



CRICTE 2017

XXVIII Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BISCOITOS E EMPANADOS PROCESSADOS COM E SEM GLÚTEN A PARTIR DE FILÉ DE CARPA HÚNGARA (*CYPRINUS CARPIO*)

Alessandro Hermann

Professor Mestre do departamento de ciências da vida da UNIJUI; alessandro.h@unijui.edu.br

Anagilda Bacarin Gobo

Professora Mestre do departamento de ciências da vida da UNIJUI; agobo@unijui.edu.br

Arthur Mateus Schreiber

Acadêmico do curso de Engenharia Química da UNIJUI; arthur.schreiber@hotmail.com

Laura de Castro

Acadêmica do curso de Engenharia Química da UNIJUI; lauradecastro@hotmail.com

Resumo. O trabalho objetivou avaliar a presença ou ausência de microrganismos do grupo *Coliformes*, da espécie *Staphylococcus coagulase positiva* e do gênero *Salmonella spp* em empanados e biscoitos processados com e sem glúten elaborados no laboratório de nutrição da UNIJUI. Verificou-se a ausência de todos os patógenos analisados, confirmando a qualidade dos produtos.

Palavras-chave: Microbiologia. Alimentos. Glúten.

1. INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento que se destaca pelo valor nutricional, pela quantidade e qualidade das suas proteínas, bem como pela presença de vitaminas e minerais e, principalmente, por ser fonte de ácidos graxos essenciais (SARTORI & AMÂNCIO, 2012). De acordo com MACIEL (2012), o interesse pelo pescado está vinculado ao seu valor nutricional e seus benefícios à saúde, como a redução dos níveis de colesterol, assim como menores incidências de acidentes vasculares cerebrais e de doenças cardíacas.

Uma forma de incentivo ao consumo é a elaboração de alimentos diferenciados à base da carne de peixe, especialmente carpas, uma vez que o Rio Grande do Sul produz em torno de 17 mil toneladas por ano da espécie (IBGE, 2015). Nos produtos processados à base de pescado há a necessidade de atender a legislação vigente (BRASIL, 2001) e não colocar em risco a saúde dos usuários com a veiculação de microrganismos patogênicos. Para isto deve ser realizada a análise microbiológica, a fim de avaliar a presença de microrganismos, bem como as condições de higiene envolvendo a etapa de manipulação em que o alimento foi preparado. (FRANCO & LANDGRAFF, 1996).

A *Salmonella spp* é uma das principais bactérias envolvidas em surtos de doenças de origem alimentar, como a febre tifóide entérica e enterocolites (SHINOHARAI, N. K. S. et al., 2008). *Staphylococcus coagulase positiva* é uma bactéria gram-positiva, apresentando-se na forma de cocos, que faz parte da microbiota humana, mas que pode provocar doenças infecciosas consideradas simples, como espinhas e furúnculos, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, entre outras (SANTOS et al, 2007). A ingestão de alimentos

contaminados com bactérias do grupo dos coliformes pode originar infecções do trato digestivo. Os sinais característicos de infecção por esta bactéria intestinal incluem diarreia, cólicas estomacais, náuseas e vômitos (SAÚDE E FITNESS, 2017).

Um problema que também afeta a saúde pública é a doença celíaca, caracterizada pela intolerância permanente ao glúten e conseqüentemente a má absorção de nutrientes (SDEPANIAN, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos produtos elaborados, através da análise microbiológica, avaliando a presença de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp em biscoitos e empanados processados com e sem glúten a partir de filé de Carpa Húngara.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras da espécie Carpa Húngara foram fornecidas por cooperados associados à Cooperativa dos Produtores de Ajuricaba e Nova Ramada (COPRANA). Os filés foram triturados e armazenados sob refrigeração a -18 °C. A partir dos filés foram preparados os biscoitos e empanados, com e sem glúten pelo grupo de bolsistas e pesquisadores do curso de nutrição no laboratório de nutrição da UNIJUÍ. Os produtos produzidos foram estocados em recipientes adequados, sob refrigeração, para posterior realização das análises no laboratório de análises microbiológicas da Central Analítica - UNIJUÍ, seguindo a metodologia descrita na instrução normativa 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, que dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal (BRASIL, 2003).

2.1 Preparo das amostras de empanados e biscoitos para a análise microbiológica

De cada recipiente foram escolhidos assepticamente aproximadamente 25 g de

empanado e biscoito com e sem glúten, transferidos cada qual para um saco estéril com 225 mL de água peptonada 1 % (v/v) estéril e homogeneizado com auxílio de BAGMIXER®. O mesmo procedimento foi repetido utilizando-se água peptonada estéril 0,1 % (v/v). Estas diluições correspondem a uma proporção 1:10 ou 10⁻¹.

2.2 Determinação de Coliformes

Para a determinação de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CF) foi utilizada a técnica de tubos múltiplos pelo número mais provável (NMP/g) a partir da diluição 10⁻¹. Para a diluição 10⁻² foi retirado 1 mL da diluição inicial e colocado em 9 mL do diluente. Para a diluição 10⁻³ foi pipetado uma alíquota de 1 mL da diluição 10⁻² e colocado em 9 mL do diluente. Para todas as diluições utilizou-se água peptonada na concentração 0,1% (v/v) como diluente. Para as análises foram adicionados 10 mL da diluição 10⁻¹ em três tubos contendo o caldo lauril sulfato de sódio estéril na concentração dupla e 1 mL da diluição 10⁻¹ e de cada diluição posterior em 3 tubos de ensaio contendo o caldo lauril sulfato de sódio na concentração simples. As amostras foram incubadas a 36 °C durante 24 e 48 horas.

A determinação de coliformes totais foi efetuada utilizando-se o caldo verde brilhante bile 2% (v/v) e para os coliformes termotolerantes utilizando-se o caldo *Escherichia coli* (EC broth). Após a semeadura nos dois caldos, incubou-se a 36 °C as amostras com o caldo verde brilhante bile e as amostras repicadas no caldo EC broth foram colocadas em banho maria sob agitação mecânica a 45 °C. Ambas as amostras permaneceram por 24 e 48 horas nessas condições. A partir da leitura da combinação entre os tubos positivos (com crescimento e produção de gás nos tubos de Durham) foi determinado o NMP/g para coliformes totais e coliformes termotolerantes.

2.3 Determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva

Utilizando-se a diluição 10^{-1} com água peptonada estéril 0,1% (v/v), 100 μ L foram adicionados nas placas de Petri contendo o ágar Baird Parker. Com auxílio da alça de Drigalski a amostra foi espalhada de forma homogênea sobre a superfície do substrato. As placas foram incubadas invertidas a temperatura de 36 °C por 24 horas.

2.4 Determinação de *Salmonella* spp

A diluição 10^{-1} preparada com água peptonada estéril 1% (v/v) foi pré-enriquecida em incubadora por 24 horas a temperatura de 36 °C. Em seguida 1 mL da diluição pré-enriquecida foi colocado em tubos contendo o caldo de enriquecimento seletivo Selenito Cistina e 100 μ L da mesma diluição em tubos contendo o caldo Rappaport-Vassiliadis. Os tubos foram mantidos em banho maria sob agitação mecânica a 45 °C. Após 24 horas de enriquecimento, cada caldo seletivo foi estriado, com auxílio de uma alça de platina, em duas placas de Petri, uma contendo o caldo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e a outra o caldo Ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) buscando dessa maneira obter colônias isoladas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados foram avaliados segundo a legislação vigente ANVISA RDC N° 12 de 02/01/2001 (BRASIL, 2001), que estabelece a referência para os microrganismos investigados. Todas as análises foram realizadas em duplicatas.

A tabela 1 apresenta os resultados das análises microbiológicas em biscoitos e empanados com e sem glúten.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas realizadas.

Produto	Parâmetro	Unidade	Resultado	Referência
				ANVISA; RDC N° 12 de 02/01/2001
Biscoito com glúten	Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0	10
	Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0	10
	<i>Salmonella</i> spp/25g	-	Ausência	Ausência
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	UFC/g	< 1,0 x 10 ²	5,0 x 10 ²
Biscoito sem glúten	Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0	10
	Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0	10
	<i>Salmonella</i> spp/25g	-	Ausência	Ausência
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	UFC/g	< 1,0 x 10 ²	5,0 x 10 ²
Empanado com glúten	Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0	10
	Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0	10
	<i>Salmonella</i> spp/25g	-	Ausência	Ausência
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	UFC/g	< 1,0 x 10 ²	5,0 x 10 ²
Empanado sem glúten	Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0	10
	Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0	10
	<i>Salmonella</i> spp/25g	-	Ausência	Ausência
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	UFC/g	< 1,0 x 10 ²	5,0 x 10 ²

A figura 1 demonstra alguns tubos de ensaio contendo o caldo verde brilhante (tubos à direita) e o caldo EC broth (tubos à esquerda) acrescidos de amostra após incubação.



Figura 1. Amostras de biscoito e empanado em caldo verde brilhante e caldo EC broth para determinação de coliformes.

A ausência de gás no interior dos tubos Durham nos caldos verde brilhante e EC, evidenciam a ausência de coliformes totais e termotolerantes.

As colônias típicas de *Staphylococcus* coagulase positiva são negras brilhantes apresentando anel opaco, rodeado por um halo bem claro transparente. A figura 2 demonstra algumas placas de Petri contendo Ágar Baird Parker acrescidos de amostra, nas quais não foram identificadas colônias que caracterizem sua presença nas amostras analisadas.



Figura 2. Amostras de biscoito e empanado em Ágar Baird Parker para determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva.

As colônias típicas de *Salmonella* spp em Ágar BPLS apresentam-se incolores ou de cor rosada, de translúcidas a ligeiramente opacas. No substrato Ágar XLD as colônias apresentam-se com a mesma cor do meio, com ou sem centro escuro. A figura 3 apresenta alguns resultados dos ensaios para a avaliação de *Salmonella* spp nos dois meios de cultura utilizados. É perceptível a ausência de características que evidenciam presença de *Salmonella* spp nas amostras analisadas.

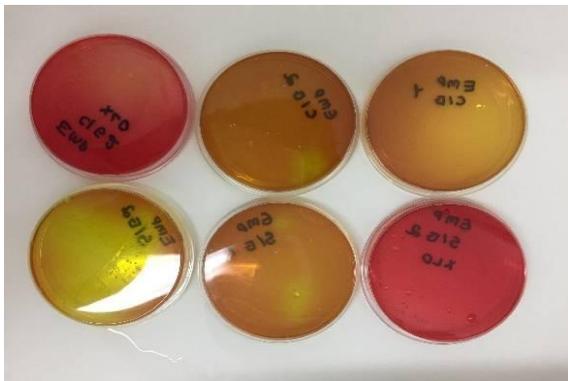


Figura 3. Amostras de biscoito e empanado em Ágar BPLS e XLD para pesquisa de *Salmonella* spp.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da avaliação dos resultados obtidos para as análises dos biscoitos e empanados com e sem glúten, é possível indicar que todos os produtos testados atendem as recomendações estipuladas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.

5. REFERÊNCIAS

- [1]. BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003.
- [2]. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001
- [3].FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- [4]. IBGE. **Produção da pecuária municipal 2015**. Disponível em : <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em: 04 set. 2017.
- [5]. MACIEL, E. S.; GALVÃO, J. A.; OETTERER, M. **A complexa avaliação do consumo de pescado**. *Mercado e consumo*, Recife/PE, n. 11, p. 148-149, 2012.
- [6].SAÚDE E FITNESS . **Os sintomas da infecção pelas bactérias coliformes**. Disponível em : <<http://saude-info.info/os-sintomas-da-infeccao-coliformes.html>>. Acesso em: 04 set. 2017.
- [7].SANTOS, A. L.; et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar . *Bras Patol Med Lab* , v. 43, n. 6 p. 413-423, 2007.
- [8]. SARTORI ,A. G. O.; AMÂNCIO, R. D. **Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil**. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v.19, n. 2, p.83-93, 2012.
- [9].SDEPANIAN, V. L.; . **Doença celíaca: características clínicas e métodos utilizados no diagnóstico de pacientes cadastrados na Associação dos Celíacos do Brasil**. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro/RJ, v. 77, n. 2, p. 131-138, 2001.
- [10].SHINOHARAI, N. K. S. et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciênc. saúde coletiva** , rio de janeiro, v. 13, n. 5, p.111-222, out. 2008.

