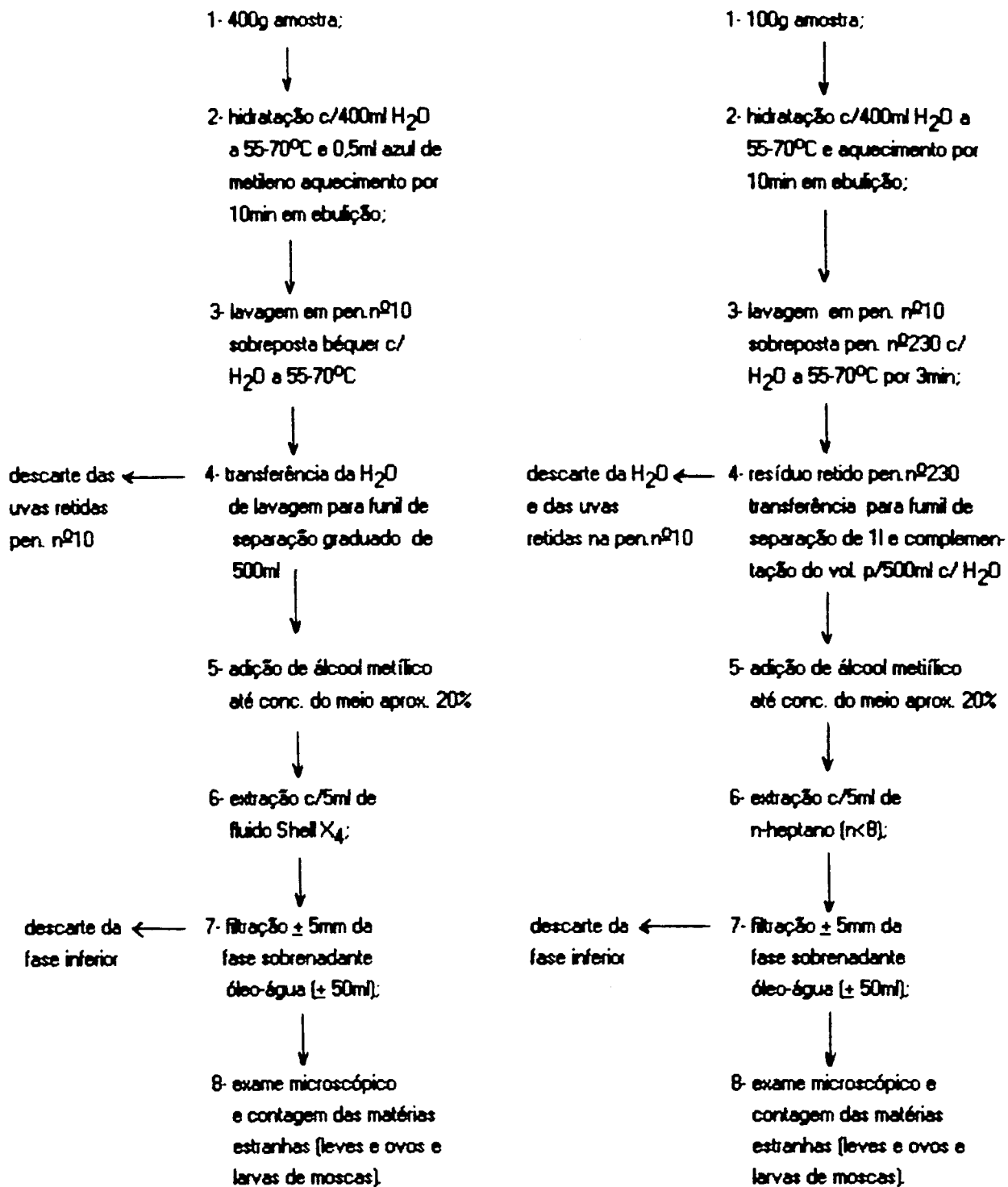


FIGURA 3. Fluxograma do método da AGVIC para uva-passa e do modificado para banana-passa.

3.2.3.3 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELO HPB PARA TÂMARAS SECAS

Utilizou-se o método ExFLP-14 do "Health Protection Branch" HPB (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS-HEALTH PROTECTION BRANCH-CANADÁ, 1991) usado para a determinação de sujidades leves de tâmaras secas, seguindo-se todas as etapas do método sem modificações (Figura 1).

3.2.3.4 - DETERMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA FIGOS SECOS

Utilizou-se o método nº964.23 item B da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990) usado para a determinação de sujidades leves de figos secos, seguindo-se todas as etapas do método sem modificações (Figura 1).

3.2.4 - ESTUDO DA ETAPA DE LAVAGEM DA BANANA POR DOIS SISTEMAS DE LAVAGEM (Figura 4)

Pesaram-se, em béqueres de 1 litro, subamostras de 100g de banana-passa processada experimentalmente, contaminando-as artificialmente conforme o item 3.2.2. Os ovos de Drosophila melanogaster foram corados com solução aquosa de parafenildiamina a 1%(p/v) para facilitar a visualização na recuperação. A lavagem e a recuperação das matérias estranhas foram feitas, em duplicata, de acordo com as seguintes etapas:

1 - hidratação das bananas com 400ml de H₂O aquecida (55-70°C) durante 30 minutos em banho-maria a 70°C;

2 - lavagem com água aquecida obtida nos sistemas de lavagem SL1 e SL2, durante 3 minutos, sobre peneira de nº10 sobreposta à de nº230 de maneira que todas as faces da fruta ficassem expostas à água aquecida (distância de aproximadamente 5cm da superfície da fruta), descartando-se as águas de lavagens;

Etapas do estudo da lavagem

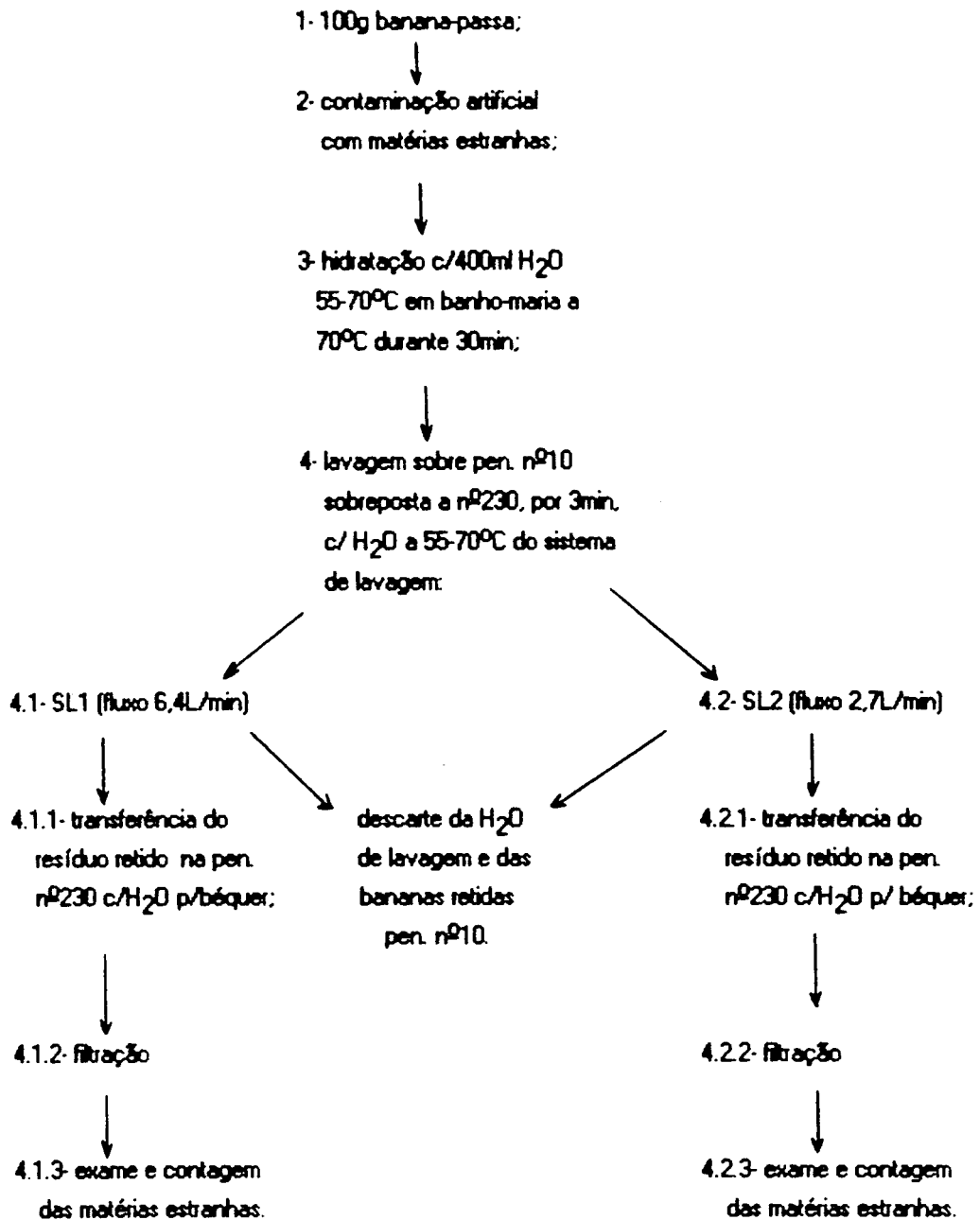


FIGURA 4. Esquema do estudo da etapa de lavagem das bananas-passas por 2 sistemas de lavagem.

3 - descarte das bananas retidas na peneira de nº10 e transferência do material retido na peneira de nº 230, com água aquecida (55-70°C), para béquero de 1l;

4 - filtração em papéis de filtro e exame sob microscópio estereoscópico com aumento de 10-30X, identificando-se e contando-se as matérias estranhas;

3.2.5 - ESTUDO DE DIFERENTES TRATAMENTOS DE ATAQUE AO RESÍDUO CONSTITUINTE DE BANANA

Foram utilizados os resíduos retidos na peneira de nº230, obtidos da etapa de lavagem das subamostras de banana-passa processada experimentalmente e contaminados artificialmente com ovos de Drosophila melanogaster. Todos os testes foram conduzidos em duplicata, avaliando-se sob microscópio estereoscópico a recuperação e aparência dos ovos e a quantidade do resíduo tratado, segundo uma escala de avaliação: nenhuma, pouca, média e muita.

3.2.5.1 - ATAQUE COM ENZIMAS

Pesou-se, em tubos de ensaio de 50ml, 1g de resíduo e contaminou-se artificialmente com 5 ovos de Drosophila melanogaster (Figura 5).

Nos tubos de nº1 ao 4, adicionaram-se as diversas enzimas considerando-se a quantidade suficiente para um tratamento de rompimento celular do produto e no de nº5 de acordo com o método utilizado para a avaliação do teor de fibras em alimentos (PROSKY et al., 1984).

Ao tubo nº1, foram adicionados 10ml de solução de protease a 1%(p/v), agitando-se manualmente e levando-se ao banho-maria a 40°C por 30 minutos.

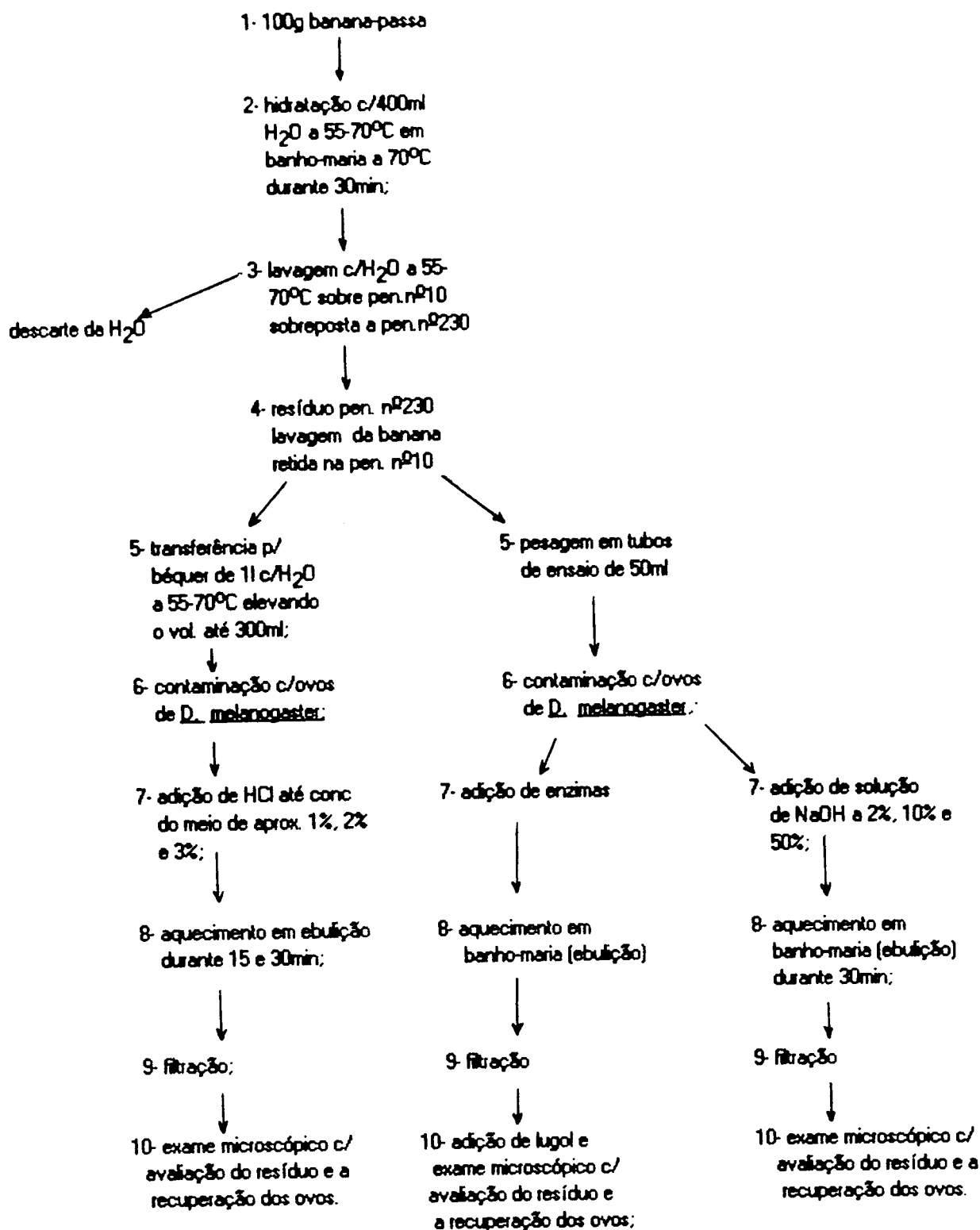


FIGURA 5. Esquema do estudo dos diferentes tratamentos de ataque ao resíduo da lavagem da banana-passa.

Ao tubo n^o2, adicionaram-se 10ml de solução de alfa-amilase a 1%(p/v), agitando-se manualmente, levando-se ao banho-maria a 50°C por 30 minutos.

Ao tubo n^o3, adicionaram-se 10ml de solução de pectinase a 1%(v/v) em tampão citrato fosfato 0,05M pH=4,2-4,8, agitando-se manualmente e levando-se ao banho-maria a 37°C por 30 minutos.

Ao tubo n^o4, adicionaram-se 10ml de solução de celulase a 1%(p/v), agitando-se manualmente e levando-se ao banho-maria a 40°C por 30 minutos.

Ao tubo n^o5, adicionaram-se 25ml de água destilada e 0,1ml de alfa-amilase (Termamil), agitando-se manualmente e levando-se ao banho-maria a 97°C por 30 minutos. A seguir o pH foi corrigido para 7,5 com NaOH a 0,3M e adicionou-se 0,1ml de alcalase, agitando-se manualmente e levando-se ao banho-maria a 60°C por 30 minutos. Finalmente, corrigiu-se o pH para 4,5 com HCl a 0,3N e adicionou-se 1ml de amiloglicosidase, agitando-se e levando-se ao banho-maria a 60°C por 30 minutos (PROSKY et al., 1984).

Após a etapa de aquecimento dos tratamentos filtrou-se o material em papel de filtro. Adicionou-se solução de lugol e procedeu-se à avaliação, conforme descrito no item 3.2.5.

3.2.5.2 - ATAQUE COM HIDRÓXIDO DE SÓDIO

Pesou-se, em tubos de ensaio de 50ml, 1g de resíduo e contaminou-se artificialmente com 5 ovos de Drosophila melanogaster (Figura 5).

Ao tubo n^o1, adicionaram-se 25ml de solução de hidróxido de sódio a 2%(p/v); ao tubo n^o2, 25ml de solução de hidróxido de sódio a 10%(p/v); e ao tubo n^o3, 25ml de solução de hidróxido de sódio a 50%(p/v). Após adição da solução alcalina, agitaram-se manualmente os tubos e levaram-se ao banho-maria a 97°C por 15

minutos, filtrou-se o conteúdo em papéis de filtro e procedeu-se a avaliação conforme descrito no item 3.2.5.

3.2.5.3 - ATAQUE COM ÁCIDO CLORÍDRICO

Transferiram-se, para béqueres de 1 litro, os resíduos das lavagens de subamostras de 100g de banana-passa processada experimentalmente e contaminados com 10 ovos de Drosophila melanogaster (Figura 5). Elevou-se o volume para 300ml com água aquecida (55-70°C), acidificando-se o meio com ácido clorídrico concentrado até se obter nos béqueres n°1 e n°2 a concentração aproximada de 1%, nos béqueres n°3 e n°4 a concentração aproximada de 2%(v/v) e nos béqueres n°5 e n°6 a concentração aproximada de 3%(v/v). Após a acidificação, misturou-se com bastão de vidro o conteúdo de cada béquer durante 1 minuto, cobriu-se o béquer com vidro de relógio e levou-se à chapa de aquecimento, deixando-se em ebulição durante 15 minutos os béqueres de n°1, n°3 e n°5 e durante 30 minutos os de n°2, n°4 e n°6. Filtrou-se o conteúdo em papéis de filtro e avaliou-se conforme descrito no item 3.2.5.

3.2.6 - OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DO TRATAMENTO DO RESÍDUO DE BANANA PASSA COM ÁCIDO CLORÍDRICO

Para a otimização do tratamento de ataque com ácido que apresentou melhores resultados, empregou-se a metodologia de superfície de resposta e aplicou-se o delineamento central composto rotacionável (Figura 6), com quatro pontos fatoriais, (-1, -1), (-1, 1), (1, -1), (1, 1); quatro axiais, (V2, 0), (-V2, 0), (0, V2), (0, -V2) e o ponto central, (0, 0), com 4 repetições, segundo KHURI & CORNELL, 1987.

Os ensaios experimentais foram conduzidos com resíduos das lavagens de sub-amostras de 100g, contaminadas artificialmente com 10 ovos de Drosophila melanogaster, seguindo-se o delineamento de superfície de resposta apresentado na Tabela 5.

Aos dados experimentais obtidos ajustou-se uma equação polinomial de segundo grau, a saber:

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2$$

onde: y = estimativa da percentagem de recuperação de ovos

X_1 = concentração de HCl, X_2 = tempo de tratamento

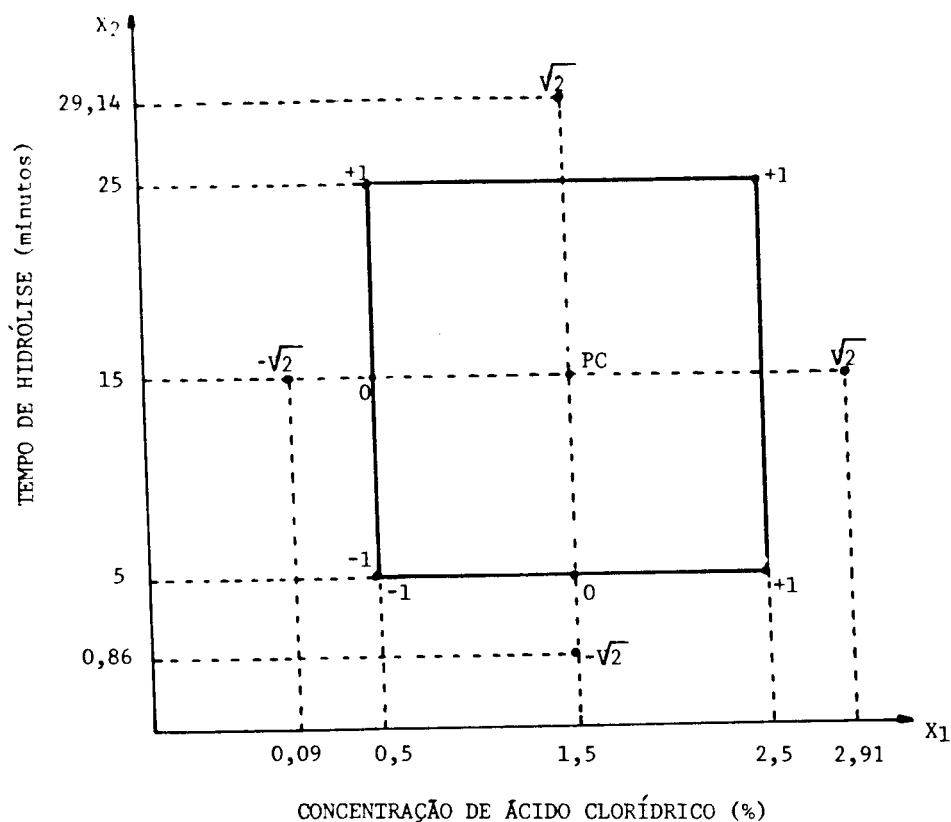


FIGURA 6. Pontos do delineamento central composto rotacionável para duas variáveis.

TABELA 5. Delineamento central composto rotacionável para as variáveis concentração de ácido clorídrico e tempo de aquecimento.

Pontos do delineamento	Variável real		Variável codificada		Ordem de ensaio
	X ₁	X ₂	x ₁	x ₂	
1	0,5	5	- 1	- 1	10
2	0,5	25	- 1	+1	2
3	2,5	5	+1	- 1	1
4	2,5	25	+1	+1	3
5	0,09	15	-√2	0	6
6	2,91	15	+√2	0	7
7	1,5	0,86	0	-√2	8
8	1,5	29,14	0	+√2	12
9	1,5	15	0	0	11
10	1,5	15	0	0	5
11	1,5	15	0	0	4
12	1,5	15	0	0	9

$$x_1 = \text{concentração de ácido clorídrico; } x_1 = \frac{X_1 - 1,5}{-1,0}$$

$$x_2 = \text{tempo de aquecimento; } x_2 = \frac{X_2 - 15}{-10}$$

3.2.7 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO NOVO MÉTODO

3.2.7.1 - AVALIAÇÃO EM BANANAS-PASSAS CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE

A partir do estudo dos itens 3.2.4, 3.2.5 e 3.2.6, definiram-se as etapas de lavagem e de ataque ao resíduo a serem empregadas no método que agora se propõe (Figura 7). A avaliação da recuperação foi realizada com 6 subamostras de 100g de bananas-passas processadas experimentalmente e contaminadas artificialmente, conforme item 3.2.2.

3.2.7.2 - AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE BANANAS-PASSAS DE DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS

Foram coletados 5 pacotes de 200g de bananas-passas provenientes do mesmo lote de produção de 4 marcas diferentes produzidas no Estado da Bahia e de 7 no Estado de São Paulo. De cada pacote retiraram-se 2 subamostras de 100g, conforme item 3.2.3, uma para a determinação das matérias estranhas (leves e ovos e larvas de moscas) pelo novo método descrito na Figura 7 e outra para a determinação de impurezas minerais (teste de areia) segundo o método usado para uva-passa descrito no "Codex Methods of Analysis" (FAO, 1981).

MÉTODO PARA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM BANANAS-PASSAS

AMOSTRA. Pesar em béquer de 1 litro, 100g de amostra.

HIDRATAÇÃO DA AMOSTRA. Adicionar 400ml de água destilada aquecida (55-70°C). Cobrir o béquer com vidro de relógio e levar ao banho-maria a 70°C por 30 min.

LAVAGEM. Despejar as bananas hidratadas, juntamente com a água de hidratação, sobre peneira nº10 sobreposta à de nº230 e, com o auxílio de água aquecida (55-70°C), a uma distância de aproximadamente 5cm da superfície da banana, proceder à lavagem da amostra durante aproximadamente 3min com agitação das peneiras, de modo que todas as faces das frutas fiquem expostas ao jato de água. Descartar as bananas retidas na peneira nº10 e a água de lavagem.

TRATAMENTO DO MATERIAL RETIDO NA PENEIRA Nº230. Transferir o resíduo retido na peneira nº230 para béquer de 1 litro, com o auxílio de água aquecida (55-70°C) e completar o volume para 300ml. Adicionar, em capela, HCl concentrado até a solução atingir 1,5% (v/v) e agitar 1min com bastão de vidro. Ferver durante 16 min.

FILTRAÇÃO. Filtrar, a vácuo, em papéis de filtro S & S nº8 (ou equivalente), enxaguando as paredes do béquer com água destilada.

EXAME E CONTAGEM. Transferir o papel de filtro para placa de Petri, examinar e contar as matérias estranhas (ovos e larvas de moscas, larvas de coleópteros, insetos adultos inteiros, fragmentos de insetos, ácaros, pêlos de roedores, pêlos e cabelos humanos e fios vários) sob microscópio estereoscópico com aumento de 10-30X.

FIGURA 7. Descrição das etapas do método para a determinação de matérias estranhas em bananas-passas.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal média das frutas secas que possuem métodos recomendados para a determinação de matérias estranhas e a composição de banana-passa (Tabela 6), mostram valores de umidade variando de 23,2% (banana-passa) a 18,0% (uva-passa); proteína de 4,3% (figo seco) a 3,7% (banana-passa); matéria graxa de 1,3% (figo seco) a 0,2% (uva-passa); carboidratos totais de 77,4% (uva-passa) a 69,1% (figo seco); fibras de 5,6% (figo seco) a 0,9 (uva-passa) e cinzas de 2,7% (banana-passa) a 1,9% (uva-passa e tâmaras secas). De modo geral todos os produtos se caracterizam por baixo teor de matéria graxa e de proteínas e elevados teores de carboidratos.

A banana-passa, em relação às demais frutas secas, apresenta teores de umidade, proteínas e cinzas dos mais elevados; teor de matéria graxa mais baixo, se comparado ao do figo seco; teores de fibras intermediários entre a uva-passa e a tâmara seca. De modo geral, as composições centesimais são bastante semelhantes entre os diversos produtos, o que possibilita a tentativa de aplicação à banana-passa dos métodos aplicáveis às outras frutas secas.

TABELA 6. Composição centesimal da banana-passa, uva-passa, tâmara seca e figo seco.

Composição						
Produto	Umidade	Proteína bruta	Matéria graxa	Carboidratos Total	Fibra ^a	Cinzas
Banana-passa ^b	23.2	3.7	0.3	70.1	1.5	2.7
Banana-passa ^c	23.0	3.4	0.6	70.5	1.6	2.5
Uva-passa ^d	18.0	2.5	0.2	77.4	0.9	1.9
Tâmara seca ^d	22.5	2.2	0.5	72.9	2.3	1.9
Figo seco ^d	23.0	4.3	1.3	69.1	5.6	2.3

a - teor de fibras computado juntamente com carboidratos totais

b - amostra experimental produzida e analisada no ITAL

c - composição calculada a partir dos dados da banana crua (WATT, 1963).

d - fonte: WATT, 1963.

4.1 - AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS USADOS PARA FRUTAS SECAS QUANDO APLICADOS À BANANA-PASSA

4.1.1 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

Para a aplicação em banana-passa, as modificações no método da AOAC n^o969.42 (BOESE & BANDLER, 1990), Figura 2, foram feitas pelos seguintes motivos: a) utilização de 100g de amostra ao invés de 225g, porque no Brasil é comum os pacotes serem de 200g e também por haver necessidade de se retirar duas subamostras de cada pacote, uma para sujidades leves e outra para as impurezas minerais; b) não desengorduramento da amostra porque a banana-passa é seca sem a casca, portanto, não apresenta camada cerosa como a uva-passa; c) utilização de 400ml de água destilada aquecida ao invés de 700ml, porque a quantidade de amostra era menor e também por analogia aos métodos de tâmaras secas e figos secos, os quais utilizam 100g de amostra e 400ml de água; d) lavagem das bananas hidratadas sobre peneira de n^o10 (abertura de 2,00mm) sobreposta à peneira de n^o230 (abertura de 0,063mm) ao invés de peneira de n^o8 (abertura de 2,36mm) sobreposta à peneira de n^o140 (abertura de 0,106mm), porque a peneira de n^o10 de abertura de malha menor que a n^o8 poderia reter mais material constituinte da banana e a n^o230 poderia reter os pêlos de roedores de menor comprimento, pois, como relatado por PARIS & GECAN (1972), estes passam facilmente através da malha da peneira n^o140; e) agitação das peneiras para que todas as faces da banana ficassem expostas ao jato de água, ao invés de se esfregar as frutas com os dedos, porque, com a agitação, as bananas rolam sobre as malhas da peneira n^o10 sem obstruí-las.

Em bananas processadas experimentalmente e contaminadas artificialmente, os dados de recuperação das matérias estranhas obtidos por este método (Tabela 7) mostram que houve recuperação de 100% de insetos inteiros, de cabeças de insetos e de larvas e

90% de cabelos humanos. Houve recuperação considerada baixa para os demais contaminantes, sendo 50% de ácaros e 60% de pêlos de roedores. Os baixos níveis de recuperação de ácaros e pêlos de roedores poderiam ser explicados pela concentração empregada de ácido clorídrico em meio alcoólico, cerca de 7% (v/v), o que pode ter alterado a superfície do ácaro e facilitando a sua hidratação e conseqüente sedimentação e/ou alterado a sua característica de identificação, a exemplo do que ocorre com os pêlos de roedores que se tornam transparentes e pouco visíveis ao exame (WEISS et al., 1988).

TABELA 7. Recuperação média, em percentagem, de matérias estranhas adicionadas em bananas-passas, aplicando-se os diferentes métodos para frutas secas (em duplicata).

Recuperação média (%)							
Métodos	Insetos adultos inteiros	Cabeças insetos adultos	Larvas	Ovos de mosca <u>D. melanogaster</u>	Ácaros	Pêlos de roedores	Cabelos humanos
AOAC ^a para uva-passa	100	100	100	20 ^e	50	60	90
AGVIC ^b para uva-passa	100	100	50	20 ^e	70	50	90
HPB ^c para tâmaras secas	100	100	30	0	70	10	50
AOAC ^d para figos secos	100	100	10	0	30	50	50

a - método nº969.42 para uva-passa da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990).

b - método para uva-passa do Department of Agriculture Victoria (AMOS & EVANS, 1982).

c - método para tâmaras secas do HPB (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADÁ, 1991).

d - método nº964.23 para figos secos da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990).

e - ovos recuperados pela flutuação

No exame microscópico das bananas retidas na peneira nº10, conforme etapa do método (3.1 da Figura 2), não foram encontrados ovos de mosca, o que sugere que eles tenham sido removidos durante a hidratação e a lavagem. Foram recuperados 20% dos ovos na fase de flutuação, fato não previsto, pois, como já foi descrito por KRAMER & TWIGG, 1970, os ovos afundam em meio aquoso e deveriam ser detectados no sedimento. Isto sugere que a concentração de ácido clorídrico e o meio alcoólico utilizado tenham alterado a estrutura do ovo, promovendo a remoção do córion e alterado a relação entre a densidade do ovo e do meio líquido, promovendo, conseqüentemente, a sua flutuação. Já temos observado, em outras oportunidades, com meio líquido acidificado com cerca de 1%(v/v) de HCl, na análise de geléias de frutas (observações de laboratório) e em goiabadas e marmeladas (FERREIRA *et al.*, 1992), os ovos intatos e/ou sem o córion, com ou sem desenvolvimento de larvas, serem recuperados na fase oleosa.

Conforme esperado, nas análises da banana-passa de uma marca comercial, a facilidade oferecida na execução do método foi semelhante à obtida na análise da subamostra contaminada artificialmente, sendo recuperados, nas amostras comerciais, insetos inteiros, fragmentos de insetos, larvas, pêlos humanos, fios vários e ovos de mosca (Tabela 8).

Desta forma, concluiu-se que a etapa de ataque ao resíduo, pelo uso de solução alcoólica acidificada com 7%(v/v) de HCl, devia ser melhorada.

TABELA 8. Determinação de matérias estranhas de bananas-passas de marca comercial aplicando-se os diferentes métodos de frutas secas (em duplicata).

Métodos	Insetos inteiros	Fragmentos de insetos	Larvas	Ovos de mosca <i>D. melanogaster</i>	Ácaros	Pêlos de roedores	Cabelos humanos	Fios vários
AOAC ^a para uva-passa	1 -	3 5	1 -	6 ^e 6 ^f	- -	- -	1 -	5 11
AGVIC ^b para uva-passa	1 2	6 4	1 -	- -	- 1	1 -	- 1	4 6
HPB ^c para tâmaras secas	- -	4 3	- -	- -	- -	- -	- -	6 5
AOAC ^d para figos secos	- 1	5 4	- 1	- -	- -	- -	1 -	5 5

a - método nº369.42 para uva-passa da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990).

b - método para uva-passa do Department of Agriculture Victoria (AMOS & EVANS, 1982).

c - método para tâmaras secas do HPB (COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADÁ, 1991).

d - método nº364.23 para figos secos da AOAC (BOESE & BANDLER, 1990).

e - 6 ovos sem o córion, sendo 1 com larva

f - 6 ovos sem o córion, sendo 2 com larva

4.1.2 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO PROPOSTO PELA AGVIC PARA UVA-PASSA, MODIFICADO QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

O método proposto pela AGVIC (AMOS & EVANS, 1982) é descrito como mais simples, seguro e de flutuação rápida (Figura 1), quando comparado ao da AOAC, que é o oficialmente recomendado nos Estados Unidos (HORWITZ, 1980 e BOESE & BANDLER, 1990). As razões apontadas por AMOS & EVANS, 1982 são: a) não utilização de reagentes químicos, como clorofórmio, álcool isopropílico e ácido clorídrico, o que o torna mais seguro nas análises nos laboratórios e indústrias; b) uso do corante azul de metileno, que permite maior contraste entre as matérias estranhas e as partículas vegetais que são coradas de azul; c) uso de menor volume de água na lavagem; d) as matérias estranhas, tanto as

leves como os ovos e larvas de moscas são coletadas numa única extração do fluido líquido sobrenadante.

As modificações feitas neste método (Figura 3) e suas razões são: a) uso de 100g de amostra ao invés de 400g, pelas razões citadas no item 4.1.1.; b) substituição da coleta da água de lavagem das bananas-passas sobre peneira de nº10 do método AGVIC pela coleta do resíduo da lavagem da banana-passa sobre peneira de nº10 sobreposta à peneira de nº230, porque a lavagem limitada ao volume de água coletada no béquér é insuficiente para remover as matérias estranhas; c) uso do n-heptano em substituição ao fluido líquido Shell X4 porque não foi encontrado no comércio local.

Pela Tabela 7, verifica-se que, nas amostras contaminadas artificialmente, as recuperações dos insetos inteiros e cabeças de insetos foram de 100% e cabelos humanos de 90%, sendo consideradas boas. A percentagem de recuperação de ácaros por este método foi de 70%, mais elevada que pelo método da AOAC, sendo, contudo, considerada como relativamente baixa. As recuperações de 50% das larvas, 20% dos ovos e 50% dos pêlos de roedores foram consideradas baixas.

As observações mostraram que, neste processo modificado, grande quantidade de material constituinte de banana que passou para a peneira nº230 dificultou, posteriormente, a subida dos ovos para a interface heptano/meio alcoólico e, posteriormente, nos papéis de filtro, a identificação das matérias estranhas foi difícil.

Conforme esperado, nas análises da banana-passa de marca comercial, a facilidade oferecida na execução do método foi semelhante à obtida na análise da subamostra contaminada artificialmente, sendo recuperados, nas amostras comerciais, larva, ácaro, insetos inteiros, fragmentos de insetos, fios vários, pêlos de roedores e humanos (Tabela 8).

4.1.3 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELO HPB PARA TÂMARAS SECAS, QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

Para a análise de bananas-passas, todas as etapas do método do HPB (Figura 1) foram seguidas sem modificações.

Pelos dados obtidos (Tabela 7), observa-se que a recuperação foi de 100% apenas para insetos inteiros e cabeças de insetos. As recuperações das larvas foram da ordem de 30%, dos ácaros de 70%, dos pêlos de roedores de 10%, dos cabelos humanos de 50%, as quais foram consideradas baixas.

Na determinação das matérias estranhas em bananas obtidas no comércio (Tabela 8), a execução mostrou-se idêntica à da banana contaminada.

Visto que, esta metodologia não envolve o uso de reagentes que podem atacar os ovos e pêlos de roedores, a exemplo do método do item 4.1.1., os ovos sedimentaram na fase aquosa do sistema heptano-água.

Observamos que no processo de hidratação (etapa 2, Figura 1), a agitação durante a hidratação promove liberação excessiva das camadas superficiais da banana-passa, que, durante a lavagem, em uma única peneira, ficam retidas juntamente com as matérias estranhas na peneira nº140. Isso prejudica a recuperação das matérias estranhas adicionadas artificialmente, por dificultar o exame, visto que o material vegetal é arrastado à fase oleosa.

4.1.4 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS PELO MÉTODO RECOMENDADO PELA AOAC PARA FIGOS SECOS, QUANDO APLICADO À BANANA-PASSA

Na comparação dos métodos para tâmaras secas e figos secos (Figura 1), observa-se que o método para figo seco oferece uma opção de extração das matérias estranhas em percolador, quando a quantidade de resíduo constituinte da fruta é excessivo, a ponto de prejudicar a observação e contagem. Esta fase envolve a extração em percolador com água à temperatura ambiente, para limpeza ou redução da quantidade de resíduos da fase oleosa, e sua separação e filtração. Pela Tabela 7, observa-se que a recuperação das matérias estranhas foi semelhante àquela obtida pelo método anterior (4.1.3) para tâmaras secas, indicando que a extração opcional em percolador em nada auxilia. O grau de dificuldade apresentado pelo método foi idêntico para a banana-passa contaminada artificialmente e a de marca comercial.

As observações demonstraram que o aquecimento com agitação promove maior dispersão das partículas constituintes da banana, as quais interferem na flutuação e posterior detecção e identificação, mesmo com o procedimento complementar de lavagem em percolador.

4.2 - OTIMIZAÇÃO DE FASES DO TRATAMENTO DA BANANA-PASSA

A aplicação direta dos métodos testados não mostrou ser eficiente no caso da banana-passa, conforme anteriormente discutido, sendo, porém, que algumas das etapas foram selecionadas para a montagem final de um método: amostra analítica de 100g, hidratação com 400ml de água destilada a 55-70°C, lavagem com água aquecida em peneira de nº10 sobreposta a de nº230, tratamento do resíduo retido na peneira de nº230, filtração e exame microscópico. Porém tornou-se necessário melhorar algumas fases.

4.2.1 - FASE DE LAVAGEM DA BANANA COM DOIS SISTEMAS DE LAVAGEM

Na recuperação das matérias estranhas (5 insetos adultos inteiros, 5 cabeças de inseto adulto, 5 larvas, 10 ovos de mosca, 5 ácaros, 5 pêlos de roedores e 5 cabelos humanos) adicionadas artificialmente nas bananas-passas processadas experimentalmente, seguindo-se as etapas esquematizadas na Figura 4, conseguiu-se detectar 100% dos contaminantes pelos dois sistemas de lavagem. Nos dois casos, observou-se que grande quantidade de material constituinte de banana passava para a peneira de nº230 juntamente com as matérias estranhas, sendo necessários 12 papéis de filtro para filtrar todo o material, o que tornou o exame microscópico cansativo e demorado.

Nessa fase de lavagem, concluiu-se que foi indiferente o uso de maior (6,4L/min) ou menor (2,7L/min) fluxo de água aquecida e que havia a necessidade de se tratar o resíduo da banana-passa para simplificar a recuperação e detecção das matérias estranhas, principalmente dos ovos de mosca (Drosophila melanogaster) por serem mais frágeis e terem coloração muito parecida à das partículas de banana.

4.2.2 - FASE DE ATAQUE AO RESÍDUO CONSTITUINTE DA BANANA

4.2.2.1 - ATAQUE COM ENZIMAS

Após o tratamento do resíduo com protease, α amilase, pectinase e celulase observou-se (Tabela 9) que o resíduo constituinte da banana-passa permaneceu quase inalterado e, como consequência, após a filtração, os papéis de filtro apresentaram muito resíduo, amiláceo, já que os testes com lugol foram positivos. Com os tratamentos com α amilase e celulase, os ovos recuperados (60%) não sofreram alteração na sua estrutura externa. Com os tratamentos com protease e pectinase observou-se baixa

recuperação dos ovos (40%) e ligeira alteração na sua aparência, como a perda do córion (quando se usou pectinase) e perda dos filamentos, (quando se usou protease), provavelmente devido ao tempo de aquecimento (30 min) e à ação proteolítica da protease sobre os ovos.

No tratamento com a aplicação sequencial das enzimas α amilase, alcalase e amiloglicosidase, ocorreram digestão do amido (confirmado pelo teste de lugol negativo) e sérias alterações na aparência dos ovos, demonstradas pela remoção do córion do ovo, dando-lhes forma não oval e enrugada, além do intumescimento do resíduo constituinte da banana. Isto dificultou a detecção dos ovos.

Com base nos dados obtidos, podemos concluir que o tratamento utilizando enzimas não se mostrou promissor, uma vez que grande quantidade de resíduo de banana passa permaneceu no papel de filtro.

TABELA 9. Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (*Drosophila melanogaster*) após o ataque do resíduo constituinte da banana-passa com enzimas.

Tubos	Tratamentos (enzimas)	Ovos de mosca recuperados		Resíduo no papel de filtro	Teste com lugol
		%	Aparência		
1	Protease	40	s/filamentos	muito	positivo
2	α amilase	60	não atacados	muito	positivo
3	Pectinase	40	s/córion	muito	positivo
4	Celulase	60	não atacados	muito	positivo
5	α amilase Alcalase Amiloglicosidase	20	s/córion e enrugados	muito	negativo

4.2.2.2 - ATAQUE COM HIDRÓXIDO DE SÓDIO

Nas concentrações de 2%, 10% e 50% de NaOH (Tabela 10), observou-se que não houve um ataque satisfatório ao resíduo constituinte de banana, que as partículas intumesceram e dobraram de volume, adquirindo aparência gelatinosa, o que foi mais intenso quando se empregou a concentração de 50% de NaOH. Nos tratamentos com 2% e 10%, a recuperação dos ovos foi de 100%, porém, a detecção e identificação foi difícil e insegura devido à aparência hialina e enrugada dos ovos, que se confunde com as de partículas de banana-passa. Na concentração de 50% de NaOH houve um ataque mais intenso aos ovos, não tendo sido detectado nenhum dos 5 ovos adicionados.

Pode-se concluir que o emprego de soluções de NaOH nas concentrações e condições estudadas também não foram satisfatórias na recuperação de ovos. KRAMER & TWIGG em 1970 concluíram que a utilização de solução de NaOH nas técnicas de dispersão para o isolamento de sujidades contendo pêlos de roedores não era promissora, uma vez que atacavam aqueles materiais, tornando difícil as suas identificações.

TABELA 10. Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (Drosophila melanogaster) após o ataque do resíduo constituinte da banana-passa com hidróxido de sódio.

Tubos (nº)	Tratamentos conc.NaOH (%)	Resíduo no papel de filtro	Ovos de mosca recuperados	
			%	Aparência
1	2	mu ^{ito} ^a	100 ^b	hialinos e enrugados
2	10	mu ^{ito} ^a	100 ^b	hialinos e enrugados
3	50	mu ^{ito} ^c	0	—

a - gelatinosa

b - difícil identificação

c - partículas muito intumescidas e volumosas.

4.2.2.3 - ATAQUE COM ÁCIDO CLORÍDRICO

Os resultados da recuperação dos ovos de mosca e a observação do ataque ao resíduo são apresentados na Tabela 11.

Os ensaios foram conduzidos somente com ovos de mosca (Drosophila melanogaster), porque os demais contaminantes (insetos, fragmentos de insetos e pêlos de roedores) são resistentes ao ataque de ácidos (KRAMER & TWIGG, 1970).

TABELA 11. Recuperação média e aparência dos ovos de mosca (Drosophila melanogaster) após o ataque do resíduo constituinte da banana-passa com ácido clorídrico.

Tubos (nº)	Tratamentos		Resíduo no papel de filtro	Ovos de mosca recuperados		
	Conc.de HCl (%)	Tempo de ataque (min)		nº	aparência	%
1	1	15	muito	7	não atacados	70
2	1	30	médio	5	não atacados	50
3	2	15	pouco	4 3	não atacados s/córior	70
4	2	30	pouco	2 2	não atacados s/córior	40
5	3	15	pouco	2	não atacados	20
6	3	30	pouco	1	não atacados	10

Observa-se que à concentração de 1% de HCl e aquecimento durante 15 e 30 minutos, houve pouco ataque ao resíduo constituinte da banana, os papéis de filtro apresentaram muita e média quantidade de resíduo e a recuperação dos ovos foi de 70% e 50%, respectivamente.

À concentração de 2% de HCl e aquecimento durante 15 minutos, observaram-se ataque satisfatório ao resíduo constituinte da banana e papéis de filtro com pouco resíduo e alguma alteração na morfologia dos ovos. Dos 10 ovos adicionados, foram recuperados 70%, 4 não atacados (intatos) e 3 sem o córion. Já com 30 minutos de aquecimento, a alteração dos ovos foi mais intensa, pois dos 10 adicionados só foram detectados 2 não atacados e 2 sem o córion, totalizando 40% de recuperação.

No tratamento do resíduo com concentração de 3% de HCl e aquecimento durante 15 e 30 minutos, o ataque ao resíduo constituinte da banana foi satisfatório e os papéis de filtro apresentaram pouco resíduo. Porém, o ataque aos ovos foi mais drástico, resultando em baixas percentagens de recuperação (20 e 10%, respectivamente); sendo que com 15 minutos de tratamento, 2 dos 10 ovos adicionados foram detectados como intatos e com 30 minutos somente 1 ovo intato foi recuperado.

O tratamento com ácido, como foi feito, apresentou resultados promissores quanto ao ataque ao resíduo constituinte da banana, mas a recuperação dos ovos foi insatisfatória, pelo que se tornou necessário procurar melhores parâmetros para aplicação de ácido clorídrico. Assim sendo, delineou-se um experimento para a otimização da concentração e do tempo de ataque ao resíduo constituinte da banana, tendo como limite superior a concentração de 3% de HCl e tempo de 30 minutos, quando houve maior redução do resíduo.

A Tabela 12 apresenta os resultados experimentais da percentagem de recuperação de ovos de mosca obtidos para os diferentes tratamentos, combinações das variáveis concentração de HCl versus tempo de ataque.

TABELA 12. Resultados experimentais do delineamento composto rotacionável, para a recuperação de ovos de mosca (*Drosophila melanogaster*).

Tratamentos	Variável real		Ordem de realização do ensaio	Ovos de mosca recuperados			Resíduo no papel de filtro
	X ₁ conc.HCl (%)	X ₂ tempo (min)		nº	aparência	%	
1	0,5	5	10	3	não atacados	30	muito
2	0,5	25	2	7	não atacados	70	médio
3	2,5	5	1	4	não atacados	40	muito
4	2,5	25	3	1	s/córior	10	pouco
5	0,09	15	6	0	—	0	muito
6	2,91	15	7	3	não atacados	30	pouco
7	1,5	0,86	8	3	não atacados	30	muito
8	1,5	29,14	12	5	s/córior	50	pouco
9	1,5	15	11	9	não atacados	90	pouco
	1,5	15	5	10	não atacados	100	pouco
	1,5	15	4	6 3	não atacados s/córior	90	pouco
	1,5	15	9	9	não atacados	90	pouca

Os tratamentos 1 (0,5% de HCl e 5min.), 3 (2,5% de HCl e 5min.), 5 (0,09% de HCl e 15 min.) e 7 (1,5% de HCl e 0,86min.) mostraram que a concentração de HCl e/ou tempo utilizados não foram suficientes para atacar o resíduo constituinte da banana-passa e fornecer papéis de filtro com pouco resíduo. Conseqüentemente, a recuperação dos ovos foi baixa ou nula (30, 40, 0 e 30%, respectivamente).

O tratamento 2 (0,5% de HCl e 25 min.), que teve tempo de ataque mais prolongado que o do tratamento 1 (0,5% de HCl e 5 min.), promoveu ataque médio ao material constituinte da banana e recuperação mais elevada (70%).

Nos tratamentos 4 (2,5% de HCl e 25min.), 6 (2,91% de HCl e 15min.) e 8 (1,5% de HCl e 29,14min), o ataque ao resíduo constituinte da banana foi satisfatório, resultando em papéis de filtro com pouco resíduo, porém com recuperação de 10 a 50% considerada muito baixa .

As 4 repetições do tratamento 9 (1,5% de HCl e 15min.) apresentaram papéis de filtro com pouco resíduo e percentagens de recuperação, variando de 90 a 100%, que foram consideradas como boas.

A Tabela 13 mostra os resultados da análise de variância aplicada aos dados da Tabela 12, em termos de variável real. A significância ($p < 0,01$) do modelo e a não-significância ($p > 0,01$) da falta de ajuste, aliada ao coeficiente de determinação R^2 igual a 90% indicam que a variação total é explicada adequadamente pela equação polinômial do segundo grau,

$$\hat{Y} = - 87,82 + 134,46X_1 + 10,21X_2 - 36,39X_1^2 - 0,2370X_2^2 - 1,75X_1X_2$$

A derivada primeira de $\hat{Y}$ em relação a X_1 e X_2 leva aos valores de X_1 igual a 1,5% de HCl e de X_2 igual a 16 minutos de tempo de ataque ao resíduo. Por sua vez, a derivada segunda de $\hat{Y}$

em relação a X_1 e X_2 é negativa, indicando que os valores obtidos de X_1 e X_2 são pontos de máximo para a resposta $\hat{Y}$, que é a percentagem de recuperação dos ovos de mosca. A estimativa da resposta $\hat{Y}$ nos pontos X_1 igual a 1,5% e X_2 igual a 16 min é de 93% de recuperação de ovos.

TABELA 13. Análise de variância dos dados de recuperação de ovos de mosca (*Drosophila melanogaster*), TABELA 12, considerando o modelo polinomial de segunda ordem.

FV	GL	SQ	QM	Fo
Modelo	5	11.631,60	2.326,32	93,05 ($p < 0,01$)
Falta de ajuste	3	1.318,42	439,43	17,57 ($p > 0,01$)
(Tratamentos)	(8)	(12.950,02)		
Erro	3	75,00	25,00	
Total	11	13.025,00		

A Figura 8 mostra os contornos da superfície de resposta do modelo polinomial de segundo grau ajustado. Pela figura observa-se que o formato da superfície de resposta é de um morro fatiado e que a zona otimizada ficou no intervalo de 1,2 a 1,7% de HCl e o tempo de ataque de 13 a 18 minutos, com recuperação máxima possível dos ovos à concentração de 1,5% de HCl e tempo de ataque ao resíduo de 16 minutos.

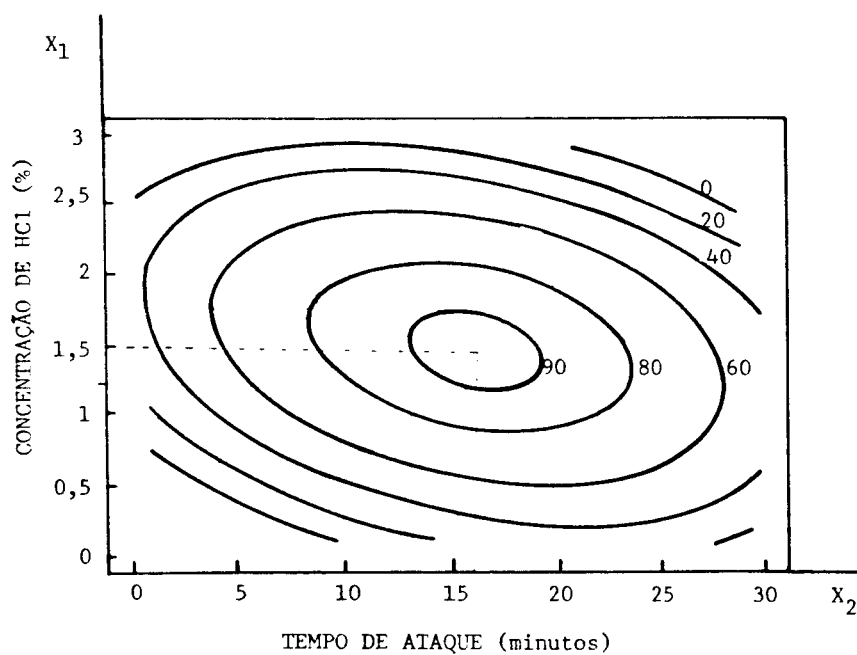


FIGURA 8. Contornos de superfície de resposta relativos ao modelo de resposta ajustada do segundo grau: $\hat{Y} = -87,82 + 134,46X_1 + 10,21X_2 - 36,39X_1^2 - 0,2370X_2^2 - 1,75X_1X_2$. Ponto de máximo: $X_1 = 1,5\%$ de HCl e $X_2 = 16$ min tempo de aquecimento.

4.3 - AVALIAÇÃO DE MÉTODO ESPECÍFICO, AGORA PROPOSTO, PARA BANANAS-PASSAS

Tendo em vista os resultados obtidos na otimização de ataque ao resíduo constituinte da banana com ácido clorídrico, estabeleceu-se um método para a determinação de matérias estranhas de bananas-passas (Figura 7). Aplicado em bananas passas processadas experimentalmente e contaminadas artificialmente obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 14.

As recuperações médias obtidas pela aplicação do método desenvolvido foram de 100% para coleópteros inteiros, larvas, cabeças e cabelos humanos, sendo consideradas muito boas. As nossas recuperações de 93,3% para ácaros e ovos de mosca e de 96,7% para pêlos de roedores (mostradas na Tabela 14) foram consideradas boas, visto que se enquadram dentro dos valores de recuperação média encontrados nos métodos de avaliação de desempenho citadas pela AOAC (GECAN & CICHOWICZ, 1984). Por exemplo, a recuperação média conseguida por TRAUBA, 1981 foi de 95,9% de cabeças de insetos e 97,2% de larvas no método n°44.040 da AOAC de determinação da infestação interna por insetos no trigo e por DENT, 1980 foi de 86% de fragmentos de insetos e 93% de pêlos de roedores no método de n°44.072, de determinação de sujidades leves em aveia e mistura de cereais desidratados.

A recuperação de 93,3% de ovos de mosca (Drosophila melanogaster), obtida com a aplicação do método agora proposto (Tabela 14) confirmou a percentagem de recuperação quando procurávamos a otimização da concentração do ácido e do tempo de ataque (Tabela 12). A recuperação média do método, erro padrão da média igual a $97,6\% \pm 0,8$ e o coeficiente de variação (CV) igual a 5,9% indicam que o método desenvolvido é adequado e tem boa precisão.

Assim, é proposta a metodologia apresentada na FIGURA 7 como aplicável para a determinação de matérias estranhas em bananas-passas.

TABELA 14. Percentagem de recuperação de matérias estranhas adicionadas em bananas-passas processadas experimentalmente.

Matérias estranhas recuperadas (%)							
Repetições	Moscas <u>D. melanogaster</u> ovos	Coleópteros <u>Cryptolestes ferrugineus</u> larvas ins.adult cabeças			Ácaros	Pêlos de roedores	Cabelos humanos
1	90	100	100	100	80	100	100
2	90	100	100	100	80	100	100
3	90	100	100	100	100	100	100
4	100	100	100	100	100	100	100
5	90	100	100	100	100	80	100
6	100	100	100	100	100	100	100
x ± e.p.	93,3±2,1	100±0,0	100±0,0	100±0,0	93,3±4,2	96,7±2,1	100±0,0
Recuperação média do método ± e.p. (n=42)= 97,6±0,8%							
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (C.V) = 5,9%							

Sendo:

x = média das recuperações de 6 repetições

e.p = erro-padrão da média

n = nº de determinações

4.4 - AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE MATÉRIAS ESTRANHAS EM BANANAS-PASSAS DE DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS

Com o método agora proposto, a incidência de matérias estranhas em banana-passa de diferentes marcas provenientes dos Estados da Bahia e de São Paulo é apresentada a seguir (Tabelas 15 a 17).

Quanto à presença de ovos, o grau de contaminação das marcas provenientes da Bahia mostra que uma das marcas comerciais (codificada de B) não apresentou incidência. As amostras das marcas de códigos A e C apresentaram ausência em 4 repetições e em uma repetição, 2 e 3 ovos, respectivamente. A amostra de código D apresentou 1 ovo em duas das amostras analisadas (Tabela 15). Portanto, os limites mínimos e máximos observados para a contaminação com ovos dentre todas as marcas comerciais analisadas variaram de zero para todas as marcas a 3 ovos/100g de amostra para a marca de código C (Tabela 16). Em termos de médias das repetições de cada marca (Figura 9), os valores encontrados para ovos variaram de zero para a marca B a 0,6 ovos/100g de amostra para a marca C.

A incidência de ovos nas amostras de bananas-passas provenientes do Estado de São Paulo mostrou ausência nas marcas G, I e J e a presença de 1 ovo em uma das amostras das de marcas H e K (Tabela 15). A maior incidência de ovos foi observada na amostra de banana passa de marca F, quando todas as 5 amostras analisadas apresentaram ovos, com variação de 1 a 8 ovos por amostra (Tabela 15). A amostra de marca comercial E apresentou duas amostras contaminadas com 1 e 4 ovos. A contaminação máxima observada das médias das repetições de cada marca foi de 4 ovos/100g de amostra para a marca F (Figura 9), o que foge do comportamento geral das demais marcas analisadas, quando a média de contaminação variou de zero nas amostras de marca G, I e J a 1 ovo nas de marca E.

TABELA 15. Incidência de matérias estranhas (nº/100g) em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras diferentes de 4 marcas comerciais de bananas-passas da Bahia (A,B,C,D) e de 7 de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K).

Marcas/repetições	Ovos	Larvas	Insetos inteiros	Fragmentos insetos	Ácaros
A1	0,0	1,0	0,0	12,0	0,0
A2	2,0	1,0 ^a	0,0	14,0	1,0
A3	0,0	2,0	0,0	6,0	0,0
A4	0,0	1,0	0,0	8,0	2,0
A5	0,0	2,0	0,0	7,0	0,0
B1	0,0	1,0	0,0	3,0	0,0
B2	0,0	0,0	0,0	7,0	0,0
B3	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0
B4	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
B5	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
C1	0,0	0,0	0,0	9,0	0,0
C2	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
C3	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
C4	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C5	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0
D1	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
D2	0,0	0,0	0,0	9,0	0,0
D3	1,0	1,0	0,0	2,0	0,0
D4	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0
D5	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0
E1	4,0	0,0	0,0	9,0	0,0
E2	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
E3	1,0	0,0	2,0	11,0	0,0
E4	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0
E5	0,0	0,0	0,0	6,0	0,0
F1	4,0	0,0	0,0	3,0	0,0
F2	8,0	0,0	1,0	6,0	1,0
F3	5,0	0,0	0,0	5,0	0,0
F4	1,0	0,0	1,0	5,0	0,0
F5	2,0	0,0	0,0	7,0	0,0
G1	0,0	0,0	0,0	6,0	0,0
G2	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
G3	0,0	0,0	1,0	7,0	0,0
G4	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0
G5	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
H1	0,0	1,0	2,0	8,0	0,0
H2	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
H3	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0
H4	0,0	0,0	0,0	9,0	0,0
H5	1,0	0,0	1,0	12,0	0,0
I1	0,0	0,0	1,0	8,0	0,0
I2	0,0	1,0	2,0	6,0	0,0
I3	0,0	1,0	1,0	4,0	0,0
I4	0,0	2,0	0,0	3,0	0,0
I5	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
J1	0,0	0,0	2,0	9,0	0,0
J2	0,0	0,0	0,0	11,0	0,0
J3	0,0	0,0	0,0	11,0	0,0
J4	0,0	0,0	1,0	10,0	0,0
J5	0,0	0,0	0,0	8,0	0,0
K1	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
K2	0,0	3,0	0,0	7,0	0,0
K3	1,0	0,0	0,0	8,0	0,0
K4	0,0	0,0	0,0	15,0	0,0
K5	0,0	2,0	0,0	8,0	1,0

a - larva de coleóptero

TABELA 16. Valores extremos de matérias estranhas (nº/100g) observados em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras de bananas-passas de diferentes marcas comerciais provenientes dos Estados da Bahia (A,B,C,D) e de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K).

Matérias estranhas		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Ovos de <i>Drosophila</i> sp	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	2,0	0,0	3,0	1,0	4,0	8,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0
Larvas	min	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	2,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0	0,0	3,0
Insetos inteiros	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0	0,0
Fragmentos de insetos	min	5,0	1,0	0,0	1,0	2,0	3,0	2,0	4,0	3,0	8,0	5,0
	máx	14,0	7,0	9,0	8,0	1,0	7,0	7,0	12,0	8,0	11,0	15,0
Ácaros	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
Fezes de roedores	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0
Pêlos de roedores	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
Pêlos humanos	min	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	máx	1,0	1,0	1,0	2,0	1,0	3,0	1,0	0,0	2,0	1,0	1,0
Fios diversos	min	5,0	5,0	8,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	8,0	5,0
	máx	12,0	8,0	13,0	8,0	8,0	5,0	8,0	7,0	10,0	11,0	12,0
Partículas carbonizadas	min	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0	0,0	6,0	3,0
	máx	0,0	8,0	33,0	5,0	12,0	8,0	10,0	7,0	10,0	15,0	13,0
Impurezas minerais (mg/100g)	min	3,0	0,0	0,5	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,8	0,1
	máx	5,0	2,0	1,8	0,8	0,9	1,8	1,0	2,0	0,6	1,2	0,4

Se compararmos a média de contaminação, por ovos, das diversas marcas de bananas-passas provenientes da Bahia (0,3 ovos/100g) e a média das de São Paulo (0,8 ovos/100g) com o limite de tolerância da FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1984) para a presença de ovos em uva-passa (que é de 35 ovos/225g) podemos concluir que os dados levantados no Brasil são relativamente baixos.

Na determinação da incidência de larvas em bananas-passas provenientes da Bahia, foram observados nas 5 amostras da marca A valores variando de 1 a 2 larvas por 100g e 1 larva em uma das amostras de marcas comerciais B e D. As amostras de marca C não apresentaram larvas (Tabela 15). É interessante salientar que, na banana-passa de marca A, uma das larvas encontradas era de coleóptero e as demais eram de Drosophila sp., o que pode indicar que a principal fonte de contaminação é proveniente de moscas. Os limites mínimos e máximos observados para as diversas marcas variaram de zero a 2 larvas/100g de amostra (Tabela 16), devendo-se levar em conta que a amostra de marca A mostrou-se fora do comportamento das demais marcas, já que apresentou contaminação com larvas em todas as repetições analisadas, com valores mínimos de 1 larva e máximo de 2 larvas, ou valor médio das repetições de 1,4 larvas/100g de amostra (Figura 9).

Nas bananas-passas provenientes do Estado de São Paulo observou-se ausência de larvas nas amostras de marcas E, F, G e J, e a presença de 1 larva em uma das amostras H (Tabela 15). As bananas-passas da marca K apresentaram 1 amostra com 2 larvas e 1 com 3; as de marca I apresentaram 2 amostras com 1 larva e 1 com duas larvas. Os limites mínimos e máximos de contaminação das bananas-passas das diversas marcas analisadas foram de zero e 3, respectivamente (Tabela 16). A contaminação média das repetições de cada marca, por larvas, variou de zero nas bananas-passas de marcas E, F, G e J a 1 larva/100g de amostra na de marca K (Figura 9). A média de contaminação das diversas marcas provenientes de São Paulo foi de 0,3 larvas/100g.

As legislações internacionais não apresentam limites para larvas em frutas secas, o que torna impossível a comparação dos dados obtidos.

As amostras de bananas-passas provenientes da Bahia não apresentaram a incidência de insetos inteiros ao contrário das amostras provenientes de São Paulo (Tabela 15), que não apresentaram incidência em apenas 1 das marcas (K). As bananas-passas de marcas E e G apresentaram apenas 1 amostra contaminada; as de marca F, H e J apresentaram 2 e a de marca I apresentou 3 amostras contaminadas, com limites mínimos e máximos de contaminação que variaram de zero a 2 insetos inteiros, respectivamente (Tabela 16). A contaminação média das repetições de cada marca de banana-passa variou de zero para a de marca K a 0,8 para a de marca I, com média geral de 0,9 insetos inteiros por 100g de amostra.

Comparando-se as médias de insetos inteiros das diversas marcas de bananas-passas provenientes dos Estados da Bahia (0,0/100g) e de São Paulo (0,9/100g) com o limite estipulado para uva-passa pela FDA (de 10 insetos inteiros/225g) observamos que os valores aqui encontrados estão bastante aquém dos preconizados para a uva-passa.

Quanto à presença de fragmentos de insetos nas bananas-passas provenientes dos dois Estados, com exceção de 1 amostra de marca C, todas as demais apresentaram incidência (Tabela 15). Nas diversas marcas de bananas-passas provenientes da Bahia, o limite mínimo de contaminação observado foi de zero e o máximo de 14 fragmentos de insetos/100g de amostra e nas de São Paulo, o limite mínimo foi de 2 e o máximo de 15 fragmentos de insetos/100g de amostra (Tabela 16). A contaminação média (de 5 repetições) por fragmentos de insetos nas marcas provenientes da Bahia variou de 3,2 (marca D) a 9,2 (marca A) com média geral de 4,9 fragmentos de insetos/100g de amostra e nas de São Paulo, as contaminações médias variaram de 4,6 (marca F) a 9,8 (marca J) com 6,7

fragmentos de insetos/100g de amostra como média geral das marcas (Figura 9). As legislações de outros países não estipulam limites para fragmentos de insetos em frutas secas.

Foi observado, nas bananas-passas provenientes da Bahia, que somente 1 das marcas comerciais (A) apresentou contaminação com ácaros. As demais não acusaram a presença de ácaros (Tabela 15). Nas bananas-passas provenientes de São Paulo, somente as de marca F e K apresentaram 1 ácaro em 1 das amostras analisadas. Em termos de média (5 repetições) do número de ácaros presentes nas bananas-passas das diversas marcas comerciais observou-se que para as do Estado da Bahia apenas a marca A apresentou 0,6 ácaros/100g e as marcas F e K de São Paulo apresentaram 0,2 ácaros/100g (Figura 9). A média geral de incidência de ácaros em bananas-passas provenientes dos dois Estados foi de 0,1 ácaro/100g de amostra. A "Food and Drug Administration", não estabelece limite para a presença de ácaros em frutas secas e o HPB do Canadá (HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADA, 1984) estabelece 150 ácaros mortos/100g para a pasta de figo seco.

Quanto à contaminação por roedores, não foi observada a presença de fezes nas bananas-passas provenientes da Bahia e em 6 das de São Paulo, mas a amostra de marca H, de São Paulo, apresentou duas de suas amostras contaminadas, com 1 e 2 fragmentos de fezes/100g de amostra (Tabela 17). A incidência média (5 repetições) de contaminantes de fezes de roedores foi de zero para todas as marcas de bananas-passas provenientes da Bahia e de 0,6/100g para a marca H e zero para as demais marcas provenientes de São Paulo (Figura 10).

TABELA 17. Incidência de matérias estranhas (nº/100g) em 5 repetições (1,2,3,4,5) de amostras diferentes de 4 marcas comerciais de bananas-passas da Bahia (A,B,C,D) e de 7 de São Paulo (E,F,G,H,I,J,K).

Marcas/ repetições	Roedores frag. fezes pêlos		Pêlos humanos	Fios diversos	Partículas carbonizadas	Impurezas minerais (areia - mg/100g)
A1	0.0	0.0	1.0	5.0	0.0	4.0
A2	0.0	0.0	1.0	8.0	0.0	3.0
A3	0.0	0.0	1.0	9.0	0.0	5.0
A4	0.0	0.0	0.0	12.0	0.0	5.0
A5	0.0	1.0	0.0	7.0	0.0	5.0
B1	0.0	1.0	1.0	8.0	3.0	0.0
B2	0.0	0.0	0.0	6.0	6.0	0.0
B3	0.0	0.0	1.0	5.0	5.0	2.0
B4	0.0	0.0	1.0	6.0	6.0	2.0
B5	0.0	0.0	0.0	8.0	8.0	2.0
C1	0.0	0.0	0.0	6.0	33.0	1.4
C2	0.0	1.0	0.0	8.0	15.0	0.6
C3	0.0	0.0	1.0	8.0	22.0	1.8
C4	0.0	2.0	1.0	9.0	0.0	0.5
C5	0.0	0.0	0.0	13.0	14.0	0.5
D1	0.0	1.0	0.0	6.0	5.0	0.2
D2	0.0	0.0	2.0	6.0	5.0	0.8
D3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
D4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2
D5	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.1
E1	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	0.2
E2	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	0.9
E3	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.2
E4	0.0	0.0	0.0	6.0	12.0	0.1
E5	0.0	0.0	1.0	6.0	8.0	0.9
F1	0.0	0.0	3.0	5.0	6.0	1.8
F2	0.0	0.0	0.0	2.0	8.0	0.2
F3	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.2
F4	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.9
F5	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.3
G1	0.0	0.0	1.0	5.0	4.0	0.2
G2	0.0	0.0	1.0	5.0	4.0	0.4
G3	0.0	0.0	0.0	6.0	10.0	0.4
G4	0.0	0.0	0.0	8.0	7.0	0.3
G5	0.0	0.0	0.0	6.0	8.0	1.0
H1	0.0	0.0	0.0	6.0	3.0	1.2
H2	2.0	1.0	0.0	3.0	0.0	2.0
H3	0.0	0.0	0.0	4.0	5.0	1.0
H4	0.0	1.0	0.0	7.0	7.0	0.3
H5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4
I1	0.0	0.0	0.0	8.0	3.0	0.4
I2	0.0	0.0	0.0	6.0	0.0	0.4
I3	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.5
I4	0.0	0.0	0.0	6.0	10.0	0.4
I5	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.6
J1	0.0	0.0	0.0	8.0	15.0	1.2
J2	0.0	0.0	0.0	11.0	11.0	0.9
J3	0.0	0.0	1.0	10.0	10.0	1.0
J4	0.0	0.0	0.0	6.0	10.0	0.8
J5	0.0	0.0	0.0	8.0	6.0	0.9
K1	0.0	0.0	1.0	8.0	3.0	0.1
K2	0.0	0.0	0.0	12.0	5.0	0.4
K3	0.0	0.0	0.0	5.0	13.0	0.2
K4	0.0	0.0	0.0	8.0	13.0	0.2
K5	0.0	0.0	1.0	7.0	9.0	0.1

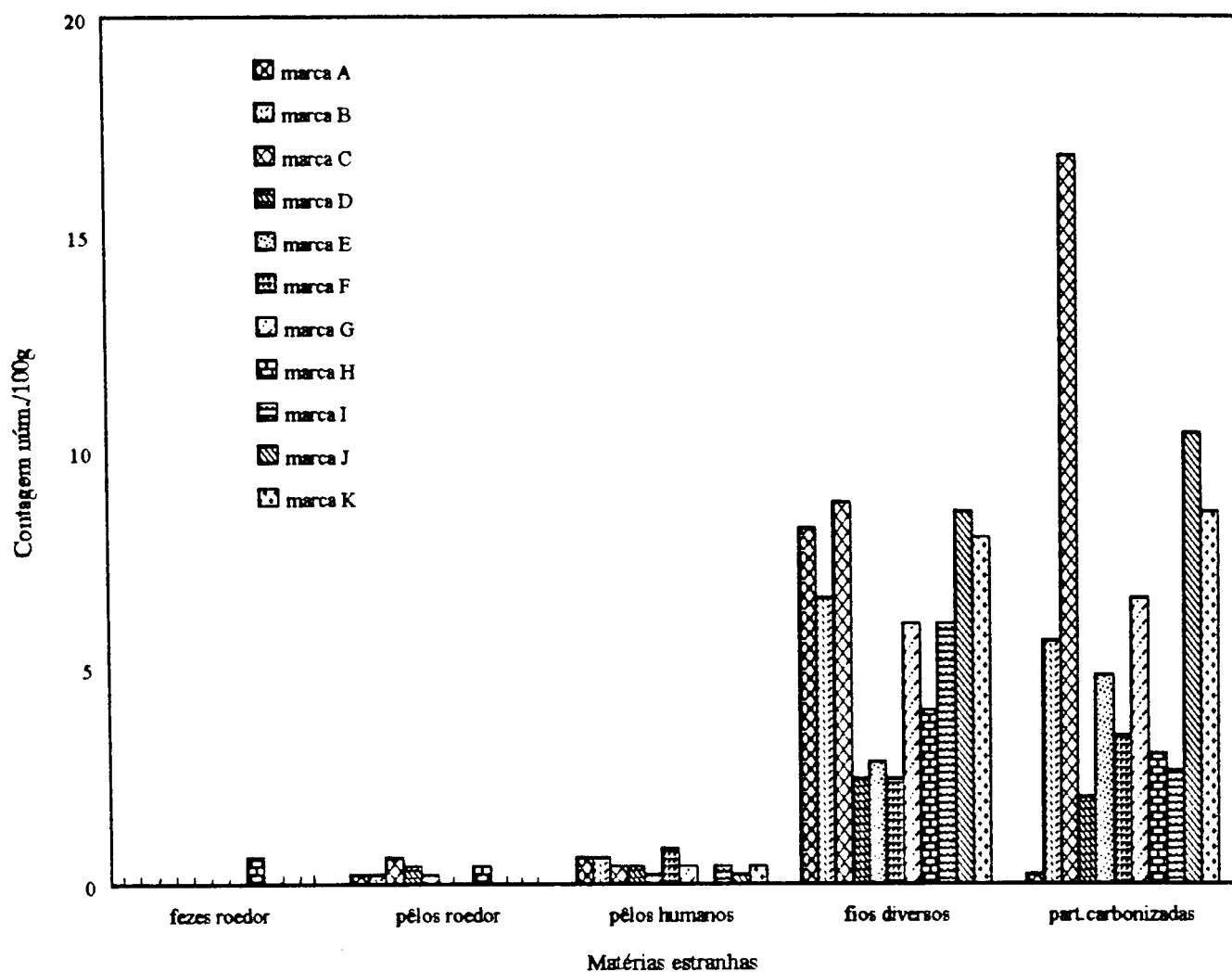


FIGURA 10. Contaminação média (5 repetições) por fezes e pêlos de roedores, pêlos humanos, fios diversos e partículas carbonizadas, em bananas-passas de diferentes marcas provenientes dos Estados da Bahia e São Paulo.

Quanto à incidência de pêlos de roedores, dentre as diversas marcas de bananas-passas provenientes do Estado da Bahia, todas apresentaram incidência com valores que variaram de 1 a 2 pêlos/100g de amostra (Tabela 17). Nas amostras do Estado de São Paulo, duas das 7 marcas comerciais analisadas (E e H) apresentaram incidência de 1 pêlo/100g de amostra (Tabela 17). A incidência média (5 repetições) de pêlos de roedores variou de 0,2 nas bananas-passas de marcas A e B a 0,6 nas de marca C provenientes da Bahia (Figura 10), com média geral igual a 0,3 pêlo/100g de amostra. No Estado de São Paulo, o número médio das repetições de cada marca (Figura 10) foi de 0,2 para a marca E e 0,4 na marca H, com média geral igual a 0,1 pêlo/100g de amostra.

Quanto às determinações de pêlos humanos, com exceção da amostra de marca H proveniente de São Paulo, todas as demais provenientes dos dois Estados estudados apresentaram-se (Tabela 17) com valores variando de 1 a 2 pêlos/100g nas provenientes do Estado da Bahia e de 1 a 3 pêlos/100g nas de São Paulo. A média (das repetições) de contaminação por pêlos humanos (Figura 10) mostra valores de 0,4 (marcas C e D) a 0,6 (marcas A e B) e média geral das diversas marcas provenientes da Bahia de 0,5 pêlo/100g de amostra; nas de São Paulo, as médias (das repetições) por marca comercial variaram de zero (H) a 0,8 (F) com média geral de 0,3 pêlo humano/100g de amostra.

Todas as bananas-passas das diversas marcas comerciais, provenientes dos 2 Estados apresentaram fios diversos (Tabela 17) em números que variaram de 5 a 13 fios/100g de amostra nas do estado da Bahia e de 2 a 12 fios/100g de amostra nas de São Paulo. O número médio (5 repetições) de fios (Figura 10) encontrado em cada marca de bananas-passas da Bahia variou de 2,4 (D) a 8,8 (C) com média geral de 6,5 fios/100g de amostra e nas de São Paulo, o número médio variou de 2,4 (F) a 8,6 (J) com média geral de 5,4 fios/100g de amostra.

A presença de partículas carbonizadas foi observada em 2 das diversas amostras comerciais de bananas-passas provenientes da Bahia com número de incidência que variou de 3 a 33 partículas/100g (Tabela 17). Todas as bananas-passas provenientes de São Paulo apresentaram a presença de partículas carbonizadas a níveis que variaram de 2 a 15 partículas carbonizadas/100g de amostra (Tabela 17), com incidência média (5 repetições) variando de 2,6 (marca I) a 10,4 (marca J) e média geral de 5,6 partículas carbonizadas/100g de amostra.

Foi detectada a presença de impurezas minerais (areia) em todas as bananas-passas provenientes dos dois Estados (Tabela 17) a níveis que variaram de 0,1 (marca D) a 5,0mg/100g de amostra (marca A) nas amostras provenientes da Bahia e de 0,1 para as marcas E e K a 2,0mg/100g (marca H) nas provenientes de São Paulo (Tabela 16). Os valores das médias das repetições por marca comercial de impurezas minerais variaram de 0,4 (D) a 4,4mg/100g (A) para as da Bahia, com média geral de 0,7mg/100g de amostra e nas de São Paulo esses valores médios variaram de 0,2 (K) a 1,0mg/100g de amostra (H e J) com média geral de 0,6mg/100g de amostra. Deve-se observar que esses níveis estão bastante abaixo dos limites estabelecidos no padrão recomendado para uva-passa, pela "Food and Drug Administration" dos Estados Unidos e pelo "Health Protection Branch" do Canadá, que é de 40mg de areia/100g e 0,06% de areia, respectivamente (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1984 e HEALTH PROTECTION BRANCH, HEALTH AND WELFARE - CANADA, 1984).

De modo geral, observamos que a determinação de matérias estranhas nas amostras de marcas comerciais não apresentaram resultados iguais de contagem para as amostras de mesmo lote (Tabelas 15 e 17). Assim, a interpretação conclusiva da contaminação de uma única amostra pode não indicar as condições higiênicas reais do produto, processo, ou indústria, já que a possibilidade de infestação local ou acidental nunca pode ser excluída.

Observamos, que na maioria das vezes as médias das contaminações por matérias estranhas, foram mais elevadas nas amostras provenientes de São Paulo do que nas da Bahia (Figuras 9 e 10), indicando que as condições e práticas de higiene utilizadas para a produção destes produtos no Estado de São Paulo são piores que na Bahia. Se compararmos estes resultados com os limites inexeqüíveis estabelecidos pela legislação brasileira para frutas secas (BRASIL, 1978), que é de ausência de sujidades, parasitos e larvas, todas as diferentes marcas comerciais estariam em desacordo com a legislação. Isto é absurdo, ainda mais em relação ao anteriormente discutido: acurados limites de tolerância para uvas-passas e figos secos da "Food and Drug Administration" e do "Health Protection Branch" do Canadá. Tudo isso mostra que estes limites deveriam ser revistos e adequados a uma realidade não só brasileira como também internacional.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARBOGAST, R.T. Beetles: coleóptera. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Ecology and Management of Food-Industry Pests**. Arlington. AOAC, 1991. p. 131; 142-143; 157. (FDA Technical Bulletin 4).
2. AMOS, T.G. & EVANS, P.W.C. A simple and quick flotation method for isolating insect matter in dried vine fruits. **Food Technology in Australia**, Sidney, **34**(10):462-463, 1982.
3. AUCAMP, J.L. The role of mite vectors in the development of aflatoxin in groundnuts. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, **5**(3):245-249, 1969.
4. BAGGIO, D.; FIGUEIREDO, S.M.; FLECHTMANN, C.H.W.; ZAMBONI, C.Q. & MIRANDA, S.H.G. Avaliação da presença de ácaros em cereais armazenados na grande São Paulo. **Anais da ESA "Luiz de Queiroz"**. Piracicaba, **44**:617-626, 1987.
5. BANDLER, R.; BRICKEY, P.M.; EISENBERG, W.V. Defect action levels in foods. In: BAUR, F.J. (ed.). **Insect Management for Food Storage and Processing**. St. Paul. American Association of Cereal Chemists, 1984. p.329-334.
6. BASTOS, E.M. & GAZZINELLI, J.E. Caracterização microscópica dos fragmentos corporais de pragas de cereais. **Ciência Tecnol.Aliment.**, São Paulo, SBCTA, **12**(2):174-182, jul/dez., 1992.
7. BERTON, H.S.; BROWN, H. Insects as potential sources of ingestant allergens. **Annals of Allergy**, Prospect, Il., **25**:381-387, July, 1967.

5 - CONCLUSÕES

1 - Usando o método desenvolvido neste trabalho, a recuperação média de 97,6% e coeficiente de variação de 5,9% para as matérias estranhas, adicionadas artificialmente nas bananas processadas experimentalmente foram considerados bons. Estes dados permitem concluir que a metodologia desenvolvida é adequada ao produto em estudo.

2 - Na metodologia proposta, a etapa de ataque ao resíduo de banana com 1,5% de HCl durante 16 minutos não provoca alterações nas características de identificação dos contaminantes usados.

3 - Para cinco amostras de um mesmo lote, as incidências não foram iguais, o que mostra que a contaminação não é quantitativamente uniforme no produto e, portanto, é essencial que as análises sejam efetuadas em várias amostras e não em uma única, para se ter idéia da higiene do alimento.

4 - Pela avaliação da contaminação das bananas-passas de marcas comerciais, verifica-se a necessidade de revisão da legislação brasileira no que se refere aos limites de tolerância para matérias estranhas.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARBOGAST, R.T. Beetles: coleóptera. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Ecology and Management of Food-Industry Pests**. Arlington. AOAC, 1991. p. 131; 142-143; 157. (FDA Technical Bulletin 4).
2. AMOS, T.G. & EVANS, P.W.C. A simple and quick flotation method for isolating insect matter in dried vine fruits. **Food Technology in Australia**, Sidney, **34**(10):462-463, 1982.
3. AUCAMP, J.L. The role of mite vectors in the development of aflatoxin in groundnuts. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, **5**(3):245-249, 1969.
4. BAGGIO, D.; FIGUEIREDO, S.M.; FLECHTMANN, C.H.W.; ZAMBONI, C.Q. & MIRANDA, S.H.G. Avaliação da presença de ácaros em cereais armazenados na grande São Paulo. **Anais da ESA "Luiz de Queiroz"**. Piracicaba, **44**:617-626, 1987.
5. BANDLER, R.; BRICKEY, P.M.; EINSENBURG, W.V. Defect action levels in foods. In: BAUR, F.J. (ed.). **Insect Management for Food Storage and Processing**. St. Paul. American Association of Cereal Chemists, 1984. p.329-334.
6. BASTOS, E.M. & GAZZINELLI, J.E. Caracterização microscópica dos fragmentos corporais de pragas de cereais. **Ciência Tecnol. Aliment.**, São Paulo, SBCTA, **12**(2):174-182, jul/dez., 1992.
7. BERTON, H.S.; BROWN, H. Insects as potential sources of ingestant allergens. **Annals of Allergy**, Prospect, Il., **25**:381-387, July, 1967.

8. BOESE, J.L. Mites. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Principles of Food Analysis for Filth, Decomposition and Foreign Matter.** Washington, AOAC/FDA, 1985. p.63-82. (FDA Technical Bulletin 1).
9. -----; NAKASHIMA, M.; GLAZE, L.E. Extraction of light filth from whole peppermint leaves: collaborative study. **JAOAC**, Washington, **68**(4):697-698, 1985.
10. ----- & BANDLER, R. Extraneous Materials: Isolation. In: HELRICH, K. (ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15 ed., Arlington, V.A., AOAC, 1990. v1. p.369-424.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA. **Resolução nº12/78.** Brasília, 1978.
12. -----. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA. Frutas secas ou dessecadas. São Paulo, Diário Oficial do Estado de São Paulo, 1978. 1p. (**Decreto nº12.486**, Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas, NTA 19).
13. -----. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA. Frutas secas ou dessecadas. São Paulo, Diário Oficial do Estado de São Paulo, 1978. 1p. (**Decreto nº12.486**, Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas, NTA 19).
14. -----. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL). **Portaria nº 1 de 4 de abril de 1986.** Brasília, 1986.

15. BRICKEY, P.M., GECAN, J.S.; THRASHER, J.J. & EISENBERG, W.V.
Notes on microanalytical techniques in the analysis of food for extraneous materials. **JAOAC**, Washington, **51**(4):872-876, 1968.
16. ----- & GECAN, J.S. Collaborative study of a method for the extraction of light filth from wheat gluten. **JAOAC**, Washington, **55**(1):64-65, 1972.
17. CAIXETA FILHO, J.V. & JANK, M.S. **Identificação do Potencial de oferta exportável de produtos hortigranjeiros selecionados.** Relatório de Pesquisa. Piracicaba, USP/ESALQ Departamento de Economia e Sociologia Rural, 1990. p.21-36; 105-120.
18. CAMPOS, S.D.S. & BARBIERI, M.K. Determinação de impurezas minerais em palmito em conserva com vistas ao padrão do "CODEX ALIMENTARIUS". **Coletânea do ITAL**, Campinas, **19**(2):129-133, jul/dez., 1989.
19. CARSON, N.A. & MARTINEZ, E.F. Entomology: fly identification by the morphology of the head and head appendages. **JAOAC**, Washington, **50**(5):1146-1193, 1967.
20. CARVALHO, J.C. & CORRÊA, M.O.A. A ocorrência de nematóides em massa de tomate. **Revista do IAL**, São Paulo, **13**:37-43, 1953.
21. COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS - HEALTH PROTECTION BRANCH - CANADA. HPB Methods and Laboratory Procedures of Extraneous Material Analysis for Food. Montreal, Polyscience Publications Inc., 1991. v4.
22. COMÉRCIO EXTERIOR DO BRASIL: **Exportação**. Rio de Janeiro, Banco do Brasil, CACEX, 1985-1988.

23. ----- . **Exportação**. Rio de Janeiro, Ministério da Economia e Planejamento, DECEX, 1989-1991.
24. COULTER, E.W. Determination of filth in tomatoes and tomato products. **JAOAC**, Washington, **44**(2):339-342, 1961.
25. DECANIO, M.G. Infestação de produtos alimentícios nas fontes de produção e durante o armazenamento. Um método para a pesquisa microscópica de sujidades e impurezas. **Revista do IAL**, São Paulo, **31**:31-37, 1971.
26. DENT, R.G. Collaborative study of a method for the extraction of light filth from canned fish. **JAOAC**, Washington, **55**(1): 69-70, 1972.
27. ----- . Extraction of light filth from barley, oatmeal and mixed dry infant cereals, collaborative study. **JAOAC**, Washington, **63**(2):187-188, 1980.
28. ----- . Elements of filth detection. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Principles of Food Analysis for Filth, Decomposition and Foreign Matter**. Washington, AOAC/FDA, 1985. p.173-180. (FDA Technical Bulletin 1).
29. DIEMAIR, W. **Laboratoriumsbuch für Lebensmittelchemiker**. Verlag Von Theodor Steinkopff, Dresden. 8 Auflage, 1963.
30. EBELING, W. Ecological and behavioral aspects of cockroach management. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Ecology and Management of Food-Industry Pests**. Arlington, V.A., AOAC, 1991. p.95-97.
31. EDWARDS, G.H. Clean Food. **Food Technology in New Zealand**, Auckland, **9**(3):13;15;17;19, 1974.

32. EIDUSON, H.P. Cockroaches and their fragments as food contaminants. **JAOAC**, Washington, **41**(4):860-898, 1958.
33. EISENBERG, W.V. Extraneous materials in foods: regulatory methods & product control. **Cereal Science Today**, St. Paul, Minnesota, **13**(6):228-229,232, 1968.
34. -----. Sources of food contaminantes. In: GORHAM, J.R. **Principles of Food Analysis for Filth, Decomposition and Foreign Matter**. 2 ed. Washington, DC., FDA, 1985. p.11-25 (FDA Technical Bulletin, 1).
35. ENDLEIN, M.U. & FLECHTMANN, C.H.W. Ocorrência de **Carpoglyphus lactis** (L.,1758) (Acari Astigmata) em bananas-passa. **Revista Ciência e Cultura**, São Paulo, **28**(8):932-933, 1976. (Separata).
36. ENSMINGER, L.G. Identification of stored product insects by the micromorphology of the exoskeleton. VIII - moth larvae. **JAOAC**, Washington, **41**(3):704-739, 1958.
37. FAO. **Codex Methods of Analysis**: determination of mineral impurities (sand test) in raisins. Roma, FAO/WHO, 1981. (Codex Alimentarius v.2, p2 - CAC/RM 51-1974).
38. -----. **Production Yearbook**. Roma, FAO, 1985-1990.
39. -----. **Trade Yearbook**. Roma, FAO, 1985-1990.
40. FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de Importância Agrícola**. São Paulo, Nobel, 1972. 150p.
41. -----. **Ácaros em Produtos Armazenados e na Poeira Domiciliar**. Piracicaba, USP/ESALQ Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1986. 97p.

42. FERREIRA, V.L.P., DURAN, L.H., COSTELL, E., BARBIERI, M.K., MORI, E.M., YOTSUYANGI, K., FIZZMAN, DEL S., CALVO, C. Controle de Qualidade de Produtos de Frutas - Goiabada. Relatório do projeto conjunto ITAL/IATA, Campinas, 1992.
43. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **The Food Defect Action Levels: Current Levels for Human Use that Present No Health Hazard.** Washington, U.S. Department of Health and Human Services/Public Health Service Food and Drug Administration Bureau of Foods, 1982. 20p.
44. FREEMAN, C.C. New brine saturation method for extration of light filth from corn meal: collaborative study. **JAOAC**, Washington, **64**(1):191-193, 1981.
45. -----. Technique for preparing spike elements for study samples of extraneous materials. **JAOAC**, Washington, **65**(2)277, 1982.
46. -----. Extraneous materials: Brine saturation technique for extration of light filth from rubbed, ground, and whole sage: collaborative study. **JAOAC**, Washington, **68**(5):894-896, 1985.
47. FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Anuário Estatístico do Brasil, Ministério do Planejamento e Coordenação Geral. 1985-1990.
48. GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO SILVEIRA, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de Entomologia Agrícola**, 2ed., São Paulo, Agronomica Ceres Ltda., 1988. 649p.

49. GARDINER, M.A. & PEACE, D.M. Extraneous materials: improved method for extraction of filth from cheese. **JAOAC**, Washington, **69**(4):712-713, 1986.
50. GECAN, J.S. & BRICKEY, P.M. Evaluation of the effects of eleven bleaching agents on ground cocoa bean tissue, insect fragments, and rodent hairs. **JAOAC**, Washington, **50**(3):496-503, 1967.
51. ----- & ----- . Method for the extraction of light filth from seedless and seeded raisins. **JAOAC**, Washington, **52**(1):19-21, 1969.
52. ----- & ----- . Collaborative study of an improved method for the isolation of filth from starches. **JAOAC**, Washington, **55**(1):62-63, 1972.
53. ----- & CICHOWICZ, S.M. Extraneous Materials: Isolation. In: WILLIAMS, S. (ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14 ed., Arlington, VA, AOAC, 1984. p.887-935.
54. GLOBO RURAL. Banana. Qualidade sem desperdício. São Paulo. Ed. Globo, ano 9 n^o103, maio de 1994. p.20-27.
55. GORHAM, J.R. Filth in foods: implications for health. **J. Milk Food Technol.**, Ames, Iowa, **38**:409-418, 1975.
56. ----- . Filth in foods: implications for health. In: ----- (ed.). **Principles of Food Analysis for Filth, decomposition and Foreign Matter**. Washington, AOAC/FDA, 1985. p.27-32. (FDA Technical Bulletin, 1).
57. ----- . Foodborne filth and human disease. **Journal of Food Protection**, Ames, Iowa, **52**(9):674-677, 1989.

58. GUIMARÃES, J.M. **Bases Fitossanitárias para a Solução do Problema dos Ácaros do Figo Seco no Algarve.** Lisboa, Laborat. de Defesa Fitossanit. Prod. Armazen., 1970. 174p.
59. HARRIS, K.L. & KNUDSEN, L.F. Tests on the efficiency of various filth recovery procedures. **JAOAC**, Washington, **31**(4):786-97, 1948.
60. HARRIS, M. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. X- common fragments of mill and grain moths. **JAOAC**, Washington, **43**(2):444-458, 1960.
61. HASHIZUME, T. (coord). **Diagnóstico da Situação e recomendação para o Desenvolvimento da Agroindústria de Alimentos no Vale do Ribeira**, Campinas, ITAL, 1989. p.1-32. (Relatório de Pesquisa).
62. HEALTH PROTECTION BRANCH, HEALTH AND WELFARE (HPB). Ottawa, Ontario. **Guidelines for Extraneous Material in Food**, november, 1984. Ottawa, Ontario, 1984. 5p.
63. HEUERMANN, R.F. & KURTZ, O.L. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. **JAOAC**, Washington, **38**(3):766-780, 1955.
64. HORWITZ , W. Extraneous material: isolation. In: ----- (ed.). **Official Methods of Analysis of Association of Analytical Chemists**. 10 ed., Washington, D.C., AOAC, 1965. p.702-734.
65. ----- (ed). **Official Methods of Analysis of Association of Analytical Chemists**. 12ed., Washington, D.C., AOAC, 1975. 1094p.

66. -----(ed). **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 13 ed., Washington, D.C., AOAC, 1980. 1018p.
67. HOWE, R.W. Losses caused by insects and mites in stored foods and feedingstuffs. **Nutr.Abstr.Rev.**, London, **35**(2):285-303, 1965.
68. HUGLES, A.M. **The mites of stored food**. Min. Agric. Fish. Food, Londres, Techn. Bull. 9, 1961. 287p.
69. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo, 3 ed., v.1. 1985.
70. JACKSON, M.M.; RATAY, A.F.; WOZNICKI, E.J. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. II - adult antennal caracteres. **JAOAC**, Washington, **39**(3):766-780, 1958.
71. -----; ----- & -----. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. VI - adult and larval beetle mandibles. **JAOAC**, Washington, **41**(2):460-471, 1958.
72. JOHNSON, M.H.; BUKOVIC, J.A.; EISENBERG, W.V. & VAZQUEZ, A.W. Antigenic properties of some insects involved in food contamination. **JAOAC**, Washington, **56**(1):63-65, 1973.
73. KHURI, A.I. & CORNELL, J.A. **Response Surfaces - Designs and Analysis**. New York, Marcel Dekker, Inc. 1987. 405p.
74. KIRK, R.S. & SAWYER, R. **Pearson's Composition and Analysis of Foods**. 9 ed., London, Longman Scientific & Technical, 1989. p.38-42.

75. KITELEY, E.J. Some collaborative investigations of methods for isolating extraneous material from white flour. **JAOAC**, Washington, **37**(1):139-147, 1954.
76. KLEIN, R.M. Pictorial guide for rapid identification of common adult storage insects. **Journal of Food Protection**, Ames, Iowa, **49**(2):154-160, 1986.
77. KRAMER, A. & TWIGG, B.A. **Quality Control for the Food Industry**. 3ed., Westport, Connecticut, The AVI Publishing Company, Inc., 1970. v1. p.155-205.
78. KURTZ, O.L.; CARSON, N.A.; DAME, H.C.V. Identification of cereal insects in stored grain by their mandible characteristics. **JAOAC**, Washington, **35**(4):817-826, 1952.
79. -----; HARRIS, K.L. Identification of insect fragments: relationship to the etiology of the contamination. **JAOAC**, Washington, **38**(4):1010-1019, 1955.
80. ----- & -----. **Microanalytical Entomology for Food Sanitation Control**. Washington, D.C., AOAC, s.d. 576p.
81. ----- & MC CORMACK, T.H. Comparison of AACC and AOAC methods for extraneous materials in flour. **JAOAC**, Washington, **48**(3):554-558, 1965.
82. KVENBERG, J.E., EISENBERG, W.V. & KING, A.C. Limited collaborative study of an optional method for the isolation of light filth from fig and fruit paste. **JAOAC**, Washington, **58**(3):443-444, 1975.
83. -----. Comparison of larval stored product beetle mandibles by light microscope and scanning electron microscope. **JAOAC**, Washington, **64**(1):199-224, 1981.

84. LANDIM, M.A. **Levantamento das Condições Higiênicas da Farinha de Trigo e de Massas Alimentícias Tipo Espaguete.** Visçosa, M.G., Univ. Federal de Visçosa, 1990. 57p. (Tese - Mestre em Ciências) Mestrado).
85. LINHARES, X.A.; BENTO JR., C.C.; SANTOS, J.C. Ocorrência de Ácarus siro em charque embalado a vácuo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, **5**(17):25-31, 1991.
86. MAES, E.E.A. Extraneous materials in foods: a review of filth control in Western Europe. **JAOAC**, Washington, **49**(6):1176-80, 1966.
87. MENEZES JR., J.B.F. Método de filtração para avaliar impurezas do sal. **Revista do IAL**, São Paulo, **16**:161-167, 1956.
88. MILLER, A.; PHILLIPS, R. & CLINE, L.D. **Rearing manual of stored-product insects used by USDA stored-product research and development laboratory.** Savannah, Stored Product Insect Research and Development Laboratory, 1969. 36p.
89. MILLER, M.T. Collaborative study of a new method for the extration of light filth from white flour. **JAOAC**, Washington, **55**(3):514-5, 1972.
90. MILLS, H.B. & PEPPER, J.H. The effect on humans of the ingestion of the confused flour beetle. **Journal of Economic Entomology**, College Park, **32**(6):874-875, 1939.
91. MISRA, C.P.; CHRISTENSEN, C.M.; HODSON, A.C. The Angoumois grain moth, Sitotoga cerealella and storage fungi. **Journal of Economic Entomology**, College Park, **54**(5):1032-1033, 1961.

92. OLSEN, A.R. Extraneous materials: distinguishing common food-contaminating bat hairs from certain feather barbules. **JAOAC**, Washington, **64**(4):786-791, 1981.
93. ----- . Extraneous materials: fecal pellets from a commensal shrew (Suncus murinus) and a House gecko (Gekkonidae). **JAOAC**, Washington, **67**(6):1035-1036, 1984.
94. PEACE, McC.D. **Key for Identification of Mandibles of Stored Food Insects**. Arlington, VA, AOAC. 1985. 169p.
95. ----- & GARDINER, M.A. **Extraneous matter in foods: detection, identification and evaluation**. Ontario, Polyscience Publications Inc. 1990. 67p.
96. PEREZ, L.H. Exportações brasileiras de banana: situação e perspectivas. **Informações Econômicas**, São Paulo, **23**(4):39-45. 1993.
97. PRADO, A.P. **Introdução à Entomologia Analítica na Indústria de Alimentos**. Campinas, Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "Andre Toselo", 1986. 111p.
98. PROSKY, L.; ASP, N.G.; FURDAN, I.; DEVIES, J.W; SCHARIZER, T.F. & HARLAND, B.F. Vitamins and other nutrientes. Determination of total dietary fiber in foods, food products and total diets: interlaboratory study. **JAOAC**, Washington, **67**(6):1044-1051, 1984.
99. PUZZI, D. Abastecimento e armazens de grãos. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1986. p.319-324.
100. RAGUNATHAN, A.N.; SRINATH, D.; & MAJUMDER, S.K. Storage fungi associated with rice weevil (Sitophilus oryzae L.). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, India, **11**(1):19-22, 1974.

101. RATAY, A.F.; JACKSON, M.M.; WOZNICKE, E.J. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. VII - labral characteristics of adult beetles. **JAOAC**, Washington, **41**(2):472-478, 1958.
102. RODRIGUES, R.M.M.S.; SANTOS, M.C. & ZABONI, C.Q. Farinha de rosca matérias estranhas pesadas e leves. **Revista do IAL**, São Paulo, **50**(1/2):245-249, 1990.
103. SANTOS, M.C.; RODRIGUES, R.M.M.S. & ZAMBONI, C.Q. Matérias estranhas leves e partículas metálicas em misturas para bebidas láctea e mingau destinados à merenda escolar. **Revista do IAL**, São Paulo, **51**(1/2):7-10, 1991.
104. SCOTT, H.G. & BOROM, M.R. Domestic rodents and cockroaches: pictorial key to droppings. Atlanta, Georgia, U.S. Department of health, Education and Welfare, 1964. p.183.
105. SMITH, F.R. The effect of natural and laboratory digestion on the microscopic appearance of certain animal hairs. **JAOAC**, Washington, **41**(2):479-480, 1958.
106. SONNENBLICK, B.P. The early embryology of Drosophila melanogaster. In: DEMEREC, M. (ed.). **Biology of Drosophila**. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1950. p.62-71; 242-243; 356-357.
107. SOUTO, A.B.; GODOY, O. & MENEZES JR., J.B.F. Investigações microscópicas sobre manteigas. **Revista do IAL**, São Paulo, **6**(1):28-49, 1946.
108. STEIN, R.; EISENBERG, W.V. & BRICKEY, P.M. Staining technique to differentiate insect fragments, bird feathers, and rodent hairs from plant tissue. **JAOAC**, Washington, **51**(3):513-519, 1968.

109. SUTHERLAND, J.P.; VARNAM, A.H. & EVANS, M.G. **A Colour Atlas of Food Quality Control**. Wolfe Publishing Ltd., London, 1986. p.243-253.
110. THRASHER, J.J. & KURTZ, O.L. Identification of stored products insects by the micromorphology of the exoskeleton. IV - adult legs. **JAOAC**, Washington, **40**(3):973-991, 1957.
111. ----- & BRICKEY JR., P.M. Comparison of white gasoline and n-heptane for recovery of insect fragments and rodent hairs from food products. **JAOAC**, Washington, **52**(3):645-467, 1969.
112. ----- . Collaborative study of a new method for the extration of light filth from ground coffee. **JAOAC**, Washington, **55**(1):57-61, 1972.
113. ----- & GECAN, J.S. Chemical test for mammalian feces: collaborative study. **JAOAC**, Washington, **64**(1):196-198, 1981.
114. TRAUBA, R.L. Determination of internal insect infestation of wheat: collaborative study. **JAOAC**, Washington. **64**(6):1408-1410, 1981.
115. TRAVAGLINI, D.A. Produtos desidratados de banana. In: MEDINA, J.C. et al. **Banana da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas, ITAL, 1978. p.118-124, 127. (Série Frutas Tropicais 3).
116. ----- . **Banana-passa: princípios de secagem, conservação e produção industrial**. Campinas, ITAL, 1993. 73p. (Manual Técnico, 12).

117. VAZQUEZ, A.W. Structure and identification of common food-contaminating hairs. **JAOAC**, Washington, **44**(4):754-778, 1961.
118. ----- . Recognition of insect fragments. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Training Manual for Analytical Entomology in the Food Industry**. Washington, AOAC, 1977. p.48-52.
119. ----- . Basic insect morphology. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Training Manual for Analytical Entomology in the Food Industry**. Washington, AOAC, 1977. p.17-24.
120. ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I.; SPITERI, N. & RODRIGUES, R.M.M.S. Partículas metálicas em farinha de trigo. **Revista do IAL**, São Paulo, **45**(1/2):27-29, 1985a.
121. -----; RODRIGUES, R.M.M.S.; BATISTIC, M.A.; ALVES, H.I.; SPITERI, N. & ATUI, M.B. Sujidades em farinhas de trigo, mandioca, milho e em fubá de milho. **Revista do IAL**, São Paulo, **45**(1/2):89-93, 1985b.
122. -----; & BATISTIC, M.A. Verificação das condições higienicas de biscoitos por microscopia. **Revista do IAL**, São Paulo, **45**(1/2):61-64, 1985.
123. -----; ALVES, H.I.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SPITERI, N.; ATUI, M.B. & BATISTIC, M.A. Sujidades e fraudes em chocolates. **Revista do IAL**, São Paulo, **48**(1/2):37-41, 1988.
124. -----; RODRIGUES, R.M.M.S.; SPITERI, N.; ALVES, H.I.; BATISTIC, M.A.; ATUI, M.B. & SANTOS, M.C. Fraudes e condições higienicas de doces em pasta. **Revista do IAL**, São Paulo, **49**(2):125-129, 1989.

125. ----- & ATUI, M.B. Comparação entre métodos para pesquisa de sujidades e verificação das condições de higiene das massas alimentícias por microscopia. **Revista do IAL**, São Paulo, **49**(1):11-17, 1989.
126. -----; ALVES, H.I.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SPITERI, N.; ATUI, M.B. & SANTOS, M.C. Fraudes e sujidades em condimentos comercializados na cidade de São Paulo. **Revista do IAL**, São Paulo, **51**(1/2):19-22, 1991.
127. WATT, B.W. Composition of foods: raw, processed, prepared. Consumer and Food Economics Research Division Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook nº8, Washington. 1963. 189p.
128. WEISS, E.O.; KLOSS, C.R. & MUHLSTEDT, N. Estudo comparativo entre os métodos da digestão pela pancreatina e da digestão pelo ácido clorídrico para detecção de matérias estranhas em macarrão. In: **Congresso Brasileiro de Zoologia**, **15**, Curitiba, PR. 1988. Resumos..., Curitiba, Univ. Federal do Paraná, 1988. p.666.
129. WILSON, R.J. The international market for banana products for food use. London, **Tropical Products Institute**, 1975. p5-25.
130. WINTER, F.H. Collaborative study of a method for the recovery of acid-insoluble residues (soil) in frozen spinach and strawberries. **JAOAC**, Washington, **54**(3):581-583, 1971.
131. WIRTZ, R.A. Food pests as disease agents. In: GORHAM, J.R. (ed.). **Ecology and Management of Food-Industry Pests**. Arlington, VA, AOAC, 1991. p.469-475.

132. WKY, J.H.V., HODSON, A.C.; CHRISTENSEN, C.M. Microflora associated with the confused flour beetle Tribolium confusum. **Annals of Entomological Society of América**, **52**:452-463, 1959.
133. WOODBURY, J.E. Reliability of analysis for indigeneous insect fragments in ground páprika. **JAOAC**, Washington, **66**(1):79-80, 1983.