



6º Simposio de Ensino de Graduação

ESTUDO DOS ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE UM PRODUTO DESENVOLVIDO NA DISCIPLINA DE PICTA - PALITINHOS DE MILHO

Autor(es)

MARIA DO CARMO BONATTO DE LIMA

Co-Autor(es)

TATIANE MIEKO FUJI
BRUNA FERNANDA NEGRELLI SANTO
CAMILA VALÉRIO
MÁRCIA PATRÍCIA RIBEIRO
VANESSA PAULUCCI SABADIN

Orientador(es)

BRÍGIDA VILLAR DE QUEIROZ

1. Introdução

Sabe-se que os microrganismos são caracterizados, identificados e classificados através de suas propriedades morfológicas e fisiológicas, entretanto, sua classificação quanto ao papel que desempenham nos alimentos pode ser diferenciada, uma vez que cada um pode atuar de uma forma específica sobre determinado alimento em que esteja presente, podendo ser sua presença desejável ou não (FRANCO, 1996).

Por isso, o alimento necessita ser seguro, isto é, aquele no qual os constituintes ou contaminantes que causem perigo à saúde estão ausentes ou abaixo dos limites considerados de risco (FRANCO, 2005).

A microbiota de cereais se apresenta bem característica, sendo mais restrita quando comparada à existente no solo onde são cultivados (JAY, 2005). Isso se deve a vários fatores, destacando-se inicialmente a influência desempenhada pela atividade de água destes alimentos, que por ser mais reduzida (principalmente em alguns cereais), proporciona a morte de algumas porções de bactérias. E aquelas que sobrevivem, podem sofrer inibição ao crescimento desde que estes alimentos estejam armazenados de forma adequada, pois nenhum fator de conservação atua isoladamente (FORSYTHE, 2002).

Embora esse tipo de alimento tenha uma proteção natural, em condições favoráveis, os primeiros microorganismos a aparecerem são as bactérias do gênero *Bacillus* e os bolores (FRANCO, 1996).

Portanto, segundo a Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997, disponibilizada pela ABIMA (2007), qualquer ingrediente, incluindo os cereais, quando armazenados, deve ser mantido em condições tais que evitem sua deterioração, protejam contra a contaminação e reduzam os danos ao mínimo possível. Isso pode ser assegurado através do controle, da adequada rotatividade das matérias-primas e ingredientes e do controle da qualidade e tempo de prateleira das mesmas.

2. Objetivos

Realizar um estudo microbiológico do produto Palitinhos de Milho para se averiguar e determinar seu tempo de prateleira, possíveis contaminações e dar subsídios para que a embalagem do produto corresponda às suas necessidades.

3. Desenvolvimento

O presente trabalho foi realizado durante o 4º semestre do curso de nutrição, na disciplina de Projeto Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PICTA), no ano de 2007.

Primeiramente, o produto foi preparado no domicílio de uma das participantes do grupo, em seguida, foram divididas quatro amostras do produto, contendo cada uma 25g. Todas as amostras foram embrulhadas em papel alumínio, e colocadas em sacos plásticos descartáveis. No dia seguinte, as amostras foram levadas ao laboratório de microbiologia para as posteriores análises.

Assim, foram realizadas quatro amostras para análise microbiológica do produto. A primeira análise foi realizada 15 dias após a sua confecção. Nessa etapa foram macerados 17,5g do produto, este foi colocado num almofariz e foi acrescentado 110mL de água peptonada. Dessa mistura, pegou-se 0,1mL e colocou-se na placa contendo o meio AS – Agar Sabouraud (meio de enriquecimento para fungos) e 0,1mL na placa contendo meio PCA – Plate Count Ágar (meio de enriquecimento para contagem total de microorganismos em placas, ou para manutenção de culturas de bactérias) .

Na segunda amostragem, em que o produto já apresentava 30 dias após sua confecção, colocou-se em um almofariz 225mL de solução salina juntamente com 25g do alimento onde o mesmo foi macerado próximo à chama. Então, retirou-se 1mL do concentrado transferindo-o a um tubo constituindo assim a primeira diluição. Em seguida retirou-se 1mL do tubo nomeado 10^{-1} transferindo-o para um segundo, constituindo a segunda diluição, no tubo nomeado 10^{-2} . Ressalta-se que na determinação dos resultados, especialmente, para essa amostragem, realizou-se coloração Gram e posterior análise no microscópio.

Dessa forma, foram pipetados 0,1mL da primeira solução para plaquear os meios de cultura PCA, AS e BP – Ágar Baird Parker (meio seletivo para *Staphylococcus aureus*). O mesmo conteúdo (0,1mL), foi pipetado do tubo 10^{-2} nos respectivos e equivalentes meios de cultura PCA, AS e BP.

Após 45 dias da confecção do produto, realizou-se a terceira amostragem, em que a partir de 25g do produto previamente fracionado manualmente e 225mL de solução salina, ambos foram adicionados ao almofariz e logo macerados. Em seguida, retirou-se 0,1mL desse recipiente, para serem colocados nas placas AS, PCA, BP e MC – Ágar Mac Conckey (meio seletivo para o isolamento de enterobactérias).

A quarta amostragem foi realizada após 60 dias da confecção do produto, nessa etapa, utilizou-se 25g do produto previamente fracionado manualmente e 225mL de solução salina, ambos foram adicionados ao almofariz e logo macerados. Logo, retirou-se 0,1mL desse recipiente, para serem colocados nas placas AS,

PCA e BP.

Todavia, para a realização do presente trabalho, foram utilizados pipetas, becker, almofariz, placas de Peyer, lâminas, lamínulas, microscópio binocular modelo SCB, marca NIKON, com grau de ampliação de 400 vezes para fungos e de 1000 vezes para bactérias.

4. Resultado e Discussão

Os resultados foram coletados após um determinado intervalo de tempo, sendo que a primeira coleta aconteceu 30 dias após a confecção do produto e a segunda foi realizada após 37 dias. Já a terceira e quarta coleta dos resultados, foi realizada 65 dias após a confecção do produto.

Na primeira verificação dos resultados, pôde-se notar que houve o desenvolvimento de 3 UFC (Unidade Formadora de Colônia) de formato circular, com coloração branco leitoso, dotadas de uma borda denteada, caracterizando colônias de bactérias na placa contendo meio AS, o qual é específico para fungos, o que indica uma possível contaminação cruzada no meio de cultura. Enquanto que na placa contendo meio PCA, não houve crescimento microbiano.

Na segunda verificação, na placa de meio AS 10^{-1} , percebeu-se que houve o desenvolvimento de 1 UFC de borda lisa, forma circular, elevada, de coloração branco leitoso, caracterizando uma colônia de bactérias. Já pela coloração de Gram realizada com essa colônia de bactérias, comprovou tratar-se a mesma de *Bacillus* Gram – negativos. As bactérias desse gênero formam esporos no citoplasma dependendo de condições ambientais, esses esporos são mais resistentes ao calor, à secagem, ao pH quando comparados com as células vegetativas. Esse fato permite ao organismo persistir até que existam condições favoráveis para que o esporo possa germinar e crescer, por isso esse tipo de contaminação requer maior atenção (FORSYTHE, 2002).

No meio de cultura AS 10^{-2} houve um grande desenvolvimento de fungos, totalizando 13 UFC com características bem visíveis de micélios em grande crescimento, de tonalidade preta, com aspecto aveludado ou cotonoso, lembrando o fungo *Aspergillus*. Através da observação no microscópio, pôde-se comprovar que o fungo desenvolvido no meio AS 10^{-2} trata-se do *Aspergillus niger*, comum na deterioração de pêssegos, frutas cítricas e figos. Ressalta-se ainda que existem várias espécies de *Aspergillus*, que podem aparecer nas cores amarela, verde e até negra em uma grande variedade de alimentos (JAY, 2005).

No meio PCA 10^{-1} houve o desenvolvimento de 1 UFC de cor bege, com centro claro, forma circular, de borda lisa, tendo em seu centro, uma pequena elevação e contorno do halo realçado no tom bege. Houve também nessa placa o desenvolvimento de 1 UFC de forma circular, borda lisa e de coloração branco leitoso. Pela análise de Gram, comprovou-se que a colônia de bactérias de coloração bege com halo, trata-se de *Bacillus* Gram – negativos, sendo em sua maioria do tipo *Streptococcus*. Enquanto a colônia de coloração branco leitoso, trata-se de cocos Gram – positivos.

Já no meio PCA 10^{-2} , não houve desenvolvimento de microorganismos. E no meio BP 10^{-1} e BP 10^{-2} , observou-se que não houve crescimento tanto na diluição de 10^{-1} quanto na de 10^{-2} , contudo, observou-se o desenvolvimento de 5 UFC, apresentando em 3 delas, o centro preto fosco, com halo mais claro e em 2 UFC, apenas um ponto preto. Essas características levam a crer que houve contaminação por fungos, uma vez que o meio BP é específico para o crescimento e desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*.

Na terceira verificação, observou-se que no meio AS não houve desenvolvimento microbiano, mesmo estando a amostra incubada por um período de quase trinta dias. Já no meio PCA, pela análise e observação da placa, notou-se que houve o desenvolvimento de 1 UFC, de forma circular, elevada, de

coloração branco leitoso brilhante e 1 UFC de coloração amarelo ouro, esparramada na borda da placa, caracterizando, provavelmente, ser um contaminante do meio externo. No meio BP, houve a formação de 1 UFC puntiforme de cor preta, localizada bem na borda da placa. Por fim, no meio MC, não houve crescimento microbiológico.

Dessa forma, pela análise geral, notou-se que tanto o meio PCA quanto BP apresentaram contaminação por 1 UFC, sendo que no meio PCA, houve contaminação externa de 1 UFC não característica desse meio. Já os demais meios não apresentaram desenvolvimento microbiano.

Na última verificação, notou-se que em nenhuma das placas, contendo os meios AS, PCA e BP, houve desenvolvimento microbiano. Tal fato indica a qualidade microbiológica do produto desenvolvido assim como seu potencial de conservação.

Embora os resultados das amostras tenham mostrado a presença de certos microorganismos, vale lembrar que uma limitação do presente estudo foi a possibilidade de contaminação cruzada por parte daquele que realizou o experimento. Por isso, identificou-se a necessidade de um protocolo para que o andamento do experimento seguisse um padrão correto para sua fidedigna realização.

Cabe ainda ressaltar que as principais causas de contaminação provêm do controle inadequado de temperatura durante o período de confecção, resfriamento e armazenamento; higiene pessoal precária; contaminação cruzada entre alimentos crus e cozidos; monitoramento adequado dos processos (FORSYTHE, 2002). Fato que reforça a necessidade de um protocolo para subsidiar o processo todo.

5. Considerações Finais

No presente trabalho, o crescimento microbiano foi mais observado na segunda amostra do produto, sendo que o microorganismo prevalente foi o fungo *Aspergillus niger*.

Uma vez que os Palitinhos de Milho levam em sua composição trigo, milho e sementes como girassol, linhaça e gergelim, e sendo o *A. niger* hospedeiro comum desses alimentos, sua presença na segunda amostra do produto confirma a contaminação da mesma com esse microorganismo.

Quanto à presença nas amostras 1, 2 e 3 de UFC de bactérias, supõe-se que as mesmas ocorreram devido à contaminação do meio externo (mãos de manipuladores, instrumentos, ar, entre outros).

A produção de alimentos seguros ao consumo é responsabilidade de todos aqueles que compõem a cadeia alimentar, bem como nas indústrias, desde o ato de recebimento de mercadorias até o produto final (FORSYTHE, 2002).

Devido a esse fato, a preocupação com a segurança do alimento que é servido cresce cada vez mais e a indústria alimentícia tem-se aprimorado para atender às expectativas dos consumidores que estão cada vez mais exigentes. Não basta somente encher o produto de conservantes e modificar o sabor de um determinado alimento, o paladar requer um sabor mais próximo ao natural e que seja considerado saudável.

Em função dessa demanda, o programa de análise de perigos por pontos críticos de controle (APPCC), conhecido também como HACCP (*Hazard Analyses and Critical Control Points*) tem sido uma ferramenta de referência quando se trata da produção de alimentos seguros. Trata-se de uma maneira sistematizada de estabelecer pontos de monitoramento em uma linha específica de produção, que visa garantir a seguridade do produto final (FRANCO, 2005).

Referências Bibliográficas

FORSYTHE, S. J. - Microbiologia da Segurança Alimentar – Porto Alegre: ARTMED, 2002.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. Editora Atheneu: São Paulo, 1996.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M; DESTRO, M.T. Microbiologia dos Alimentos. Editora Atheneu: São Paulo, 2005.

JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. 6ªEdição. Editora Artmed., 2005.