



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

AVALIAÇÃO DE SANITIZANTE DE AR À BASE DE TERPENOS EM SALAS E AMBIENTES DE LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

Thaís M. Paes¹, Hector A. Palacios², Artur Rocha³, Adriana Sottero⁴, Suzana Eri Yotsuyanagi⁵, Beatriz Iamanaka⁶

Nº 16235

RESUMO-Neste estudo foi avaliado o efeito dos sanitizantes à base de terpenos para eliminação ou redução de bactérias e fungos em salas e ambientes de laboratório de microbiologia de alimentos. A proposta para a execução deste projeto foi dividida em quatro etapas:a) avaliação do sanitizante em função do tempo de aplicação, b) homogeneidade da contaminação no ambiente,c) comparação das metodologias de sedimentação e compactação para quantificação da contaminação microbiológica do ar e d)avaliação da performance dos amostradores de ar Andersen e MAS 100 Eco (Merck).

Os resultados obtidos sugerem que a aplicação criteriosa do sanitizante à base de terpenos nos ambientes monitorados pode melhorar sensivelmente a qualidade do ar ambiente. A redução da contaminação do ambiente pelo sanitizante de terpeno pode ser considerada homogênea.

Quando comparados os métodos de compactação e sedimentação, os resultados foram divergentes.Quando comparados os amostradores de ar pelo método de compactação, as performances foram equivalentes.

Nas indústrias alimentícia e farmacêutica, a contaminação do ar é um fator chave para o cumprimento das Boas Práticas e a possibilidade de controlar essa contaminação com um produto livre de toxicidade e biodegradável foi a principal motivação por trás desse estudo.

Palavras-chaves: ar, sedimentação, amostrador de ar, terpenos, sanitizante

1Autor, Bolsista CNPq (PIBIC)Graduação em Engenharia de Alimentos,Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP;thais0paes@gmail.com.

2Colaborador: Pesquisador do ITAL, Campinas-SP;

3Colaborador:Gerente de desenvolvimento na TerpenOil, Campinas-SP

4 Colaboradora: Especialista de aplicação na Merck, São Paulo-SP

5 Colaboradora:Doutoranda em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP

6Orientadora: Pesquisadora do ITAL, Campinas-SP; beatriz@ital.sp.gov.br.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

ABSTRACT – *This study evaluated the efficiency of terpenes sanitizers for elimination or reduction of bacteria and fungi contamination in rooms and food microbiology laboratory environment. The implementation of this study was divided into four steps, a) evaluation of the sanitizer performance due to the application time, b) homogeneity of the contamination in the environment, c) comparison of methodologies of sedimentation and compression for quantification of microbiological air contamination and d) evaluation of the air samplers performances: Andersen and MAS 100 Eco (Merck) .*

Formatado: Inglês (EUA)

The results have shown that the application of this sanitizer on monitored environments can significantly improve air quality. The reduction of environmental contamination using the terpenes sanitizer is considered to be homogeneous.

Formatado: Inglês (EUA)

The results obtained by the methods of sedimentation and compression diverge. The two air samplers had similar performances.

The air contamination is a key factor regarding the Good Manufacturing Practices for both food and pharmaceutical industries. The possibility to control this contamination by using a biodegradable and nontoxic product was the main motivation behind this study.

Keywords: air, sedimentation, air sampler, terpenes, sanitizing

1. INTRODUÇÃO

De acordo com OMS, mais de 50% dos locais fechados tem ar de má qualidade, o que se deve principalmente a má higienização dos aparelhos de ar condicionado e a falta de controle periódico sobre as possíveis fontes de contaminação (Schirmer *et al.*, 2011). Em tais espaços confinados, com escassa renovação do ar, há maior tendência de acumulação de microrganismos oriundos de infiltrações ou da má conservação do sistema de ar condicionado, principalmente fungos e bactérias (Sodré, 2006).

Sabendo-se que grande parte das bactérias patogênicas são mesófilas, uma alta contagem total deste tipo de microrganismo no ar é um indicativo de insalubridade, pois significa que o ambiente está apropriado para seu crescimento (Jesus *et al.* , 2007).

É sabido que ar e ambiente interagem de forma dinâmica em termos de contaminação por agentes microbianos, portanto “quaisquer superfícies nas quais os microrganismos estejam depositados podem agir como fontes de contaminação para o ar, quando ocorrerem condições apropriadas para a formação de aerossóis” (Salustiano, 2002).



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Segundo a resolução RE Nº9, de 2003, recomenda-se os seguintes Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados de uso público e coletivo deve ser de ≤ 750 ufc/cm³ de fungos.

A sanitização, na qual é visada a eliminação e/ou redução de microrganismos patogênicos ou deteriorantes e principalmente a redução de esporos de bolores, é uma etapa indispensável aos procedimentos de higienização dos laboratórios.

Em harmonia com as tendências de sustentabilidade, proteção ao meio ambiente e pesquisa alternativa, os terpenos e seus derivados, que não apresentam toxicidade e são biodegradáveis, vêm sendo utilizados moderadamente pelas indústrias na forma de sanitizantes. Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a performance do sanitizante à base de terpenos para redução da contaminação de bolores em ambientes fechados, bem como comparar diferentes métodos de quantificação de bolores utilizando as técnicas de compactação e sedimentação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Aplicação do sanitizante: para a aplicação de sanitizante foi utilizado um lavador de ar de médio porte, com vazão de 400m³/h, fornecido pelo fabricante do sanitizante.

2.2 Método de sedimentação: consistiu na exposição de uma placa de Petri - contendo os meios de cultura Dicloran 18% Glicerol (DG18) e Ágar Padrão (PCA) -aberta ao ambiente por 15 minutos. Após cada coleta, a placa era tampada e incubada - a 35°C por 2 dias para o PCA e a 25°C por 5 dias para o DG18. Após a incubação, prosseguiu-se com a contagem de colônias nas placas e os resultados foram reportados em UFC/placa.

2.3 Método da compactação: foram utilizados dois equipamentos: a) MAS 100 Eco (Merck) e b) Amostrador de Andersen. Para ambos, o volume de ar amostrado foi 283 litros, a altura de coleta fixa a 1,5 m e a higienização dos equipamentos feita com álcool etílico 70%. Após cada coleta, a placa era tampada e incubada - a 35°C por 2 dias para o PCA e a 25°C por 5 dias para o DG18. Após a incubação, prosseguiu-se com a contagem de colônias nas placas e os resultados puderam ser reportados em UFC/placa ou UFC/m³.

2.4 Diagnóstico inicial: foram levantados dados sobre a contaminação de contagem total e bolores e leveduras de 13 salas e 1 ambiente do laboratório de microbiologia do ITAL. A amostragem de ar foi obtida utilizando duas metodologias: a) sedimentação e b) compactação. Cada



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

coleta de ar foi realizada em duplicata (coletas A e B) e o resultado foi expresso como a média aritmética desses resultados.

2.5 Monitoramento (avaliação da performance dosanizanteà base de terpenos em função do tempo de aplicação): consistiu em uma coleta de ar a cada hora de aplicação de sanitizante.A amostragem de ar foi obtida utilizando duas metodologias: a) sedimentação e b)compactação. Cada coleta de ar foi realizada em duplicata (coletas A e B) e o resultado foi expresso como a média aritmética desses resultados.

2.6 Teste da homogeneidade: foram feitas 6 coletas de ar em um ponto extremo da diagonal da sala e, em seguida, o mesmo procedimento foi feito no ponto extremo oposto da diagonal da sala. Foi feita a análise estatística com o método ANOVA no SAS 9.4, para verificar se houve homogeneidade na contagem microbiana na sala.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Diagnóstico inicial:devido aos resultados obtidos do diagnóstico inicial, as salas 9 e 13 foram escolhidas para realização dos testes.

A Tabela 1 apresenta os resultados do diagnóstico inicial da sala 9 (72m³), a qual foi diagnosticada com maior contaminação do ar ambiente:

Tabela 1- Coleta de ar na Sala 09 do laboratório de Microbiologia(Data da Coleta: 09/12)

Metodologias	PCA			DG18		
	A	B	Média	A	B	Média
1-Sedimentação (UFC/placa)	1,0	0,0	0,5	10,0	10,0	10,0
2-Compactação						
a) Andersen (UFC/m ³) ¹	190,8	201,4	196,1	1307,4	1272,0	1289,8
b) MAS 100 Eco (UFC/m ³) ¹	169,61	159,0	164,3	2339,2	1939,9	2139,6

1: volume de ar coletado: 283 litros

A Tabela 2 apresenta os resultados do diagnóstico inicial da sala 13, a qual foi escolhida por ter maior dimensão(157,5m³), controle de temperatura e menor movimentação de pessoas.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Tabela 2- Coleta de ar na Sala 13 do laboratório de Microbiologia (Data da Coleta: 10/12)

Metodologias	PCA			DG18		
	A	B	Média	A	B	Média
1-Sedimentação (UFC/placa)	1,0	2,0	1,5	4,0	4,0	4,0
2-Compactação						
a) Andersen (UFC/m ³) ¹	63,6	53,0	58,3	392,2	289,8	341,0
b) MAS 100 Eco (UFC/m ³) ¹	102,5	113,0	107,8	470,0	629,0	549,5

1: volume de ar coletado: 283 litros

3.2 Monitoramento:

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos do monitoramento feito na sala 9, os quais foram mais expressivos que os resultados obtidos na sala 13:

Tabela 3 – Média dos resultados obtidos pelos métodos da sedimentação e compactação no monitoramento de 8 horas da sala 9 (em ágar DG18 e PCA)

	PCA (UFC/placa)			DG18 (UFC/placa)		
	Sedimentação	MAS 100 Eco	Andersen	Sedimentação	MAS 100 Eco	Andersen
Hora 1	1,0	291,5	171,0	100,5	404,5	404,0
Hora 2	2,5	92,0	103,0	25,5	371,0	397,5
Hora 3	0,5	96,0	116,5	12,0	360,0	391,0
Hora 4	0,5	70,5	37,0	7,5	335,5	369,5
Hora 5	0,0	19,5	38,0	4,5	291,0	348,5
Hora 6	0,0	7,0	28,5	4,0	288,0	302,0
Hora 7	0,0	4,5	8,5	4,5	224,0	262,5
Hora 8	0,5	18,5	9,0	3,0	248,0	261,5
%d ¹	50	93,7	94,7	97,0	38,7	35,3

1-Percentual de descontaminação observada

A Tabela 4 apresenta os dados obtidos do monitoramento da sala 13:



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Tabela 4 – Média dos resultados obtidos pelos métodos da sedimentação e compactação no monitoramento de 6 horas da sala 13 (em ágar DG18 e PCA)

	PCA (UFC/placa)			DG18 (UFC/placa)		
	Sedimentação	MAS 100 Eco	Andersen	Sedimentação	MAS 100 Eco	Andersen
Hora 1	0,0	12,0	13,0	2,0	108,0	88,5
Hora 2	1,0	3,5	10,0	1,0	140,5	90,0
Hora 3	0,5	8,5	12,0	1,0	115,0	107,5
Hora 4	1,5	9,0	15,5	0,0	69,5	64,0
Hora 5	0,5	8,0	8,5	0,0	66,5	81,0
Hora 6	3,0	57,5	33,0	0,5	99,0	81,0
%d ¹	-	-	-	75,0	8,3	8,5

1-Percentual de descontaminação observada

As Tabelas 3 e 4 mostram que a eficiência do tratamento depende das condições iniciais da sala. Algumas das condições que podem ter colaborado para a maior taxa de descontaminação ter sido observada na sala 9 são: maior contaminação inicial, menor dimensão, tipo de microrganismos presentes no ar ambiente.

Na sala 9, verificou-se alta eficiência do sanitizante, reduzindo a contaminação de microrganismos aeróbios mesófilos, utilizando o método da compactação. Para bolores e leveduras, utilizando o mesmo método a eficiência foi menor, quando comparado com o método de sedimentação.

Na sala 13 a contaminação por microrganismos aeróbios mesófilos aumentou, nos dois métodos utilizados e a contaminação por bolores e leveduras reduziu pouco após 6 horas de aplicação do sanitizante, utilizando o método de sedimentação (75%) e compactação (8%).

Apesar de ser a técnica mais popular para quantificação da contaminação do ar em laboratórios, hospitais e indústrias, os resultados obtidos pelo método da sedimentação (UFC/placa) não foram correlacionáveis com a legislação brasileira (UFC/m³) e nem com o método da compactação, por não se conhecer o volume de ar amostrado.

Apesar de ter custo elevado em relação ao método da sedimentação, o método da compactação é mais rápido e apresenta maior confiabilidade, pois é conhecido o volume de ar amostrado e, conseqüentemente, a concentração de microrganismos no meio. A coleta com amostrador de ar também tem maior sensibilidade para determinar a presença de agentes patogênicos no ambiente, uma vez que o método da sedimentação apenas recupera os



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

microrganismos com tamanho suficiente pra permitir deposição na superfície do ágar no tempo de amostragem (15 minutos).

Considerando o crescimento microbiano como exponencial e o fato de que os resultados expressos pelos dois amostradores utilizados sempre se encontraram na mesma casa decimal, concluiu-se que eles apresentaram desempenho equivalente, apesar de o amostrador de Andersen ainda ser o único que atende a norma técnica em vigor da resolução nº9 de 16/01/2003 da ANVISA. No entanto, apesar de os resultados provenientes da leitura em placas foram semelhantes, a tabela de correção que acompanha o MAS 100 Eco elevou numerosos valores obtidos nas coletas feitas com esse equipamento em relação aos obtidos através do amostrador de Andersen consideravelmente. E apesar de ser mais facilmente manipulável, silencioso e rápido (100L de ar/min em comparação com 28,3L de ar/min no amostrador de Andersen) em relação ao amostrador de Andersen, a tabela de correção do MAS 100 Eco limitou o uso do equipamento para contagens maiores que 400 UFC, pois a tabela de correção está definida para valores acima desse.

3.3 Teste da homogeneidade:

As Tabelas 5 e 6 apresentam os dados obtidos no teste da homogeneidade:

Tabela 5 – Teste da homogeneidade sem aplicação de sanitizante

	PCA (UFC/placa)			DG18(UFC/placa)		
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
E1A1	11	14	18	21	24	29
E1A2	12	18	20	30	30	34
E2A1	14	18	19	33	72	146
E2A2	13	16	20	146	154	221

PCA: Coleta em 13/06, Leitura em 15/06, DG18: Coleta em 16/06, Leitura em 21/06

E1 e E2 são dois pontos opostos da diagonal da sala

A1 e A2 são as duas séries em triplicatas de amostra de ar coletadas

Tabela 6 – Teste da homogeneidade com aplicação de sanitizante

	PCA(UFC/placa)			DG18(UFC/placa)		
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
E1A1	19	20	24	51	55	59
E1A2	18	19	21	32	51	52



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

E2A1	5	9	17	45	54	64
E2A2	17	20	24	58	60	71

PCA: Coleta em 14/06, Leitura em 16/06, DG18: Coleta em 17/06, Leitura em 22/06

Legenda: E1 e E2 são dois pontos opostos da diagonal da sala

A1 e A2 são as duas séries em triplicatas de amostra de ar coletadas

A avaliação estatística realizada com os resultados indicou que a contaminação do ambiente foi homogênea, uma vez que os dois pontos amostrados apresentaram valores semelhantes. Estes resultados indicam que o lavador de ar utilizado também apresentou performance homogênea.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos do monitoramento nas salas 9 e 13 indicam que a eficiência da aplicação do sanitizante à base de terpenos depende das condições ambientais e que a adoção desse produto como método de descontaminação do ar deve ser feita mediante um estudo microbiológico criterioso para assegurar que o produto tenha o efeito desejado. A quantificação da contaminação do ar ambiente se mostrou mais eficiente com o método da compactação, apesar do método da sedimentação ser mais usado.

O equipamento MAS 100 Eco apresentou resultados equivalentes ao amostrador de Andersen, o que indica que ele é uma alternativa válida, além de ser mais rápido e facilmente manipulável.

A contaminação do ar ambiente, nas dimensões de salas testadas, se mostrou homogênea. O desempenho do sanitizante aplicado com o lavador de ar utilizado no estudo também se mostrou homogêneo.

5. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida e ao Laboratório de Microbiologia do CCQA-ITAL pela oportunidade de estágio.

Agradeço também às empresas Merck e TerpenOil pela colaboração.

6. REFERÊNCIAS

SCHIRMER, WN. ; PIAN, L. B.; SZYMANSKI, M. S. E. . A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes 13f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia,

Formatado: Inglês (EUA)



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Engenharia Ambiental, Universidade Estadual do Centro-oeste, Irati, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232011000900026&script=sci_arttext>. Acesso em: 25 jan. 2016.

SODRÉ, E. D. Avaliação da qualidade do ar interior de locais públicos: formaldeído, acetaldeído e cetona. 98f Dissertação (Mestrado em Química Ambiental) - Centro de Tecnologia e Ciências, Instituto de Química, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 2006.

INESSA, A. J.; CASTRO, A. M. V.; QUEIROZ, A. L. M.; ARAÚJO, E. L. B.; NASCIMENTO, G. S. M.; VASCONCELOS, M. A. A.; CABRAL, T. M. A.; NASCIMENTO, G. J. Qualidade higiênico sanitário do ar de ambientes de algumas indústrias de alimentos do município de João Pessoa-PB. In: Anais do X Encontro de iniciação à docência UFPB – João Pessoa. Disponível em: <http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais/7.TECNOLOGIA/7CTDTQAMT03.pdf>

SALUSTIANO, V. C. Avaliação da microbiota do ar de ambiente de processamento em uma indústria de laticínios e seu controle por agentes químicos. Viçosa, 48 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.) - Universidade Federal de Viçosa – UFV. 2002.

RESOLUÇÃO nº 9. Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, 16 de janeiro de 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao_RE_n_09.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 09 jan 2016.