

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS FUNCIONAIS VENDIDOS A GRANEL**

\*Milena Kemper

\*\*Bruno Tabarelli Scheidt

\*\*\*Sabrina Pinto Salamoni

\*\*\*\*Ana Paula Ariotti

\*\*\*\*\*Ricardo Trezzi Casa

## Resumo

Os alimentos funcionais costumam ser recorrentes na dieta das pessoas que procuram por uma alimentação mais equilibrada, consumindo alguns deles na forma de a granel. Porém, a má manipulação bem como, a falta de higienização nesse processo pode acarretar uma carga microbiológica fora dos padrões preconizados pela ANVISA. O presente estudo teve como objetivo realizar análises microbiológicas de alimentos vendidas a granel nos municípios de Videira e Vidal Ramos, no Estado de Santa Catarina. No total analisou-se 24 amostras a granel coletadas em três estabelecimentos nos dois municípios no ano de 2019. Foram realizadas a contagem total de unidades formadoras de colônias para bactérias e a presença de fungos. Para bactérias seis amostras ultrapassaram a contagem total de unidades formadoras de colônia (UFC) mostrando-se imprópria para o consumo humano. Além disso, nove amostras estavam contaminadas com a presença de fungos que produzem micotoxinas prejudiciais ao ser humano, sendo eles do gênero *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. Contudo, há necessidade de maior controle das condições sanitárias dos alimentos a granel visando à saúde humana.

Palavras-chave: Qualidade de alimentos. Fungos e bactérias patogênicos para humanos.

## 1 INTRODUÇÃO

Os consumidores estão se atentando cada vez mais para a qualidade dos alimentos e a redução dos riscos à saúde na prevenção de infecções de origem alimentar, conhecida também por toxi-infecção alimentar.

Os efeitos podem ser ampliados em nível mundial pelo aumento da mobilidade das populações e pela globalização do comércio alimentar, porém quando o alimento é processado a partir de matéria-prima de boa qualidade, manipulado e armazenado de forma correta não trás riscos a saúde (LIOTTI et al., 2015).

Alimentos com propriedades funcionais como: granola, frutas secas, linhaça, trigo, flocos de milho/arroz e sementes oleaginosas (amendoim, nozes, castanha-do-pará) vêm ganhando mais espaço no mercado. Portanto a segurança alimentar aliada a alimentação saudável é uma discussão interdisciplinar sobre a qualidade dos alimentos, seja físico, químico ou microbiológico. (GRANADA et al., 2003; AZEVEDO e RIBAS, 2016).

Os fatores extrínsecos (temperatura e umidade relativa do ar) e os fatores intrínsecos (pH, potencial redox e composição do alimento) são responsáveis pelo desenvolvimento microbiano nos alimentos, além da condição física e sanitária do grão (DEBORAH CHEN, 2006).

Os microrganismos como fungos são indesejáveis nos alimentos, pois, são capazes de produzir micotoxinas (AZEVEDO & RIBAS, 2016). Contudo, a existência de coliformes sugere que haja outros micro-organismos patogênicos capazes de provocar infecções ou intoxicações importantes no homem. A presença de coliformes termotolerantes *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* é um risco de segurança alimentar (VOLCÃO et al., 2016; SILVA, 2017).

Segundo a Resolução Federal nº 263 de 2005, os produtos devem ser obtidos, processados, embalados, armazenados, transportados e conservados em condições que garantam a higienização sanitária e ambiental e que cumpram à legislação de Boas Práticas de Fabricação

(BRASIL, 2005) e os órgãos fiscalizadores devem garantir o direito de alimentos seguros (BRASIL, 2001).

Considerando o aumento pelo consumo de alimentos funcionais e que o comercio a granel pode representar um risco, o presente estudo teve como objetivo realizar análises microbiológicas de amostras de alimentos vendidas a granel nos municípios de Videira e Vidal Ramos, no Estado de Santa Catarina.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 MATERIAL E MÉTODO

Foram realizados dois experimentos no ano de 2019, um no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) e o outro no laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado de Santa Catarina no centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC).

#### 2.1.1 Experimento I (UNOESC/Videira)

Foram realizadas quatro coletas em três pontos totalizando 12 amostras nos municípios de Vidal Ramos e Videira. As amostras consistiam em: granola, aveia, mix de oleaginosas, frutas cristalizadas, blueberry, damasco, ameixa sem caroço, mix com coco e coco ralado. Neste experimento foram avaliadas apenas as condições microbiológicas de bactérias.

As amostras foram transportadas em temperatura ambiente e na própria embalagem do comerciante para o Laboratório de Microbiologia da universidade. Como critério de inclusão, foi verificado se os estabelecimentos coletados são credenciados pela Prefeitura Municipal de Videira e Vidal Ramos.

Para cada amostra foram pesadas 25g em uma balança analítica estéril, buscando não ter novas contaminações. Após serem pesadas foram colocadas em um Erlenmeyer com 225 mL de solução salina 0,85% estéril.

Logo após, as amostras ficaram 30 minutos no agitador (incubadora Shaker) a fim de que a solução fosse homogeneizada.

Diluições decimais seriadas foram realizadas até 10<sup>-3</sup> em tubos de ensaio contendo 9mL de solução salina estéril com a ajuda de micropipetadores de 1 mL. Sendo transferido 0,1 mL das diluições para as placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA) e espalhadas com a alça de Drigalski, sendo o processo repetido em triplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48h. Sendo feita a contagem total de unidades formadoras de colônias.

### 2.1.2 Experimento II (CAV/UDESC)

Foram realizadas três coletas em dois pontos distintos no município de Videira totalizando 12 amostras. As amostras consistiam em: cereal de milho, frutas cristalizadas, blueberry, goji berry, damasco, uva-passa, ameixa sem caroço, mix com coco e coco ralado. Neste experimento foram avaliadas apenas as condições microbiológicas de fungos.

As amostras foram transportadas em temperatura ambiente e na própria embalagem do comerciante para o Laboratório de Fitopatologia da universidade. Como critério de inclusão, foi verificado se os estabelecimentos pesquisados são credenciados pela Prefeitura Municipal de Videira.

Para cada amostra foram pesadas 25g em uma balança analítica estéril, buscando não ter novas contaminações. Após serem pesadas foram colocadas em um Erlenmeyer com 225 mL de solução salina 0,85% estéril. Logo após, as amostras ficaram 30 minutos no agitador (incubadora Shaker) a fim de que a solução fosse homogeneizada.

Sendo transferido 0,1 mL das diluições para cada placa de Petri contendo batata-sacarose-ágar (BSA) e espalhadas com a alça de Drigalski, sendo o processo repetido em quatriplicata. As placas de Petri foram incubadas a 25°C por sete dias com fotoperíodo de 12 horas. Posteriormente foi realizada a avaliação de presença e ausência de unidades formadoras de colônias e a identificação do gênero de cada fungo.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 2.2.1 Experimento I (UNOESC/Videira)

De acordo com os resultados obtidos dois dos três estabelecimentos testados não estão de acordo com a RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2001, desrespeitando o limite de  $5 \times 10^2$  UFC para bactérias (Tabela 1). Contudo, das 12 amostras coletadas seis estavam consideradas impróprias para o consumo humano, ultrapassando os valores preconizados da ANVISA (Figura 1).

O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas do produto e o de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal. A presença de *Staphylococcus aureus* pode ser interpretada como indicativo de contaminação a partir da pele, boca, e das fossas nasais dos manipuladores, bem como a limpeza e da sanitização inadequada dos materiais e dos equipamentos (GRANADA et al., 2003).

A presença desses microrganismos evidencia contaminação a possibilidade do produto veicular a outros microrganismos patogênicos, podendo causar problemas a saúde (MATSUBARA, 2017). Segundo a Agência Nacional de Vigilância (ANVISA), medidas de prevenção objetivam ponderar a qualidade de produtos comercializados e evitar que a população tenha acesso ao consumo de substâncias possivelmente tóxicas.

### 2.2.2 Experimento II (CAV/UDESC)

Os resultados obtidos mostraram a presença de fungos nos dois estabelecimentos testados. Das 12 amostras coletadas nove estavam contaminadas, tendo nove amostras com *Penicillium* sp., oito amostras com *Aspergillus flavus*, três amostras com *Aspergillus niger*, duas amostras com *Alternaria* sp. e uma amostra com *Fusarium* sp. (Tabela 2).

De acordo com os resultados obtidos houve uma baixa prevalência do gênero *Fusarium* nas amostras coletadas (Tabela 2). Este fungo é encontrado no campo, onde infecta as sementes e grãos durante o amadurecimento (MARCIA & LAZZARI, 1998). As pesquisas alertam que dependendo das condições de temperatura e umidade, este fungo pode também ser encontrado durante o armazenamento dos produtos.

As fumonisinas, toxinas produzidas por esse gênero foram detectadas naturalmente em vários alimentos, principalmente em milho e derivados produzidos em vários países, inclusive no Brasil, indicando a exposição do homem às micotoxinas (POZZI et al., 2002). Este gênero é um importante causador de infecções profundas em pacientes transplantados, neutropênicos e que fazem diálise. Sendo assim *Fusarium* é frequentemente isolado em casos com humanos (NEGRONI et al., 1997).

O grupo de maior contaminação em grãos armazenados e subprodutos alimentícios constituem-se do gênero *Aspergillus* (Marcia e LAZZARI, 1998), indicando uma concordância com os resultados obtidos neste trabalho, onde foi constatada em oito das 12 amostras.

O fungo *Aspergillus flavus* (Figura 2), o qual foi constatado nas amostras a granel é um importante produtor de toxinas, denominadas aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (RUPOLLO et al., 2004), onde pequenas quantidades são suficientes para causar atividade tóxica e aguda em vários animais, inclusive provocando danos hepáticos e hemorragias no trato gastrointestinal humano (FRANCO & LANDGRAF, 2002).

Conforme a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) que gerencia o Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos (PNMQSA), a presença de aflatoxina é um dos parâmetros analisados na verificação da qualidade dos produtos, a fim de prevenir e garantir a melhoria da qualidade sanitária dos alimentos comercializados no país.

O gênero *Penicillium* (Figura 1) foi encontrado em nove das 12 amostras analisadas indicando a maior prevalência neste trabalho. É um gênero que possui várias espécies onde estão envolvidas no processo de deterioração

em cereais e produção de micotoxinas. Estão presentes também em milho e derivados, crescendo em condições nas quais a umidade apresenta-se mais elevada do que a exigida pelo gênero *Aspergillus* (RIBEIRO et al., 2003).

Algumas espécies desse gênero estão presentes geralmente em produtos armazenados (RUPOLLO et al., 2004), é também um importante produtor de micotoxinas, como a toxina patulina, encontrada frequentemente em frutas e cereais.

Embora a presença do conjunto micelial dos fungos não seja constatada em determinados alimentos, não significa que os mesmos estejam isentos de toxinas, pois muitas micotoxinas podem permanecer viáveis mesmo na ausência do fungo, sendo assim, não são facilmente degradáveis (NUNES et al., 2003).

Além da presença de vários outros fungos, fo identificado também a presença de *Rhizopus stolonifer*, sendo normalmente encontrados em vegetais, frutas e grãos armazenados, sendo este considerado um contaminante comum dos locais onde os produtos armazenados são processados (MARCIA & LAZZARI, 1998).

### 3 CONCLUSÃO

O controle da qualidade microbiológica nos alimentos é de grande relevância, visto que, dos três estabelecimentos testados somente um se enquadra nos critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Tendo os outros dois estabelecimentos apresentados valores superiores ao permitido para o consumo humano.

Além disso, identificou-se a presença dos fungos *Penicillium* sp., *Aspergillus Flavus* e *Fusarium* sp. que são causadores de micotoxinas prejudiciais à saúde humana.

Por tanto, há necessidade de maior controle das condições higiênico sanitárias durante todo o processamento dos alimentos, principalmente na manipulação dos alimentos a granel pelos estabelecimentos, de maneira a manter a qualidade do produto final, visando assim à saúde da população.

## REFERÊNCIAS

DE AZEVEDO, E.; DE OLIVEIRA R.M.T.G. Estamos seguros&63; Reflexões sobre indicadores de avaliação da segurança alimentar e nutricional. Revista de Nutrição, v. 29, n. 2, p. 241-251, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o "Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos sobre alimentos". Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15fd6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15fd6-3767-4527-bfac-740a0400829b)>. Acesso em: 10 jan. 2020.

BRASIL. Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o "Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos" constante do anexo desta resolução. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjlwMw%2C%2C>> acesso: 11 de fevereiro de 2020.

DEBORAH CHEN, H.; F, G. Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. FEMS microbiology reviews, v. 29, n. 1, p. 83-98, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos, 1. ed. São Paulo: ATHENEU, 2002.

GRANADA, G. et al. Caracterização de granolas comerciais. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 23, n. 1, p. 87-91, 2003.

LIOTTI, L.G. et al. Preocupação dos consumidores com a alimentação saudável. Idea, v. 6, n. 2, 2015.

MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. Monitoramento de Fungos em milho em grão, grits e fubá. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 18, n. 4, p. 363-367, 1998.

MATSUBARA, M.T. Rastreamento bacteriano nos pontos críticos de contaminação por coliformes e Escherichia coli em indústria de laticínios na região norte do estado do Paraná. 2017.

NEGRONI, R. et al. Ulcera cutanea provocada por hongos del genero Fusarium. Rev. Soc. Bras. Med. Trop.,Uberaba, v. 30, n. 4, p. 323-328, 1997.

NUNES, I. L. et al. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.



POZZI, C. R. et al. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 5, p.901-907, 2002. [ Links ]

RIBEIRO, S. A. L. et al. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. *Rev. Bras. Bot.*, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 223-229, 2003.

RUPOLLO, G. et al. Sistemas de armazenamentos hermético e convencional na conservabilidade de grãos de aveia. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1715-1722, 2004.

SILVA, J. F. M; FEITOSA, A. C; RODRIGUES, R. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. *Desafios*, v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017.

VOLCÃO, L.M. et al. Saúde e Segurança Alimentar: Isolamento e análise do perfil de suscetibilidade de bactérias patogênicas de alimentos. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 6, n. 4, p. 197-202.

Peraica, M.; Radic, B.; Lucic, A.; Pavlovic, M. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bol. OMS*. n.2, 2000.

Sobre o(s) autor(es)

\*Acadêmica do Curso de Bacharelado em Nutrição - UNOESC / Videira

\*\*Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PPGPV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

\*\*\*Professora orientadora – Unoesc / Videira

\*\*\*\*Professora coorientadora - Unoesc / Videira

\*\*\*\*\*Professor do PPGPV/UDESC.

E-mails: milena-kemper@hotmail.com

brunotabarelli.s@hotmail.com

sabrina.salamoni@unoesc.edu.br

anapaula.ariotti@unoesc.edu.br

ricardo.casa@udesc.br

Tabela 1 - Média de unidades formadoras de colônias de bactérias encontradas nas amostras nos três estabelecimentos.

Valores de (UFC)	Estabelecimento:	Estabelecimento:	Estabelecimento:
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Valor Mínimo	10 <sup>2</sup>	Ausência	2x10 <sup>3</sup>
Valor Máximo	3x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>3</sup>	2,4x10 <sup>3</sup>

Fonte: Os autores, 2020

Tabela 2 – Presença e ausência de fungos encontrados nas amostras coletadas no estabelecimento A e B no município de Videira.

	Amostras	Penicillium sp.	Aspergillus flavus	Aspergillus niger	Alternaria sp.	Fusarium sp.
Estabelecimento A	Damasco	Presença	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
	Bluberry	Presença	Presença	Presença	Ausência	Ausência
	Frutas Cristalizadas	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Goji Berry	Presença	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
	Ameixa sem caroço	Presença	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Uva Passas	Ausência	Presença	Ausência	Ausência	Presença
	Cereal de Milho	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Coco ralado	Presença	Presença	Presença	Presença	Ausência
Estabelecimento B	Damasco	Presença	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
	Mix com castanha e coco	Presença	Presença	Presença	Ausência	Ausência
	Coco ralado	Presença	Ausência	Ausência	Presença	Ausência
	Frutas Cristalizadas	Presença	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
<b>Total</b>		<b>9</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

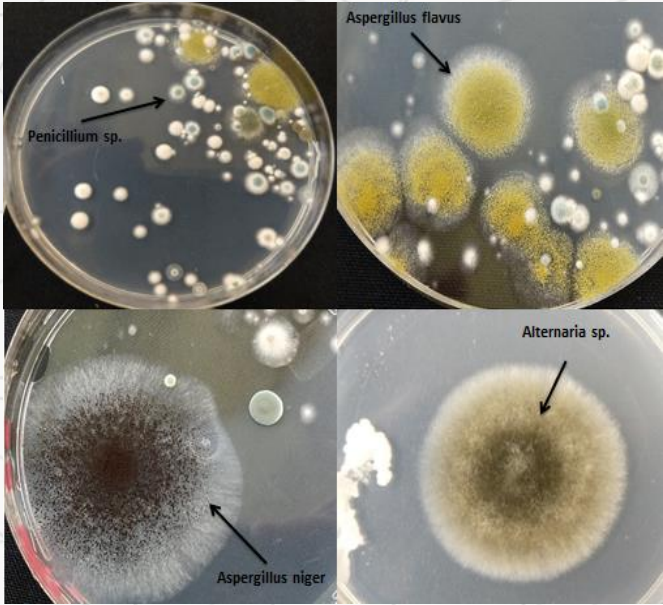
Fonte: Os autores, 2020

Figura 1 - Placa de Petri com o meio Plate Count Agar (PCA) com a presença de unidades formadoras de colônia (bactérias).

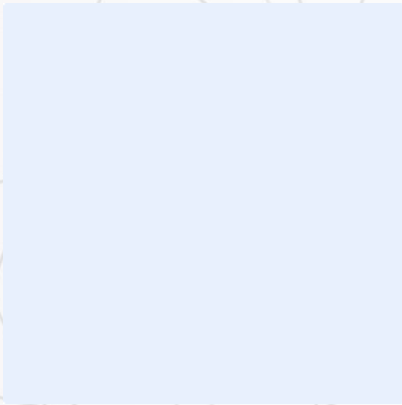


Fonte: Kemper, M.

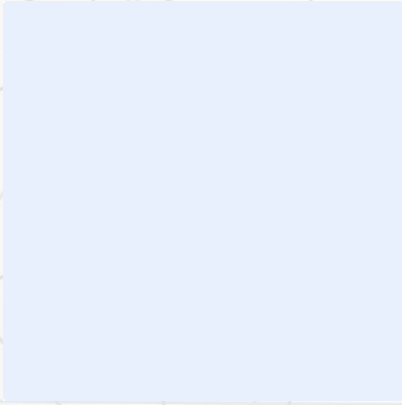
Figura 2 - Fungos encontrados nas amostras coletadas nos estabelecimentos a granel.



Fonte: Scheidt, B.T.



Fonte:



Fonte: