

6CCSDNMT06-P

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA, SALADA DE FRUTAS E LEITE COMERCIALIZADOS EM LANCHONETES DO CAMPUS I DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

Dêmia Kellyani Eleoterio Veiga⁽²⁾, Cássia de Andrade Araújo⁽²⁾, Michelle Kércia dos Santos Silva⁽¹⁾, Maria Lúcia da Conceição⁽³⁾, João Andrade da Silva⁽³⁾.
Centro de Ciências da Saúde/Departamento de Nutrição/MONITORIA.

RESUMO

Este trabalho avaliou os resultados das análises microbiológicas realizadas nas aulas práticas da disciplina Microbiologia dos Alimentos e Higiene dos Alimentos, onde foram analisadas amostras de água, leite e salada de frutas comercializadas no campus I da Universidade Federal da Paraíba. Para estas amostras foram realizadas as análises da contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, contagem total de bolores e leveduras, enumeração dos coliformes totais e fecais, pela técnica de fermentação em tubos múltiplos e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva. As amostras de água apresentaram resultados coerentes em relação às diluições utilizadas nas análises microbiológicas. Ao analisar o leite verificou-se que a contagem de aeróbias mesófilas apresentou-se dentro dos padrões de segurança, além da presença de bolores e leveduras; uma contagem elevada para coliformes totais e fecais, assim como a presença de colônias de *Staphylococcus* em pequeno número. Para a salada de frutas observou-se o crescimento elevado de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e fecais; no entanto não foi observado crescimento de colônias de *Staphylococcus*. Perante os resultados obtidos, pode-se concluir que os alimentos analisados apresentaram possíveis falhas durante o seu processamento e/ou armazenamento resultando na contaminação dos mesmos, o que põe à prova a sua qualidade sanitária, podendo causar danos à saúde dos consumidores.

Palavras-chave: Microbiologia, alimentos, contaminação.

1. INTRODUÇÃO

As disciplinas Microbiologia dos Alimentos e a Higiene dos alimentos mantêm estrita relação com a segurança alimentar realizando análises, identificação e controle de microrganismos nos alimentos, além de avaliar as condições higiênico-sanitárias de manipuladores, equipamentos, superfícies, utensílios e ambiente; utilizando métodos oficiais, visando garantir ao alunado um aprendizado consciente sobre a qualidade alimentar.

Os alimentos se constituem ótimos substratos para os microrganismos, por serem excelentes fonte de nutrientes. Esses agentes etiológicos necessitam de água, fontes de energia (Carboidratos), fontes de Nitrogênio (Proteínas), sais minerais e vitaminas para seu crescimento (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Existe ainda, o grupo de microrganismos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) denominados de microrganismos patogênicos. Neste grupo encontram-se

¹⁾ Bolsista, ⁽²⁾ Voluntário/colaborador, ⁽³⁾ Orientador/Coordenador ⁽⁴⁾ Prof. colaborador, ⁽⁵⁾ Técnico colaborador.

os microrganismos produtores de toxinas ou apresentam-se em grande quantidade no alimento, quando ingeridos causam intoxicação ou infecção de origem alimentar, respectivamente (JAY, 2005; FRAZER, 1993).

O campo da microbiologia sanitária inspeciona as instalações de processamento de alimentos e estabelecimentos, onde esses alimentos são produzidos e comercializados com a finalidade de garantir a qualidade dos procedimentos de manipulação de alimentos (BURTON e ENGELKIRK, 2005). Para esses autores, as doenças resultantes da ingestão de bactérias produtoras de toxinas são denominadas doenças infecciosas, entretanto as enfermidades provenientes da ingestão de toxinas bacterianas pré-formadas nos alimentos são denominadas intoxicação alimentar.

Segundo Oliveira et al. (2003) a higiene satisfatória dos alimentos é uma das condições essenciais para a promoção e a manutenção da saúde, sendo que a deficiência nesse controle é um dos fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos.

Dentre os alimentos de amplo consumo, pode-se destacar o leite de vaca pasteurizado, tipo C, a água distribuída à comunidade universitária em bebedouros e a salada de frutas, comercializados em sua grande maioria em estabelecimentos comerciais da UFPB, os quais foram utilizados como amostras nas aulas práticas das disciplinas de Microbiologia de e higiene de Alimentos, pelos estudantes da Universidade Federal da Paraíba.

O leite é um excelente meio de cultura para os microrganismos devido a suas características intrínsecas, como a alta atividade de água, pH próximo ao neutro e riqueza em nutrientes. A contaminação deste pode ocorrer durante a ordenha, porém as principais fontes de contaminação são os equipamentos utilizados durante a sua manipulação, o transporte, o processamento e o armazenamento. (FRANCO; LANDGRAF, 2005)

A água é fundamental em toda atividade humana, quer seja na nutrição ou na higiene dos alimentos, sendo assim um eficiente veículo de doenças, porque não só conserva os agentes etiológicos, como também os transporta a longas distâncias e tem fácil acesso ao corpo humano, interna e externamente. (REIDEL, 2005)

A salada de frutas também é considerada um bom substrato para a proliferação de microrganismos devido ao seu teor de água que favorece o crescimento de leveduras e bactérias; pH ácido, favorecendo o crescimento de bolores e leveduras; a alta manipulação durante o preparo podendo levar a contaminação por microrganismos indicadores; além de condições inadequadas de temperatura durante o armazenamento. (FRANCO; LANDGRAF, 2005)

Visando promover ao alunado conhecimento básico sobre determinados grupos de microrganismos e as análises específicas, despertando-os para a importância do controle microbiológico dos alimentos, foram realizadas as análises da contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, contagem total de bolores e leveduras, enumeração dos coliformes totais e

fecais, pela técnica de fermentação em tubos múltiplos e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva.

2. DESCRIÇÃO

O presente estudo irá avaliar os resultados das análises de produtos como, água, leite e salada de frutas, realizadas em aulas práticas pelos discentes do curso de graduação em Nutrição da Universidade Federal da Paraíba sob a orientação da monitoria no decorrer da disciplina de Microbiologia dos Alimentos e Higiene dos Alimentos.

3. METODOLOGIA

Durante as aulas práticas de Microbiologia dos Alimentos e Higiene dos Alimentos foram realizados diferentes procedimentos microbiológicos com os alunos da disciplina, visando fomentar seus conhecimentos por meio da verificação das condições higiênico-sanitárias de alguns alimentos analisados durante as aulas.

3.1 Coleta de amostras

Para a realização das aulas práticas foram coletadas amostras de água de bebedouros instalados no Centro de Ciências da Saúde, leite de vaca pasteurizado e salada de frutas adquiridos em lanchonetes situadas na UFPB, acondicionadas em recipientes previamente esterilizados e transportados para o laboratório, sob condições assépticas. As análises foram realizadas por grupos de alunos, que assumiam a responsabilidade de executar o procedimento adequado.

3.2 Preparo das diluições decimais

Do leite foi transferido 1 mL da amostra homogeneizada para 11 mL de água peptonada tamponada 0,1 % (Diluyente), obtendo-se a diluição 10^0 , devido a concentração de nutrientes do alimento, bem como sua coloração ser bastante densa. Da diluição 10^0 foram preparadas as diluições 10^{-1} e 10^{-2} , empregando-se tubos com 9 mL de diluyente.

Para a salada de frutas foram pesados 25 g e transferiu-se para 225 mL de água peptonada tamponada 0,1 %, correspondendo a diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição foram preparadas as diluições subseqüente de 10^{-2} e 10^{-3} , respectivamente.

Considerando a amostra de água de bebedouro, foi admitido que a água correspondia a diluição 10^0 , desta foram preparadas as diluições 10^{-1} e 10^{-2} .

3.3 Análises Microbiológicas

A contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada em cada amostra, utilizando a técnica de plaqueamento por profundidade, onde 1 mL de cada diluição foi transferida para placas de Petri estéreis, adicionando-se 15-20 mL de Agar Muller-Hinton, seguida de incubação a 35°C por 48 h (APHA, 1991). A contagem total de bolores e leveduras foi realizada pela técnica de profundidade, por inoculação de 1 mL de cada diluição, adicionando-se 20 de Ágar Sabouraud e incubação a 25 °C por 3 a 5 dias (VANDERZANT, SPLITTSTOESSER, 1992).

Os coliformes totais e fecais foram determinados pela técnica de fermentação em tubos múltiplos, utilizando para o teste presuntivo o caldo lactose e no teste confirmativo caldo lactose bile verde brilhante, ambos com incubação a 35 °C por 48 h. Considerou-se como positivo, os tubos que apresentassem gás no tubo de Durhan. Os coliformes fecais foram determinados por inoculação dos tubos gás positivos em caldo *Escherichia coli* com incubação a 45 °C por 24 h.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada pela técnica spread plate (espalhamento em superfície) empregando-se o ágar Baird-Parker, adicionado da emulsão de gema de ovo com telurito de potássio. De cada diluição, 0,1 mL for transferido para a superfície de placas de Petri estéreis contendo o ágar e em seguida, realiza-se o espalhamento com alça de Drigalsky. As placas ficavam em repouso e em seguida incubadas a 35 °C por 48 h. Após o período de incubação, procedeu-se a contagem das colônias típicas de *Staphylococcus*, apresentavam-se redondas, negras, com halo opaco, rodeado por um halo translúcido (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da contagem padrão em placas das diferentes amostras foram apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Valores representativos da contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas em diferentes amostras

Amostra		Contagem	Log ₁₀ UFC	Média
Água de bebedouro	A1	3x10 ³ UFC/mL	3,48	3,98±0,35
	A2	3x10 ⁴ UFC/mL	4,48	
Leite de vaca pasteurizado	A1	1,6x10 ² UFC/mL	2,20	2,98±0,55
	A2	5,7x10 ³ UFC/mL	3,76	
Salada de frutas	A1	3x10 ³ UFC/g	3,48	3,98±0,35 UFC/g
	A2	3x10 ⁴ UFC/g	4,48	

Legenda: A1: Amostra 1; A2: Amostra 2.

A contagem padrão em placas é utilizada se determinar o número de bactérias viáveis em uma amostra líquida, como leite, água, alimento moído diluído em água ou cultivado em caldo. Neste procedimento são preparadas diluições seriadas da amostra e, depois, níveis de 0,1 a 1,0 mL são inoculados em Ágar Nutritivo (BURTON e ENGELKIRK, 2005).

A legislação Brasileira não prevê limites para a contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas, porém observa-se para a água contagem elevada desses microrganismos, sendo aceitável uma contagem até 10^6 . (FRANCO; LANDGRAF, 2005)

Em relação ao leite observou-se uma contagem dentro da margem esperada, atestando boa qualidade higiênico-sanitária.

Na contagem padrão em placas para as amostras de salada de frutas foi verificada contagem de bactérias elevada. Esse fato pode ser creditado a uma possível manipulação inadequada, alta atividade de água das frutas e temperatura de armazenamento.

Tabela 2 - Valores representativos da contagem total de bolores e leveduras em diferentes amostras

Amostra		Contagem	Log ₁₀ UFC	Média
Água de	A1	$2,5 \times 10^3$ UFC/mL	3,40	$3,9 \pm 0,35$ UFC/ mL
bebedouro	A2	$2,5 \times 10^4$ UFC/mL	4,40	
Leite de vaca	A1	$1,3 \times 10^2$ UFC/mL	2,11	$2,85 \pm 0,71$ UFC/mL
pasteurizado	A2	$3,8 \times 10^3$ UFC/mL	3,58	
Salada de	A1	$2,5 \times 10^3$ UFC/g	3,40	$3,9 \pm 0,35$ UFC/ g
frutas	A2	$2,5 \times 10^4$ UFC/g	4,40	

Legenda: A1: Amostra 1; A2: Amostra 2.

O baixo pH do Agar Sabouraud dextrose (pH 5,6) inibe o crescimento da maioria das bactérias sendo este seletivo para fungos. O pessoal do laboratório deve ter cuidado no cultivo de fungos, uma vez que os esporos de certos fungos são altamente infecciosos (BURTON e ENGELKIRK, 2005).

Ao verificar os resultados da contagem total de bolores e leveduras observou-se a presença de bolores pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rizhopus*, sendo estes gêneros os mais comumente encontrados em alimentos, o que é um dado alarmante diante de seu potencial toxigênico. Ainda pôde-se observar a presença de leveduras arredondadas de aspecto branco leitoso, devido à alta atividade de água dos alimentos, favorecendo o seu desenvolvimento.

Segundo a Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, “o leite não deve apresentar microrganismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento.”

Tabela 3 - Resultados encontrados para coliformes totais e fecais e para *Staphylococcus coagulase positiva* em diferentes amostras.

Amostra		Coliformes Totais (a 35 ^o C)	Coliformes fecais (a 45 ^o C)	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> (UFC/mL)
Salada de frutas	A1	≥ 2,4x10 ³ NMP/g	≥ 2,4x10 ³ NMP/g	Ausente
Salada de frutas	A2	≥ 2,4x10 ³ NMP/g	≥ 2,4x10 ³ NMP/g	Ausente
Leite de vaca pasteurizado	A1	≥ 2,4x10 ² NMP/mL	≥ 2,4x10 ² NMP/mL	1,0 x 10 ²
Leite de vaca pasteurizado	A2	≥ 2,4x10 ² NMP/mL	≥ 2,4x10 ² NMP/mL	1,0 x 10 ¹

Legenda: A1: Amostra 1; A2: Amostra 2.

Comparando os resultados obtidos nas análises de salada de frutas, observamos grande semelhança, em relação a outros autores. PINHEIRO, N. M. S. et al. (2005), ao analisarem 15 amostras de frutas prontas para consumo, encontraram 3 amostras de mamão e uma de melão com níveis de coliformes totais entre 10³ a 10⁴ NMP.g⁻¹ e contaminação com coliformes fecais em uma amostra de melão (3,5 x 10³ NMP.g⁻¹) e outra de mamão (2,4 x 10⁴ NMP.g⁻¹). Com isso, podemos observar que frutas quando submetidas ao manuseio, seja para fabricação de produtos minimamente processados, seja para obtenção de saladas estão altamente susceptíveis a contaminação por coliformes totais e fecais o que indica a importância de boas práticas de higiene dos manipuladores de alimentos.

A ausência de *Staphylococcus* nos mostra um resultado coerente com o observado por PINHEIRO, N. M. S. et al. (2005) que também não encontrou a presença desse microrganismo em suas análises mesmo submetendo ao processamento por manipulação humana. Isso indica que, muito provavelmente as condições intrínsecas dos frutos e as condições ambientais não favoreceram o estabelecimento dessas bactérias.

As amostras de leite analisadas obtiveram valores de coliformes totais e fecais elevados, resultados similares foram constatados por outros autores. (CATÃO; CEBALLOS, 2001) analisaram um total de 75 amostras de leite e constataram que das amostras de leite ensacadas, 22,2% estavam fora dos padrões para coliformes totais e 44,4% para coliformes fecais. Outro estudo realizado em João Pessoa- PB, constatou que 98% das amostras pasteurizadas e ensacadas fora dos padrões em relação à contagem de coliformes totais e fecais (NASCIMENTO, 1982).

A contagem de *Staphylococcus* em leite tipo C mostrou-se inferior aos resultados encontrados por BARBOSA et al. (2007), o qual obteve contagens entre 1,0 x 10² e 1,5 x 10⁵

UFC/mL, se constituindo um alto índice de contaminação em relação ao número de amostras analisadas, das quais 51,4 % estavam contaminadas.

5. CONCLUSÃO

Visto que o nutricionista é um profissional responsável pelo desempenho de várias atividades relacionadas ao controle de qualidade dos alimentos deve-se reconhecer a sua importância na produção de alimentação segura do ponto de vista microbiológico.

Ao término desse estudo constatamos a importância da higiene e do controle microbiológico dos alimentos, as boas práticas de fabricação, o controle dos manipuladores, ambiente e processamento de alimentos, condições essenciais para a promoção e a manutenção da saúde que são respaldados das disciplinas Microbiologia dos Alimentos e Higiene dos Alimentos na vida acadêmica dos discentes do curso de graduação em Nutrição da UFPB.

Através deste estudo pôde-se observar que as condições dos alimentos analisados atestam possíveis falhas durante o seu processamento e/ou armazenamento resultando na contaminação dos mesmos, o que põe à prova a sua qualidade sanitária, podendo causar danos à saúde dos consumidores.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, L.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Incidência de *Staphylococcus coagulase positiva* em leite tipo C e sensibilidade das cepas aos antibióticos. **Revista Higiene dos Alimentos**, v.21, n.148, p.105-109, jan.-fev., 2007.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/seguranca/capacita_rh.htm>. Acessado em: 13 de mar. 2008.

BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro: 7ª ed, 2005.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S.O. *Listeria* spp., Coliformes totais e fecais e *E.coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.21, n.3, Campinas, p.281-287, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612001000300006&lng=en&nr m=iso&tlng=pt#tabela4>. Acessado em: 06 mar. 2008.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Atheneu. São Paulo;, 2005.

FREITAS, M. C. S. **Segurança alimentar e nutricional – algumas considerações**. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/2005/09/10.shtml>>. Acessado em: 06 mar. 2008.

XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, GARBOGGINI, I. L. A. & GALLO, C. R. **Pesquisa de *Salmonella*, *Campylobacter*, Coliformes totais e *Escherichia coli* em Águas de Nascentes (Bicas) em Piracicaba – SP**. Rio de Janeiro- RJ, 1998.

LEITÃO, M.F.F. **Tratado de microbiologia: microbiologia de alimentos, sanitária e industrial**. Manole. São Paulo: 1ª ed., 1988.

LIRA, G.M. et al. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió – Al. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-74, maio, 2001.

NASCIMENTO, D. **Contribuição ao conhecimento das condições bacteriológicas de amostras de leite tipo C, antes e após pasteurização, vendido na cidade de João Pessoa-PB**. 1977/78. 88f 1982, Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de São Paulo, 1982.

OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O.; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 114/115, p. 12-17, 2003.

PINHEIRO, N. M. S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente Processados comercializados em supermercados de fortaleza. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal-SP, v. 27, n. 1, p. 153-156, Abril 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v27n1/24589.pdf>>. Acessado em: 15 de março de 2008.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos Alimentos**. Atheneu. São Paulo: 3ªed., 2005.

VALIAS, A. P. G. S.; SILVA, E.N. Estudo Comparativo de Sistemas de Bebedouros na Qualidade Microbiológica da Água Consumida por Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, v.3, n.1, Campinas, jan./abr., 2001.

VOGT, C. Segurança alimentar: um conceito em construção. **Revista com Ciência**, 2005. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/2005/09/02.shtml>>. Acessado em: 20 fev. 2008.