



## Avaliação microbiológica de barras de cereais *diet* por meio de agente ligante colágeno hidrolisado e goma acácia

*Microbiological assessment of diet granola bars by hydrolyzed collagen binder and gum arabic*

Silvana Mariana SREBERNICH<sup>1</sup>  
Fernanda MEIRELES<sup>2</sup>  
Giovana LOURENÇÂO<sup>2</sup>

### RESUMO

#### Objetivo

Avaliar microbiologicamente barras de cereais *diet* por meio de ligante colágeno hidrolisado ou goma acácia.

#### Métodos

Neste estudo, fez-se o controle microbiológico (*Bacillus cereus*, *Salmonella* coliformes termotolerantes) de barras de cereais *diet* por meio da metodologia de superfície de resposta. Embora não seja exigido pela legislação brasileira o controle de fungos para alimentos, eles também foram investigados. Determinações de pH e de atividade de água foram realizadas devido à sua importância no desenvolvimento dos micro-organismos.

#### Resultados

Os resultados negativos das análises microbiológicas para *Bacillus cereus*, *Salmonellae* coliformes termotolerantes mostraram que as barras de cereais analisadas atendiam às determinações legais. Provavelmente esses resultados

<sup>1</sup> Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Nutrição. Av. Jonh Boyd Dunlop, s/n., Prédio Administrativo, Jd. Ipauassurama, 13060-904. Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: SM SREBERNICH. E-mail: <srebernich@uol.com.br>.

<sup>2</sup> Nutricionistas. Campinas, SP, Brasil.

tenham sido influenciados pelas condições de atividade de água (0,520-0,690) e de pH (4,59-5,16) das barras, desfavoráveis ao desenvolvimento dos micro-organismos estudados.

### **Conclusão**

A presença dos fungos *Penicillium* sp. (produtor de ocratoxina, uma micotoxina potencialmente nefrotóxica e carcinogênica) e *Rhizopus* sp. em duas amostras vem confirmar a necessidade do controle microbiológico desse produto.

**Termos de indexação:** Controle. Fungos. Gestão de qualidade. Leveduras.

## **A B S T R A C T**

### **Objective**

*This study assessed the microbiological quality of diet granola bars using either a hydrolyzed collagen binder or gum arabic.*

### **Methods**

*Microbiological control (Bacillus cereus, Salmonella and thermotolerant coliforms) of diet granola bars was done using the response surface methodology. The Brazilian legislation does not require the control of fungi in food but they were also investigated. Water activity and pH were determined because of their importance for microbial development.*

### **Results**

*Microbiological tests for Bacillus cereus, Salmonella and thermotolerant coliforms were negative showing that the granola bars conform to the regulations. These results may be due to the water activity (0.520-0.690) and pH (4.59-5.16) of the bars, not favorable for the development of the studied microorganisms.*

### **Conclusion**

*Two fungi were found in two samples of granola bars: Penicillium sp. and Rhizopus sp. Penicillium sp. produces ochratoxin, a mycotoxin potentially toxic to the kidneys and carcinogenic. Therefore, this product needs to be subject to microbiological control.*

**Indexing terms:** Control. Fungi. Quality management. Yeasts.

## **I N T R O D U Ç Ã O**

A ingestão de dietas balanceadas é a maneira mais eficaz e segura de evitar ou até mesmo corrigir problemas de saúde, como diabetes, desnutrição, obesidade e cardiopatias, que podem ser causados pelos erros alimentares<sup>1</sup>. Como consequência disso, o consumo e a demanda de alimentos saudáveis, nutritivos e seguros vem crescendo mundialmente. Dessa forma, com a crescente preocupação da população em melhorar a qualidade de vida, principalmente os hábitos alimentares, e de modo a atender a tendência pelo consumo de alimentos mais seguros e nutritivos, as barras de cereais ganharam grande

espaço no mercado. Elas apresentam sabor leve e agradável, são excelentes fontes de vitaminas, minerais, fibras, proteínas e carboidratos complexos<sup>2-4</sup> e podem substituir outros alimentos de menor valor nutricional. São comercializadas em embalagens individuais e seu consumo é facilitado por não requerer nenhum preparo adicional.

Os principais aspectos considerados na elaboração das barras são: a escolha do cereal, normalmente na forma de grãos (aveia, arroz, milho, centeio, trigo e cevada); a seleção do carboidrato apropriado, de modo a preservar a vida de prateleira; o enriquecimento com vários nutrientes (fibras, vitaminas e minerais) e sua estabilidade no proces-

samento. A utilização do cereal na forma de grão ajuda a manter a integridade dos nutrientes, ao contrário do que acontece com alimentos refinados, como as farinhas de trigo e de milho. Outro aspecto a ser considerado: pode-se ter barras com baixo teor de gordura ou isentas de gordura sem que se perca o elevado aporte energético<sup>1,5</sup>.

Segundo Gutkoski *et al.*<sup>1</sup> e Esteller *et al.*<sup>6</sup>, as barras de cereais apresentam baixa atividade de água e atendem às especificações sanitárias, com alta estabilidade de armazenamento. Entretanto, as matérias-primas utilizadas na sua produção, principalmente os cereais em grão, são potenciais portadores de micro-organismos. Mesmo que precauções higiênico-sanitárias sejam observadas na sua produção, existe a possibilidade de ocorrer a contaminação do produto. Sendo assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)<sup>7</sup>, órgão que estabelece a Legislação Brasileira para Alimentos, determina, por meio da Resolução RDC nº 12, os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano. De acordo com essa resolução, o controle microbiológico em barras de cereais ficou restrito ao controle bacteriano de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella*, não sendo estabelecido nenhum controle obrigatório para leveduras e bolores.

A contaminação de alimentos ocorre por uma vasta gama de micro-organismos, dentre os quais *Bacillus cereus*, uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa, em forma de bastonete, formadora de esporos, que apresenta motilidade e que tem sido reconhecida como agente etiológico de doenças de origem alimentar há mais de 40 anos. Devido às suas características de disseminação, resistência de esporos e patogenicidade, o problema assume importância expressiva quando os produtos contaminados são destinados a grande número de pessoas<sup>8</sup>. Os coliformes totais são bactérias originárias do trato gastrintestinal de humanos e de outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, entre outras). Sua presença nos alimentos é uma indicação de que determinado

alimento está contaminado, evidenciando falta de higiene e sanitização. Os coliformes termotolerantes, subgrupo dos coliformes totais, têm a capacidade de fermentar a lactose a 45°C, gerando produção de gases, e sua presença nos alimentos evidencia contaminação direta ou indireta de origem fecal de humanos e/ou outros animais<sup>9</sup>.

*Salmonella* sp. tem a via oral como único meio de entrada no corpo; sua multiplicação ocorre no alimento, até atingir a dose infectante. Elas não têm capacidade de formar esporos e são termossensíveis. Existem várias espécies conhecidas, e cerca de 2 320 linhagens diferentes. Ao se instalar no ser infectado, provoca febre tifóide, febres entéricas (*Salmonella typhi*) e enterocolites (*Salmonella paratyphi*).

Segundo Black<sup>10</sup>, a alta concentração de carboidratos transforma as barras em "locais" estratégicos para o crescimento de fungos devido à criação de uma pressão osmótica elevada. Esses alimentos podem ser contaminados diretamente por fungos presentes nos cereais. A presença de determinados gêneros de fungos filamentosos pode resultar na existência de toxinas produzidas por eles. Por sua vez, as micotoxinas são metabólitos secundários dos fungos. Sua presença nos cereais pode ocorrer a partir da sua produção, incluindo as etapas de transporte, armazenamento e consumo<sup>11</sup>. Portanto, é muito importante verificar se esses fungos estão presentes nas matérias-primas assim como no produto final. Entretanto, não somente os fungos filamentosos produtores de micotoxinas são considerados indicadores de qualidade, mas também as leveduras, embora elas não causem nenhum quadro de infecção alimentar. A presença de leveduras pode indicar se houve utilização de medidas higiênico-sanitárias corretas durante a fabricação. Os manipuladores de alimentos desempenham, portanto, importante função na preservação da higiene do alimento, uma vez que podem representar uma importante fonte de transmissão de patógenos.

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar microbiologicamente formulações de barras de cereais diet que contêm como agente ligante colágeno hidrolisado ou goma acácia em substituição ao

xarope de glicose. Essa avaliação é necessária e se justifica para garantir que as formulações em estudo não ofereçam qualquer tipo de risco à saúde dos consumidores.

## MÉTODOS

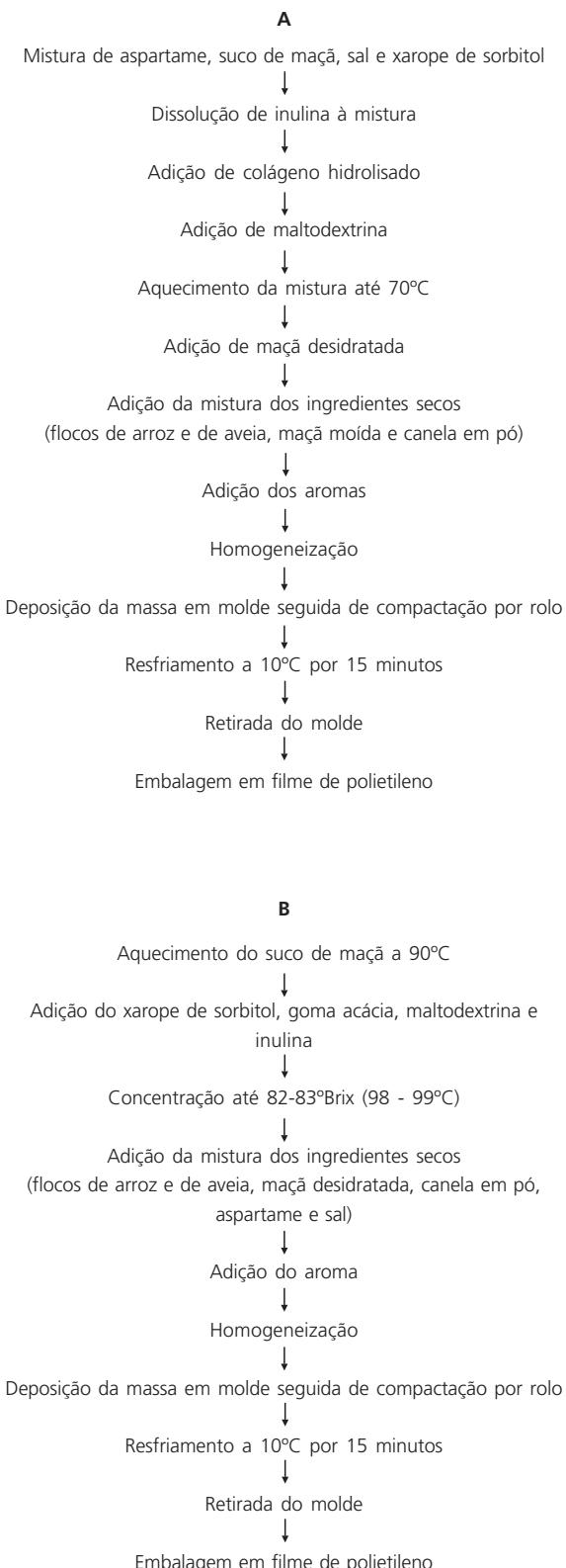
Utilizaram-se na produção das barras de cereais analisadas neste estudo flocos de arroz e de aveia, maçã desidratada, canela em pó, maltodextrina, sal de cozinha, suco de maçã, aspartame, aromas de maçã e canela (ingredientes fixos), inulina, goma acácia, colágeno hidrolisado e sorbitol (ingredientes variáveis). Todos os ingredientes foram adquiridos conforme disponibilidade no mercado, tomando-se o cuidado de manter as mesmas marcas em todos os experimentos. As barras de cereais foram preparadas de acordo com uma formulação-base, contendo os ingredientes fixos e complementada com ingredientes variáveis (inulina, goma acácia, colágeno hidrolisado e sorbitol) de acordo com os níveis estabelecidos no delineamento experimental para as variáveis independentes e seguindo-se os procedimentos apresentados nos fluxogramas (Figuras 1).

Os experimentos foram conduzidos conforme Delineamento Central, Composto Rotacional (DCCR), com 3 fatores ou variáveis independentes ( $N$ )<sup>12</sup>. Foram realizados 19 experimentos ( $2^N + 2N + 4$ ): 8 fatoriais, 6 axiais e 5 repetições no ponto central. Os pontos axiais (- $\alpha$  e + $\alpha$ ) foram calculados pela equação:  $\alpha = (2^N)^{1/4}$ . Nesse caso, com 3 variáveis,  $\alpha = 1,682$ . Os níveis das variáveis estudadas basearam-se em testes preliminares (Tabela 1). Os valores codificados e reais das variáveis estudadas são mostrados na Tabela 2.

As barras obtidas nos diferentes ensaios foram pesadas, etiquetadas e armazenadas durante 30 dias para posterior análise microbiológica, determinação de atividade de água e pH.

## Atividade de água (Aa) e pH

A atividade de água foi determinada para cada barra obtida, por leitura direta, a 20°C, no



**Figura 1.** Fluxograma de obtenção de barras de cereais diet com:  
A) colágeno hidrolisado; B) com goma acácia.

medidor de atividade de água AquaLab modelo CX-2Aw. A determinação da concentração hidrogênico-iônica (pH) nas barras foi realizada empregando-se a Norma 4.7.2 do Instituto Adolfo Lutz<sup>13</sup>.

### Análise microbiológica

Análises microbiológicas de coliformes a 45°C de *Bacillus cereus* e *Salmonella* (patógenos relevantes

em saúde pública e associados a esse tipo de produto) foram realizadas com o objetivo de verificar se as amostras atendiam aos padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução RDC nº 12/01 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, publicada em 10 de janeiro de 2001<sup>7</sup>. Bolores e leveduras também foram determinados, visto serem deteriorantes potenciais desse tipo de produto. As metodologias utilizadas estão descritas adiante.

**Tabela 1.** Variáveis independentes e níveis de variação.

Variáveis independentes (%)	Níveis				
	- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
X <sub>1</sub> = inulina <sup>1</sup>	0,0	5,7	14,0	22,3	28,0
X <sub>2a</sub> = colágeno hidrolisado <sup>2</sup>	7,0	9,8	14,0	18,2	21,0
X <sub>2b</sub> = goma acácia <sup>2</sup>	16,6	20,0	25,0	30,0	33,4
X <sub>3</sub> = sorbitol <sup>1</sup>	20,0	27,3	38,0	48,7	56,0

<sup>1</sup> Valores comuns tanto para formulações com colágeno como para formulações com goma acácia; <sup>2</sup> as formulações que contêm colágeno não contêm goma acácia e vice-versa.

**Tabela 2.** Delineamento experimental para três variáveis independentes.

Tratamento	Codificadas			Variáveis Reais (%)			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Inulina <sup>1</sup>	Colágeno <sup>2</sup>	Goma acácia <sup>2</sup>	Sorbitol <sup>2</sup>
1	-1	-1	-1	5,7	9,8	20,0	27,3
2	+1	-1	-1	22,3	9,8	20,0	27,3
3	-1	+1	-1	5,7	18,2	30,0	27,3
4	+1	+1	-1	22,3	18,2	30,0	27,3
5	-1	-1	+1	5,7	9,8	20,0	48,7
6	+1	-1	+1	22,3	9,8	20,0	48,7
7	-1	+1	+1	5,7	18,2	30,0	48,7
8	+1	+1	+1	22,3	18,2	30,0	48,7
9	- $\alpha$	0	0	0,0	14,0	25,0	38,0
10	+ $\alpha$	0	0	28,0	14,0	25,0	38,0
11	0	- $\alpha$	0	14,0	7,0	16,6	38,0
12	0	+ $\alpha$	0	14,0	21,0	33,4	38,0
13	0	0	- $\alpha$	14,0	14,0	25,0	20,0
14	0	0	+ $\alpha$	14,0	14,0	25,0	56,0
15	0	0	0	14,0	14,0	25,0	38,0
16	0	0	0	14,0	14,0	25,0	38,0
17	0	0	0	14,0	14,0	25,0	38,0
18	0	0	0	14,0	14,0	25,0	38,0
19	0	0	0	14,0	14,0	25,0	38,0

<sup>1</sup> Valores comuns tanto para formulações com colágeno como para formulações com goma acácia; <sup>2</sup> as formulações que contêm colágeno não contêm goma acácia e vice-versa.

## Preparo das amostras

A área externa das embalagens das amostras, constituídas por barra de cereal de 25g, foi desinfetada com etanol 70% para remover possíveis contaminantes presentes ao redor do local de abertura. Posteriormente, a amostra foi macerada em condições assépticas em cabine de fluxo laminar e, em seguida, colocada em um erlenmeyer com 225mL de água salina peptonada 0,1% ( $H_2Op$ ), obtendo-se diluição de  $10^{-1}$ . Utilizando-se a mesma solução salina, outras diluições foram feitas conforme a necessidade da metodologia empregada<sup>9</sup>.

### *Bacillus cereus*

A partir das diluições das amostras, foi inoculado 0,1mL em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixona (MYP) previamente secas, espalhando-se todo o material na superfície do meio. Após a inoculação, aguardou-se a secagem completa das placas, que foram incubadas invertidas em estufa a 30°C por 24 a 48 horas. No caso de ser detectada a presença de colônias típicas, elas seriam inoculadas em cinco tubos inclinado contendo Ágar Nutriente (NA) e incubadas a 30°C por 24 horas. A partir do crescimento obtido no NA, seriam realizados testes morfológicos e fisiológicos para confirmação de *Bacillus cereus*, e, posteriormente, seria realizada a contagem<sup>9</sup>.

### *Salmonella* sp.

A amostra (25g) foi diluída em 225mL de caldo de pré-enriquecimento e incubada a 35°C por 24 horas. Posteriormente, 1mL da cultura foi transferido para um tubo com 10mL de caldo Tetracionado (TT), sendo incubado a 35°C por 24 horas. Após esse período, foi realizado plaqueamento diferencial em Ágar Entérico de Hectoen (HE), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicilotato (XLD), sendo incubado a 35°C por 24 horas. As colônias típicas foram identificadas por testes bioquímicos.

## Coliformes termotolerantes

A partir das diluições das amostras foi inoculado 1mL em uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo esses incubados a 35°C por 24 horas. Após esse período, é considerada como teste positivo a produção de gás. Não se obtendo esse resultado, os tubos são incubados por mais 24 horas. Dos tubos positivos, transfere-se uma alíquota para o meio *E. coli* (EC). Posteriormente, são incubados a 44,5°C por 24 a 48h em banho-maria, e observa-se a produção de gás, a fim de se determinar o número mais provável (NMP)/g de coliformes termotolerantes<sup>9</sup>.

## Deteção e identificação de fungos

A partir das diferentes diluições, foi inoculado 0,1mL das amostras em superfície do meio de cultura ágar batata dextrose acidificado. Todo o experimento foi realizado em duplicita e as placas foram incubadas em estufa a 25°C durante 5 dias<sup>9</sup>. Para identificação dos fungos, foram utilizadas provas macro e micro-morfológicas e fisiológicas de cada fungo isolado, por meio de técnicas clássicas em microbiologia<sup>14</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos às análises microbiológicas para *Salmonella*, *Bacillus cereus* e coliformes termotolerantes estão de acordo com a Resolução RDC nº12/01; portanto, as barras estão próprias para consumo, pois todos os resultados se apresentaram negativos para o crescimento de colônias<sup>7</sup> (Tabelas 3 e 4).

Provavelmente, esses resultados tenham sido influenciados pelas condições de atividade de água (0,520 - 0,594 para barras com colágeno hidrolisado e 0,542 - 0,690 para barras com goma acácia) e de pH (4,59 - 4,81 para barras com colágeno hidrolisado e 5,01 - 5,16 para barras com goma acácia), que não se mostraram favoráveis ao desenvolvimento desses micro-organismos, além da qualidade da

matéria-prima empregada e dos cuidados higiênicos no preparo das barras. Resultados semelhantes foram obtidos por Gutkoski *et al.*<sup>1</sup>.

Foram realizadas análises de fungos mesmo na ausência de legislação específica. Os resultados mostraram-se negativos tanto para as amostras

**Tabela 3.** Resultados de análises microbiológicas, atividade de água e pH das amostras de barras de cereais com adição de colágeno hidrolisado como agente ligante.

Ensaio	<i>Salmonella</i>	<i>B. cereus</i>	Coliformes*	Fungos	Aa	pH
1	-	-	-	-	0,547	4,73
2	-	-	-	-	0,520	4,70
3	-	-	-	-	0,560	4,67
4	-	-	-	-	0,551	4,70
5	-	-	-	-	0,590	4,66
6	-	-	-	-	0,594	4,64
7	-	-	-	-	0,572	4,78
8	-	-	-	-	0,550	4,72
9	-	-	-	-	0,551	4,59
10	-	-	-	-	0,536	4,61
11	-	-	-	-	0,556	4,71
12	-	-	-	-	0,556	4,68
13	-	-	-	-	0,577	4,74
14	-	-	-	-	0,563	4,81
15	-	-	-	-	0,543	4,70
16	-	-	-	-	0,556	4,74
17	-	-	-	-	0,548	4,69
18	-	-	-	-	0,553	4,71
19	-	-	-	-	0,551	4,73

\* Coliformes termotolerantes; Aa: Atividade de água; (-) sem crescimento microbiano.

**Tabela 4.** Resultados de análises microbiológicas, atividade de água e pH das amostras de barras de cereais com adição de goma acácia como agente ligante.

Ensaio	<i>Salmonella</i>	<i>B. cereus</i>	Coliformes*	Fungos	Aa	pH
1	-	-	-	-	0,561	5,01
2	-	-	-	+	0,542	5,06
3	-	-	-	-	0,545	5,08
4	-	-	-	-	0,588	5,15
5	-	-	-	-	0,643	5,12
6	-	-	-	-	0,619	5,05
7	-	-	-	-	0,630	5,09
8	-	-	-	-	0,596	5,14
9	-	-	-	+	0,626	5,05
10	-	-	-	-	0,690	5,14
11	-	-	-	-	0,618	5,09
12	-	-	-	-	0,595	5,08
13	-	-	-	-	0,555	5,10
14	-	-	-	-	0,589	5,10
15	-	-	-	-	0,580	5,12
16	-	-	-	-	0,594	5,13
17	-	-	-	-	0,601	5,15
18	-	-	-	-	0,606	5,16
19	-	-	-	-	0,590	5,14

\* Coliformes termotolerantes; Aa: Atividade de água; (-) sem crescimento microbiano; (+) com crescimento microbiano.

contendo colágeno hidrolisado (Tabela 3) como para as amostras contendo goma acácia (Tabela 4) como agentes ligantes, exceção feita para as amostras 2 e 10, com goma acácia, nas quais foram constatadas as presenças de dois tipos de fungos: *Penicillium* sp. amostras 2, Contagem total (UFC/g)  $1,0 \times 10^1$ , *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. amostras 10, Contagem total (UFC/g)  $2,0 \times 10^1$ . A presença desses fungos em duas amostras provavelmente tenha sido consequência da mudança de lote da aveia (manteve-se a marca). Segundo Soares & Furlani<sup>11</sup>, os principais fatores que levam a essa contaminação estão relacionados à suscetibilidade dos cereais à contaminação fúngica durante o período de plantio e, principalmente, ao armazenamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Corina & Tofan<sup>15</sup> ao analisarem diferentes grãos de cereais (milho, cevada, trigo e aveia), nos quais encontraram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. como fungos predominantes nas amostras. Esses mesmos fungos também foram encontrados por Conková *et al.*<sup>16</sup> ao pesquisarem trigo antes do armazenamento.

Embora no presente trabalho as contagens tenham sido muito baixas, a presença do gênero *Penicillium* sp. torna-se crítica, por ele ser considerado o principal fungo produtor de Ocratoxina: uma mico-toxina potencialmente nefrotóxica e carcinogênica<sup>17</sup>.

Portanto, diante do exposto, pode-se dizer que as barras de cereais não estão isentas de contaminação fúngica. Assim, embora o regulamento técnico da legislação brasileira sobre os padrões microbiológicos em alimentos não exija o controle de fungos em barras de cereais, ele deveria ser feito visando a eliminar um possível risco à saúde do consumidor desse alimento. Ademais, as condições de processo não favorecem a destruição da carga microbiana original das matérias-primas utilizadas.

Estudos para verificar a qualidade microbiológica de barras de cereais são escassos e os existentes não analisam amostras comerciais, apenas amostras desenvolvidas em condições de laboratório. Assim, embora no presente trabalho os resultados tenham sido negativos, a avaliação microbiológica de barras deve ocorrer como análise de rotina, uma

vez que a matéria-prima presente em maior quantidade é constituída por grãos de cereais, os quais usualmente apresentam elevada contaminação microbiana decorrente do sistema de produção. Portanto, a contaminação das barras pode ser decorrente do cereal utilizado na sua produção ou resultante da incorreta execução das práticas de fabricação do produto<sup>18</sup>.

## C O N C L U S Ã O

As barras de cereais produzidas e analisadas neste trabalho atenderam às determinações da RDC nº12/01. Entretanto, duas amostras apresentaram-se contaminadas por fungos, o que representa um risco adicional à saúde do consumidor. Isso mostra a importância da avaliação microbiológica incluir bolores e leveduras. Diante do exposto, conclui-se que as barras de cereais não estão isentas de contaminação fúngica, embora os resultados obtidos estejam de acordo com os padrões microbiológicos de alimentos da legislação brasileira.

## A G R A D E C I M E N T O S

Ao Fundo de Apoio à Iniciação Científica-Reitoria e a Pontifícia Universidade Católica de Campinas - pela concessão das bolsas.

## R E F E R Ê N C I A S

1. Gutkoski LC, Bonamigo JMA, Teixeira DMF, Pedó I. Desenvolvimento de barras de cereais a base de aveia com alto teor de fibra alimentar. Ciênc Tecnol Aliment. 2007; 27(2):355-63.
2. Izzo M, Niness K. Formulating nutrition bars with inulin and oligofructose. Cereal Foods World. 2001; 46(3):102-5.
3. Skliutas AR. Estudo do desenvolvimento de barra dietética de cereais e goiaba desidratada pelo processo de osmose à vácuo com utilização de frutooligosacarídeo [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2002.
4. Freitas DGC. Barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo, características físico-

- químicas e textura durante armazenamento. *Arch Latinoam Nutr.* 2005; 55(3):299-304.
5. Escobar BA, Estévez AM, Tepper AL, Aguayo MR. Características nutricionales de barras de cereales y maní. *Arch Latinoam Nutr.* 1998; 48(2):156-9.
  6. Esteller MS, Yoshimoto RMO, Amaral RL, Lannes SCS. Uso de açúcares em produtos panificados. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2004; 24(4):602-7.
  7. Brasil. Resolução RDC nº 12, de 2 janeiro de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 2001 10 jan; Seção 1,45-53.
  8. Mendes RA, Azeredo, RMC, Coelho AIM, Oliveira SS, Coelho MSL, et al. Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição. *Rev Nutr.* 2004; 17(2):255-61. doi: 10.1590/S1415-52732004000200012.
  9. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Varela; 2007.
  10. Black JG. Microbiologia: fundamentos e perspectivas. 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
  11. Soares LMV, Furlani RPZ. Survey of aflatoxins, ochratoxins A., zearalenone and sterigmatocystin in health foods and breakfast cereals commercialized in city of Campinas, São Paulo. *Ciênc Tecnol Aliment.* 1996; 16(2):126-9.
  12. Barros Neto B, Scarmino JS, Brunks RE. Planejamento e otimização de experimentos. Campinas: Unicamp; 1995.
  13. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4<sup>a</sup> ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
  14. Larone DH. Medically important fungi: a guide to identification. 4<sup>th</sup> ed. Washington (DC): ASM Press; 2002.
  15. Corina DN, Tofan C. Cereal contamination with toxigenic moulds. *J Agroal Process Technol.* 2008; 14(1):237-40.
  16. Conková E, Laciánková A, Stiriak, I, Czerwiecki L, Wilczinska G. Fungal contaminations and the levels of micotoxins (DON and OTA) in cereal sample from Poland and East Slovakia. *Czech J Food Sci.* 2006; 24(1):33-40.
  17. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002.
  18. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 1996.

Recebido em: 23/6/2010

Versão final reapresentada em: 2/2/2011

Aprovado em: 3/3/2011

