

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO DOCE BEIJO ALEMÃO SUBMETIDO A DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

CAMILA BORGES DE CANTOS¹; DAVID DE ANDRADE CABRAL²; GLÓRIA CAROLINE PAZ GONÇALVES³; JÉSSICA BOSENBECKER KASTER⁴; VITÓRIA MACHADO MULLING⁵; ELIEZER AVILA GANDRA⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – camilaborgesscts@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – David.cab1299@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gloriacarolinepg@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – jessica_b_k@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - vitoria.mulling2004@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os doces brasileiros fazem parte de uma rica e diversa tradição culinária, marcada pela mistura de grandes influências indígenas, africanas e europeias, também refletem o uso criativo de ingredientes abundantes no país, possuindo diversas especialidades na área da confeitaria. No entanto, apesar desses alimentos terem boa qualidade sensorial, é fundamental que apresentem segurança microbiológica. As doenças transmitidas por alimentos e água podem ser definidas como qualquer doença de natureza infecciosa ou tóxica, causada pelo consumo de alimentos ou bebidas contaminadas com agentes patogênicos ou suas toxinas (SILVA et al, 2018).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) vem regulamentando a produção de alimentos seguros no Brasil, um exemplo é a IN nº 161 de 1º de julho de 2022 (BRASIL, 2022), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e determina os critérios para conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano.

Bacillus cereus é um patógeno alimentar formador de endósporos, que pode sobreviver a muitos processos de cocção, este microrganismo pode causar intoxicação emética caracterizada por náuseas e vômitos através do consumo de massa ou arroz cozido contaminados (FORSYTHE, 2013 e CAMPBELL-PLATT, 2015).

Salmonella é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, encontrada principalmente no sistema gastrointestinal de humanos infectados e de outros animais e, portanto, presente em suas fezes, que são a rota de transmissão para os produtos alimentares, particularmente os de origem animal (CAMPBELL-PLATT, 2015).

A intoxicação originada por Estafilococos coagulase positiva é causada pela ingestão de alimentos que contém enterotoxinas produzidas por essa bactéria, essa contaminação pode ocorrer através da manipulação durante o processamento do alimento (FORSYTHE, 2013).

E. coli é um microrganismo que causa doenças diferenciadas em função do sorotipo, designadas de *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterotoxigênica (ECET), *E. coli* enteroagre-gativa (ECEA), *E. coli* de aderência difusa (ECAD), *E. coli* enteropatogênica (ECEP) e *E. coli* entero-hemorrágica (ECEH) (CAMPBELL-PLATT, 2015).

Uma das formas mais comuns de inibir o crescimento microbiano é o armazenamento em temperatura de refrigeração, porém é fundamental determinar qual o tempo máximo que um alimento pode permanecer armazenado em refrigeração sem perder a segurança para o consumo.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do doce beijo alemão produzido e comercializado no Rio Grande do Sul, em três tempos diferentes de armazenamento refrigerado.

2. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento do trabalho foram analisadas 3 amostras de doce finos do tipo beijo alemão de estabelecimentos localizados no Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram acondicionadas em embalagens fornecidas pelo estabelecimento e submetidas a três tempos diferentes (11, 13 e 15 dias) de armazenagem em refrigeração (4 a 5°C) até o momento do início das análises. As determinações microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Ciência e Microbiologia de Alimentos (LACIMA), da Universidade Federal de Pelotas.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações propostas pela American Public Health Association (APHA) (DOWNES & ITO, 2001) com modificações. As amostras foram submetidas a diluições seriadas, em solução salina 0,85%, até a diluição 10⁻³.

Para a pesquisa de *Salmonella* realizou-se pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C/24 horas, e enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C/24 horas e Caldo Tetratônato, a 37°C/24 horas. Em seguida foi feito semeadura em placas com ágar Desoxicolato-lisina-Xilose e Bismuto Sulfato sendo ambos incubados por 24 horas a 37 °C. Colônias com morfologia típica de *Salmonella* spp. foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease, a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentaram reações bioquímicas características foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-*salmonella* somático e flagelar. O resultado foi expresso em ausência ou presença de *Salmonella* spp. em 25 g.

Para análise de *Bacillus cereus* presuntivo foi inoculado 0,1ml de cada diluição em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina. Após foram incubadas e invertidas por 24 horas a 30 °C. Em seguida, a contagem de colônias presuntivas características foi realizada, com resultado expresso em UFC.g⁻¹.

A enumeração de *Escherichia coli* foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva foi realizada em Caldo Lauril Sulfato Tryptose, com incubação a 35°C por 48 horas. A confirmação de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* – EC, com incubação a 45,5°C por 48 horas. A confirmação de *Escherichia coli* foi realizada a partir da semeadura dos tubos positivos de EC em placas com meio de cultura *Eosin Methylene Blue Agar*, incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias com morfologia característica foram identificadas como *E. coli* através dos testes de produção de indol, reações de vermelho de metila e Voges-Proskauer, e utilização de citrato. O resultado foi expresso em NMP.g⁻¹.

Para a enumeração de Estafilococos coagulase positiva foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em Ágar Baird-Parker. Após, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Posteriormente, as colônias foram enumeradas e, no mínimo, cinco colônias que

apresentaram morfologia típica e cinco atípicas foram selecionadas para realização do teste de produção de coagulase livre, com resultado expresso em UFC.g¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas do doce tipo beijo alemão feitas em diferentes tempos de armazenamento refrigerado podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1 – Avaliação microbiológica de doce tipo beijo alemão em diferentes tempos de armazenamento refrigerado

Análise realizada	Tempo de Armazenamento Refrigerado (4 a 5°C)		
	11 dias	13 dias	15 dias
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	1,4x10 ³	2x10 ²	5x10 ²
<i>Bacillus cereus</i> (UFC*/g)	<10 (ausência)	<10 (ausência)	<10 (ausência)
<i>Escherichia coli</i> (NMP**/g)	<3,0 (ausência)	<3,0 (ausência)	<3,0 (ausência)
<i>Salmonella</i> spp. em 25 g	Ausência	Ausência	Ausência

*UFC: Unidade Formadora de Colônia; **NMP: Número Mais Provável;

Fonte: elaborado pela autora, com base nos resultados obtidos.

Com relação a avaliação de *Bacillus cereus* todas as amostras em todos os tempos analisados apresentaram resultados abaixo do limite máximo exigido pela legislação brasileira (BRASIL, 2022). Em acordo a estes resultados Schiavo et al. (2015), analisaram doces de frutas em pasta de banana, goiaba, jenipapo, mamão e carambola produzidos por agricultores familiares do município de Cardoso Moreira e constataram que todas as amostras analisadas apresentaram contagem *Bacillus cereus* inferior a 10 UFC/g.

Quanto a contagem de Estafilococos coagulase positiva, amostras armazenadas por 11 dias apresentaram resultado acima do limite máximo exigido pela legislação, já as armazenadas por 13 e 15 dias tiveram resultados dentro do estabelecido da IN 161 (BRASIL, 2022) que é de 5x10² UFC/g¹. Destri et al. (2009), realizaram na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul um estudo feito em cinco feiras livres que comercializavam doce de leite e constataram que 100% das amostras analisadas não apresentaram contaminação por Estafilococos coagulase positiva.

Notou-se que não houve presença de *E. coli* e *Salmonella* spp. nas amostras avaliadas estando de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2022). Um estudo feito por FAZZIONI et al. (2013) analisou *Salmonella* spp em produtos de confeitoraria como pão doce, sonho recheado e torta de queijo e, assim como neste estudo, não foi verificada a presença nas amostras analisadas. EBERHARDT et al. (2017) avaliaram sobremesas servidas em um hospital da cidade de Porto Alegre e não obtiveram contagens de *E. coli* em nenhuma amostra.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados nas amostras analisadas para *Estafilococos coagulase positiva*, como amostras armazenadas por onze dias sob refrigeração tiveram resultado acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira e isto pode estar relacionado a práticas inadequadas de manipulação, conclui-se que se deve ter maior atenção em relação as Boas Práticas de Fabricação sendo também necessário capacitar os manipuladores de alimentos.

A ausência de detecção para *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. nas amostras analisadas pode denotar uma eficácia e compromisso dos estabelecimentos que parecem estar em conformidade com as Boas Práticas de Fabricação ressaltando o compromisso com a segurança alimentar na produção de alimentos.

Aos autores cabe agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de pesquisa, bem como à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) e ao Laboratório de Ciência e Microbiologia de Alimentos (LACIMA) pelo suporte e pelas contribuições ao processo de formação acadêmica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, 2022, n. 126, p. 235, 1 jul 2022.
- CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2015.
- DESTRI, K.; BAIRROS, J.; VARGAS, B.L.; NASCENTE, P.S.; DEL PINO, F.A.B.; LUND, R.G. Análise microbiológica de doces de leite vendidos em feiras livres de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Editora da Universidade Estadual do Maringá**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 153-157, 2009.
- DOWNES, F.P; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 676 p. 2001.
- EBERHARDT, D.; COMIRAN, A.S.; GONZALES, A.C.S.; FONTOURA, I.D. Avaliação de análise microbiológica de sobremesas servidas a pacientes internados em hospital da cidade de Porto Alegre/RS. **Nutrição Brasil**, v. 16, n. 4, p. 204-208, 2017.
- FAZZIONI, F.D.B.; GELINSKI, J.M.L.; ROZA-GOMES, M.F. Avaliação Microbiológica de produtos de confeitoria e risco à saúde do consumidor. **Alim. Nutr. = Braz. J. Food Nutr.** Araraquara, v. 24, n. 2, p. 159-164, 2013.
- FORSYTHE, S. Microbiologia da segurança dos alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- SCHIAVO, N.C.B.; FRANÇA, L.F.; NASCIMENTO, J.S. Eficácia de um programa de boas práticas na qualidade microbiológica de doces produzidos por agricultores familiares no município de Cardoso Moreira, RJ. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.2, p.141-148, 2015.
- SILVA, J. F. M.; BATISTA, R. D.; PEREIRA, C. F.; OLIVEIRA, A. I. T. Contaminação por bacillus cereus e os riscos de intoxicação alimentar. **DESAFIOS - Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins**, v.5. n. 2, p. 30-40, 2018.