

EXPERIMENTAÇÃO EM AULA: AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES EM SALGADOS COMERCIALIZADOS EM ALEGRE

Thays Eller Vasconcelos de Lima, Leonardo Bindelli Verly, Cecília Fernandes Patta Muller Marques, Vinicius Valadão Machado De Carvalho, Icaro Siqueira Casagrande, Rodolfo Moreira Baptista.

Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitário, S/N - Guararema, Alegre - 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, thayseller22@gmail.com, leobindelli@gmail.com, ceciliafernandespmm@gmail.com, viniciusmachado3d@hotmail.com, icaro.casagrande@hotmail.com, rodolfombaptista@outlook.com.

Resumo

Este trabalho analisa a presença de coliformes totais e termotolerantes em salgados comercializados em Alegre, visando avaliar a segurança alimentar. A pesquisa, motivada pela crescente demanda por alimentos prontos para consumo, utilizou métodos de coleta e análise microbiológica. Os resultados indicaram conformidade com os padrões da RDC N° 724, de 1° de julho de 2022, destacando a eficácia das boas práticas de fabricação e a importância da capacitação dos profissionais manipuladores de alimentos.

Palavras-chave: Contaminação alimentar. Microbiologia de alimentos. Boas Práticas de Fabricação.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Microbiologia

Introdução

Com a inserção do indivíduo no mercado de trabalho e o fácil acesso aos alimentos prontos para consumo, houve um grande crescimento no consumo diário das refeições fora de suas residências. Alimentos que estão disponíveis de forma rápida e prática muitas vezes não são preparados e comercializados com os devidos cuidados sanitários, tornando-os assim uma possível fonte de contaminação e transmissão de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (Moura *et al.*, 2020; Macedo *et al.*, 2021).

As DTAs ou Doenças veiculadas por alimentos (DVAs) podem ser causadas pela ingestão de água ou alimentos contaminados, na maioria das vezes por bactérias, fungos, vírus e parasitas. Uma vez que estas patologias que podem levar o indivíduo a óbito, é de suma importância que o controle de qualidade microbiológico seja realizado nesses alimentos, sendo um fator primordial para a promoção da saúde. (Rodrigues, 2012).

De acordo com Franco e Landgraf (2000), uma das maneiras de avaliar as condições higiênico-sanitárias de um estabelecimento é a realização de análises microbiológicas dos alimentos utilizando micro-organismos indicadores destas condições, como a *Escherichia coli*, Bolors e Leveduras, *Staphylococcus aureus*, entre outros. Sendo assim, as condições higiênico-sanitárias não só do ambiente, mas também do manipulador, dos equipamentos e utensílios são fatores fundamentais que influenciam na qualidade microbiológica do produto final (Oliveira; Santos, 2015).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma análise microbiológica de coliformes em um alimento pronto para consumo, realizada durante as aulas práticas da disciplina de Microbiologia de Alimentos na Universidade Federal do Espírito Santo.

Metodologia

Para execução do trabalho foram utilizados tubos contendo caldo LST (Lauril Sulfato Triptose), BVB (Bile Verde Brilhante), EC (*Escherichia Coli*), frasco contendo 225 mL de solução diluente (água peptonada a 1%) e tubos de ensaio contendo 9 mL da mesma solução. Os caldos LST, BVB, EC e a solução foram previamente preparados no laboratório de Análises Clínicas, do Centro do Ciências

Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Inicialmente, a bancada foi limpa com álcool 70% para evitar possíveis contaminações cruzadas durante o procedimento, em seguida o bico de Bunsen foi aceso, gerando a zona de esterilização na qual foi realizada o processo. Com o auxílio de algodão e álcool 70%, a embalagem da amostra foi brevemente saneada e em seguida homogeneizada, com o objetivo de se obter uma amostra representativa.

O saco esterilizado foi aberto e 25g da amostra foi pesada e adicionada a 225 mL da solução diluente, correspondendo à diluição 10^{-1} (Figura 1). Subsequente, com auxílio de pipetador automático, foi transferido uma alíquota de 1 mL da diluição 10^{-1} para um tubo contendo 9 mL de solução salina, esse tubo está relacionado com a diluição 10^{-2} . As diluições seriadas foram realizadas até obter a diluição correspondente a 10^{-3} . Para a execução do teste presuntivo para a enumeração de coliformes em alimentos, foi utilizado o pipetador automático para inocular três séries de três tubos com caldo LST (Lauril sulfato triptose) e tubos de Durhan invertidos, a partir de 1mL de cada uma das diluições preparadas anteriormente, correspondentes aos tubos 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , em triplicata. Os tubos de Durhan foram empregados para detectar a presença de gases produzidos por microrganismos da família Enterobacteriaceae.

Figura 1 – Diluição correspondente à 10^{-1}



Fonte: Os autores (2024).

Por fim, as amostras foram respectivamente identificadas e incubadas a uma temperatura de $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por um período de 24 a 48 horas em uma estufa bacteriológica. As amostras foram analisadas ao longo desse período para obtenção dos resultados, enquanto, os tubos positivos para crescimento microbiano obtidos em cada uma das análises foram comparados com a tabela NMP para as diluições seriadas de três tubos. Os resultados foram expressos como NMP presuntivo de coliformes por mililitro para os tubos contendo caldo LST, como não houve indicação de contaminação, não foi necessário utilizar os caldos BVB e EC. Em caso de amostras com resultados positivos, os caldos BVB e EC seriam utilizados para confirmação de coliformes totais e fecais, esses meios são seletivos para bactérias da família Enterobacteriaceae e bactérias termotolerantes como a *E. Coli*. A escolha dessa metodologia se justifica pela sua eficácia em detectar a presença de microrganismos indicadores de contaminação, que podem comprometer a segurança alimentar desse tipo de produto.

Resultados

Após a incubação por 24h em temperatura de $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, a amostra não apresentou indícios de contaminação por coliformes totais devido à ausência de formação de gás no interior do tubo de Durhan (Figura 2).

Figura 2 – Tubos de ensaio com caldo LST após 24h de incubação



Fonte: Os autores (2024).

Discussão

Os coliformes são bactérias gram-negativas, não formadoras de esporos, que fermentam a lactose produzindo gás e ácido em até 48 horas a temperaturas entre 35 e 37°C. Pertencem à família Enterobacteriaceae e incluem gêneros como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. Essas bactérias estão amplamente distribuídas no ambiente, especialmente no trato intestinal de animais de sangue quente, incluindo humanos. A presença de coliformes em amostras de água ou alimentos é frequentemente usada como indicador de contaminação fecal, sugerindo a possível presença de patógenos entéricos, o que representa um risco à saúde do consumidor, podendo levar ao desenvolvimento de doenças como gastroenterites (Martin *et al.*, 2016; Twedt; Boutin, 1979).

A amostra utilizada não apresentou desenvolvimento microbiano para o teste de coliformes, demonstrando estar livre desse agente contaminante. Conforme apontado por Dos Santos (2009), a capacitação dos profissionais que manipulam diretamente os alimentos é de extrema importância para garantir a segurança microbiológica do produto final. Dessa forma, o resultado obtido do experimento pressupõe que o produto utilizado como amostra para esse experimento foi preparado por manipuladores devidamente capacitado.

Além da manipulação, demais fatores podem afetar a segurança microbiológica dos alimentos, como a temperatura de preparo. A amostra em questão foi preparada através da técnica de imersão em gordura vegetal à alta temperatura, que conforme Sanibal e Filho (2002), possui como faixa ideal a temperatura de 170°C a 190°C. Essa faixa de temperatura ultrapassa a temperatura máxima de sobrevivência da grande maioria dos microrganismos, o que torna esse processo um dos principais motivadores para o não desenvolvimento microbiano na amostra escolhida.

A RDC N° 724, de 1º de Julho de 2022, discutida ao decorrer da disciplina de microbiologia de alimentos, define alguns parâmetros, como os padrões microbiológicos para diferentes tipos de alimento, os critérios para coleta e amostragem, entre outros. O resultado obtido no experimento indica o cumprimento desta resolução, encontrando-se dentro dos limites propostos para a segurança microbiológica do alimento, segundo a Instrução Normativa n° 161, apontada na mesma RDC.. (Brasil, 2022).

O estudo orientado em microbiologia é crucial para a formação de profissionais capacitados e conscientes da importância dos microrganismos na saúde, na indústria e no meio ambiente. Mediante uma abordagem orientada, o que facilita a compreensão de conceitos complexos e a aplicação prática do conhecimento. Esse método de ensino promove um aprendizado profundo e significativo, desenvolvendo habilidades críticas de análise, investigação e resolução de problemas. Além disso, incentiva a curiosidade científica e a autonomia, preparando os alunos para enfrentar desafios reais e contribuir significativamente para os avanços na área (Santos; Prudêncio, 2020).

Conclusão

A análise microbiológica realizada demonstrou que a amostra de alimento testada cumpriu os requisitos de qualidade estabelecidos pela RDC N° 724, de 1º de Julho de 2022, evidenciando a

ausência de contaminação por coliformes totais na amostra analisada, ressaltando a eficácia das práticas de higiene e manipulação adotadas durante o processo de produção. Esse resultado sugere que as Boas Práticas de Fabricação e Manipulação de Alimentos (BPFMA) foram seguidas de maneira adequada, já que não foi detectada a presença de coliformes na amostra. Entretanto, o teste adotado limita-se a bactérias dessa classe, não tornando-o decisivo quanto à segurança microbiológica do alimento em questão. A capacitação contínua dos manipuladores de alimentos, a adequada higiene dos utensílios e equipamentos, e o monitoramento sistemático das condições de manipulação são fundamentais para garantir a segurança dos produtos alimentares, e, conseqüentemente, garantir a saúde da população.

Referências

- ARBOS, K. A. *et al.* Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 215-220, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 724, de 1º de Julho De 2022. **Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 06 de jul. 2022.
- CARMO, G. M. I. *et al.* Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, Boletim Eletrônico Epidemiológico, 1999-2004, vol. 6, Pág:1-7, 2005.
- DOS SANTOS, J. M. **Implementação de um Sistema de Segurança alimentar numa Micro-Empresa de Produção de Salgados**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnica de Lisboa (Portugal). 2009.
- MARTIN, N. H. *et al.* The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1549, 2016.
- MIDDLEJ, L. C. *et al.* Análise microbiológica do recheio de salgados de uma fábrica em Brasília, Distrito Federal. **Universitas. Ciencias da Saude**, v. 12, n. 1, 2014.
- OLIVEIRA, A. B. A. de *et al.* Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA. Porto Alegre. Vol. 30, n. 3 (Jul./set. 2010), p. 279-285**, 2010.
- OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. da C. **Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças**. 2015.
- PEIXOTO, L. O. *et al.* Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces minimamente processadas, comercializadas em supermercados da cidade de Fortaleza, Ceará. **Nutrivisa-Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 1, n. 1, p. 27-31, 2014.
- RITTER, R. *et al.* Análise da qualidade microbiológica do queijo colonial, não pasteurizado, produzido e comercializado por pequenos produtores no Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**. v.15, n.87, p.51-55, 2001.
- RODRIGUES, P. **A importância nutricional das hortaliças**: Composição das hortaliças. Brasília: EMBRAPA, 2012. E-book (16p.) (cores e sabores A importância nutricional das hortaliças). color. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355126/2250572/revista_ed2.pdf/74bbe524-a730-428f-9ab0-ad80dc1cd412#:~:text=As%20hortali%C3%A7as%20verdes%20apresentam%20uma,%2C%20ferro%2C%20magn%C3%A9sio%20e%20pot%C3%A1ssio. Acesso em: 16 ago. 2024

SANIBAL, E. A. A.; FILHO, J. M. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. **Food Ingr South Am**, v. 1, n. 3, p. 64-71, 2002.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 1997, p.31a 39, 265 a 276.

TWEDT, R. M.; BOUTIN, B. K. Potential public health significance of non-Escherichia coli coliforms in food. **Journal of food protection**, v. 42, n. 2, p. 161-163, 1979.

WELKER, C. A. D. *et al.* Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.

Agradecimentos

Às monitoras da disciplina de Microbiologia de Alimentos (DFN10644), Yasmin Pena Santos e Mirian de Souza Seixas, pelo apoio durante a realização das tarefas e à Universidade Federal do Espírito Santo pelo espaço e recursos cedidos.