

Análises microbiológicas de granolas comercializadas no Bairro São José na cidade de Recife-PE

Larissa Negromonte Arruda de Azevedo ^{1*}, Marie Claire Carneiro Albuquerque ², Lúcia Roberta Filizola ³ e Ivana Gláucia Barroso da Cunha

1. Estudante do curso de Farmácia da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS).
2. Estudante do curso de Farmácia da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS).
3. Tutora dos Laboratórios de Microbiologia básica, Bacteriologia, Bromatologia e Enzimologia e Controle de qualidade microbiológico na FPS.
4. Coordenadora de tutor do curso de Farmácia na FPS e Tutora do Laboratório de Microbiologia dos alimentos.

* Autor para contato. E-mail: larissanegromonte.a@gmail.com

RESUMO: Nos últimos tempos, expressões como qualidade de vida e alimentação saudável vêm atraindo a atenção de pessoas de diferentes idades, classes sociais e grau de escolaridades. Consequentemente, o consumo de alimentos que proporcionam o estilo de vida saudável e previnem o aparecimento de doenças aumentou bastante. Dentre eles, destaca-se a granola, por ser um alimento rico em fibras que favorece o equilíbrio da microbiota intestinal auxiliando os sintomas da constipação intestinal, além de auxiliar da diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares. Diante de tal contexto, o estudo teve como objetivo, avaliar a qualidade microbiológica deste alimento através da técnica de contagem de *Staphylococcus aureus* da técnica do Número Mais provável (NMP) para a determinação de coliformes termotolerantes segundo a RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2012 (ANVISA). As amostras foram adquiridas de forma aleatório nos comércios localizados no centro da cidade no Bairro São José. Foram analisados 5 amostras de fabricantes diferentes e 5 amostras compradas a granel. Para a determinação de coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP) e *S. aureus* foi utilizado a técnica de contagem. Em todas as análises experimentais foi realizada análise microbiológica das soluções utilizadas nos experimentos para garantir a não interferências de contaminantes das soluções nas amostras testes. Todas as amostras analisadas tanto as industriais como as vendidas a granel estão apropriadas para uso na alimentação em relação a presença de *S. aureus* e coliformes termotolerantes. Todas as análises de contagem para *S. aureus* foram negativas e os valores encontrados na análise dos Números Mais prováveis (NMP) estão abaixo da especificação 5×10^2 estabelecido pela RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2012 (ANVISA). Mendoza et al (2016) também corrobora com os nossos resultados, em sua pesquisa analisou a mistura de granola com adição do fruto do bacuri, e todas as amostras analisadas foram consideradas apropriadas para o consumo, pois a quantidade de coliformes termotolerantes apresentaram valores menor inferiores a 5×10^2 , atendendo a legislação vigente. Os valores do *Staphylococcus aureus* inferior a 10^3 , também atendo o valor estabelecido RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2012 (ANVISA). Portanto, todas as amostras analisadas no presente estudo estão apropriadas para consumo como alimentos quanto a presença dos micro-organismos *S.aureus* e coliformes termotolerantes.

Palavras-chave: alimentação, saúde, microbiologia, coliformes.

ABSTRACT: In recent times, expressions such as quality of life and healthy eating have attracted the attention of people of different ages, social classes and schooling. Consequently, the consumption of foods that provide a healthy lifestyle and prevent the onset of disease has increased greatly. Among them, granola stands out because it is a fiber-rich food that favors the balance of the intestinal microbiota, aiding the symptoms of intestinal constipation, as well as assisting the reduction of the richness of cardiovascular diseases. In this context, the objective of this study was to evaluate the microbiological quality of this food using the Staphylococcus aureus counting technique of the Most Likely Number technique (MPN) for the determination of thermotolerant coliforms according to RDC No. 12 of January 12, 2012 (ANVISA). The samples were randomly acquired at the shops located in the city center in the São José district. Five samples from different manufacturers and 5 samples purchased in bulk were analyzed. For the determination of thermotolerant coliforms the most probable number (MPN) and S. aureus technique was used. In all the experimental analyzes a microbiological analysis of the solutions used in the experiments was carried out to guarantee the noninterference of contaminants of the solutions in the test samples. All the analyzed samples both industrial and those sold in bulk are appropriate for use in food in relation to the presence of S. aureus and thermotolerant Coliform. All counting analyzes for S. aureus were negative and the values found in the Most Probable Number (NMP) analysis were below the 5×10^2 specification established by RDC No. 12 of January 12, 2012 (ANVISA). Mendoza et al. (2016) also corroborates our results. In their research, the granola mixture with addition of the bacuri fruit was analyzed, and all samples analyzed were considered appropriate for consumption, since the quantity of thermotolerant coliforms presented lower values to 5×10^2 , in compliance with current legislation. Staphylococcus aureus values less than 10^3 , also meeting the established RDC number 12 of January 12, 2012 (ANVISA). Therefore, all the

samples analyzed in the present study are appropriate for food consumption as the presence of *S. aureus* microorganisms and thermotolerant coliforms.

Key words: food, health, microbiology, coliforms.

1.INTRODUÇÃO

A busca por uma melhor qualidade de vida no tocante à saúde, é um fato presente no cotidiano não só dos brasileiros como do mundo todo. Atualmente há um grande mercado no ramo de alimentos, estética corporal e medicina, além de vários outros setores afetados indiretamente⁽¹⁾.

Os bons hábitos alimentares podem ser originados por várias razões, sejam elas de cunho patológico, ideológico ou mesmo por auto-realização em se ter um corpo saudável. Entretanto, com a proliferação de diversas doenças crônicas, em especial a obesidade, diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e câncer⁽²⁾, é comum nos dias atuais encontrarmos diversos gêneros alimentícios sem açúcares e gorduras⁽³⁾. Já é possível observar nas prateleiras dos supermercados um gradativo aumento na quantidade de alimentos naturais, saudáveis e ricos em fibras tais como, os cereais matinais, granolas, sementes e chás pelo fato de possuírem qualidades funcionais e nutricionais⁽⁴⁾.

Dentre os alimentos ricos em fibras, destaca-se a granola, que é um produto alimentar constituído por uma mistura de frutas secas, grãos de cereais e sementes oleaginosas, portanto, está sujeita ao desenvolvimento de micro-organismos, sendo importante a qualidade da matéria-prima em questão, condições de processamento e armazenamento destes alimentos⁽⁵⁾.

Fatores extrínsecos e intrínsecos são responsáveis pelo desenvolvimento microbiano nos alimentos, além das condições físicas e sanitárias do grão^(6,7,8). O controle da segurança alimentar vem avançando, por conta dos novos processos de industrialização e as novas técnicas de controle de qualidade, pois o consumidor tem apresentando um perfil bastante exigente, devido ao conhecimento de seus direitos a adquirir um alimento seguro⁽⁹⁾.

Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), medidas cautelares visam avaliar a qualidade de produtos comercializados para evitar que a população tenha

acesso ao consumo de substâncias potencialmente tóxicas. Apenas um rigoroso controle de qualidade sobre a matéria prima e armazenagem dos alimentos, podem garantir a oferta de produtos que atendam aos padrões sanitários ⁽¹⁰⁾. Entretanto, a falta de higiene, má manipulação e armazenamento inadequados dos produtos em alguns estabelecimentos, podem influenciar na preservação da qualidade do alimento representado, sendo uma fonte de transmissão de patógenos ⁽¹¹⁾.

Conforme a Resolução RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2001, é estabelecido para o produto pesquisado neste estudo os seguintes parâmetros: índices máximos de $5 \cdot 10^2 \cdot g^{-1}$ e $10^2 \cdot g^{-1}$ para Coliformes $45^\circ C/g$ e $5 \cdot 10^2 \cdot g^{-1}$ para *Staphylococcus aureus*. Segundo a Resolução Federal nº 263 de 2005, os produtos devem ser obtidos, processados, embalados, armazenados, transportados e conservados em condições que não produzam, desenvolvam e/ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor, devendo ser obedecida à legislação vigente de Boas Práticas de Fabricação ^(9,10).

A existência de coliformes, sugere que hajam outros micro-organismos patogênicos capazes de provocar infecções ou intoxicações importantes no homem. A presença de coliformes termotolerantes, em particular a *Escherichia coli* enteropatogênica, não é tolerável, principalmente nos alimentos devido à gravidade da sintomatologia que podem desencadear. *Escherichia coli* são bactérias gram-negativas, que fazem parte da flora intestinal e são de extrema importância na manutenção fisiológica do intestino. Com o consumo de proteínas tóxicas, há o surgimento de manifestações clínicas, que vão desde diarreias coleriformes e colites agudas até disenteria com o agravamento, levando até mesmo a morte ⁽¹²⁾.

A presença de *Staphylococcus aureus*, nos alimentos também não é aceitável já que essa espécie é produtora de toxinas, causando, assim como os coliformes totais e termotolerantes, a intoxicação alimentar. São bactérias gram-positivas, localizadas predominantemente na pele e mucosas, principalmente a nasal, fazendo parte da flora natural

dessas regiões. Destas fontes, pode facilmente penetrar no alimento, decorrente da falta de higiene dos manipuladores^(13,14).

Com a má qualidade higiênico sanitária nos comércios de alimentos, na armazenagem, manipulação dos produtos e exposição à venda, a granola a granel possui maior risco de contaminação, não atendendo a legislação vigente, sugerindo que a granola embalada, apresente condições microbiológicas mais adequadas para o consumo, devido ao controle mais eficaz na produção e manipulação do mesmo⁽⁹⁾.

2. OBJETIVO GERAL

- Realizar análises microbiológicas de amostras de granolas envasadas e vendidas a granel, comercializadas na cidade do Recife/PE seguindo os critérios estabelecidos conforme a Resolução RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2001.

2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Realizar a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes;
- Determinação de *Staphylococcus aureus* pelo método contagem em placa.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das amostras

Foram obtidas analisadas 10 amostras de granola comercializadas em diferentes pontos comerciais no centro da cidade do Recife-PE em diferentes estabelecimentos. As dez amostras foram divididas em 5 amostras de granola envasada e 5 amostras de granolas vendidas a granel.

As amostras foram transportadas em temperatura ambiente e na própria embalagem do comerciante para o Laboratório de Microbiologia na Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS).

Como critério de inclusão, foi verificado se os estabelecimentos pesquisados são credenciados pela Prefeitura Municipal de Recife pelo Setor de Vigilância Sanitária, e de exclusão os estabelecimentos que não possuem o alimento pesquisado para venda.

3.2 Preparação das amostras

3.2.1 Procedimento para limpeza da embalagem

Todas as embalagens foram limpas assepticamente com solução de álcool 70° C antes de começar o processo de homogeneização. Todas as amostras foram homogeneizadas e foram pesados 25g em uma balança analítica para a realização dos testes microbiológicos ⁽¹⁵⁾.

3.2.2 Contagem para *Staphylococcus aureus*

Foram pesadas assepticamente 25g de granola, que foram colocadas em um erlenmeyer com 225mL de solução salina 0,85% estéril, homogeneizando-a por 1 minuto. Diluições decimais seriadas foram realizadas até 10^{-5} em tubos de ensaio contendo 9mL de solução salina estéril com a ajuda de pipetadores de 1mL. Foi transferido 0,1mL das diluições para placas contendo ágar Baird-Parker e espalhadas com uma alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 37°C por 48h. A partir da leitura positiva das placas realiza-se a contagem das colônias negras com halo transparente e se calcula UFC/g ou mL do alimento. Para afirmar que as colônias são *S. aureus* deve-se proceder as provas bioquímicas da catalase, coagulase e DNase.

3.2.3 Determinação dos Números Mais Prováveis (Teste Presuntivo e Confirmativo para presença de Coliformes Termotolerantes)

Foram pesadas 25g de granola e colocadas em um erlenmeyer com 225mL de solução salina estéril, homogeneizando-a por 1 minuto. A determinação presuntiva do Número Mais Provável (NMP) foi realizada a partir de diluições seriadas de 0,1, 0,01 e 0,001mL da amostra, no Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Os tubos foram incubados na estufa com 35°C por 48 horas. A partir dos tubos com leitura positiva, foram realizados os testes confirmativos para coliformes totais em Caldo Lactose Bile Verde Brillante (VB) no banho-maria a 35°C por 24 horas, e coliformes termotolerantes em Caldo *Escherichia coli* (EC) a 45°C por 24 horas. Todas as amostras analisadas, foram inoculadas no tubo de ensaio com tubo Dühran invertido. Classificou-se como positivas, a presença de turvação e formação de gás.

4. RESULTADOS

Das amostras de granolas coletadas nos estabelecimentos de Recife-PE, os resultados foram negativos para contaminação por *Staphylococcus aureus*. Os resultados mostraram baixa incidência de contaminação por coliformes totais e termotolerantes, pois a RESOLUÇÃO-RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001(ANVISA) estabelece tolerância para Amostra indicativa de 5×10^2 .

Na Tabela 1 estão distribuídos os resultados relativos às determinações dos Números mais prováveis (NMP) na análise microbiológica da granola. Foi verificada a presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras. Entretanto a legislação estabelece parâmetro somente para os termotolerantes, e o resultado obtido está de acordo com ela. As granolas estão em limites aceitáveis de coliformes termotolerantes, e foi constatada a ausência de *Staphylococcus aureus*.

Em nossos resultados, todas as amostras analisadas estão apropriadas para o consumo, por apresentarem contaminação inferior aos limites estabelecidos pela RDC nº 12 de janeiro 2001, que avalia a qualidade microbiológica dos alimentos.

Tabela 1: Resultado das análises microbiológicas.

Análises		Coliformes Totais (NMP.g ⁻¹)	Coliformes Fecais (NMP.g ⁻¹)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC.g ⁻¹)
Granolas envasadas	1	<3,0	<3,0	Ausente
	2	<3,0	<3,0	Ausente
	3	<3,0	<3,0	Ausente
	4	<3,0	<3,0	Ausente
	5	75	75	Ausente
Granola a varejo	6	<3,0	<3,0	Ausente
	7	<3,0	3,6	Ausente
	8	3	3	Ausente
	9	23	23	Ausente
	10	23	23	Ausente

Segundo Magalhães et al (2017), resultados semelhantes foram encontrados em análises microbiológicas de granolas envasadas e a granel em Curitiba-PR onde as amostras atenderam a legislação vigente. Houve baixa incidência de contaminação por coliformes termotolerantes e totais, estando próprias para o consumo quando comparadas com a RDC nº 12 de 2 de janeiro 2001, que avalia a qualidade microbiológica dos alimentos⁽¹⁶⁾.

Em pesquisa sobre a qualidade microbiológica de granola realizada em Campinas, verificou-se baixa incidência de contaminação por *Staphylococcus aureus* e por coliformes fecais. Entretanto, com relação ao Número mais provável (NMP) de coliformes totais, três amostras apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos. Encontram-se com seus valores acima daqueles permitidos pela legislação vigente, que estabelece níveis máximos de 5.10^2 NMP g, ou seja, o produto é inaceitável para o consumo. Entretanto as demais amostras estão dentro dos limites permitidos pela legislação⁽¹⁷⁾.

Mendoza et al (2016), analisando a qualidade microbiológica da mistura da granola com adição do fruto do bacuri, constatou que houve presença de coliformes totais e

termotolerantes inferiores a 3 NMP. g-1, atendendo a legislação vigente. Os valores do *Staphylococcus aureus* também atendem à legislação brasileira⁽¹⁸⁾.

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 (Siqueira, 1995)⁽¹⁹⁾.

Conhecer as condições de higiene em que os alimentos são preparados, é de extrema importância, pois a presença de coliformes totais e fecais, pode indicar falta de higiene dos manipuladores do produto, contaminação dos equipamentos e utensílios. A presença desses microrganismos evidencia contaminação a possibilidade do produto veicular outros microrganismos patogênicos, podendo causar problemas a saúde do consumidor⁽²⁰⁾.

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. Evidencia-se ainda que, somente um severo controle de qualidade sobre a matéria-prima e sobre o armazenamento dos alimentos pode garantir a oferta de produtos que atendam aos padrões sanitários vigentes⁽²¹⁾.

5. CONCLUSÃO

Embora as granolas comercializadas a varejo tenham apresentado maior contaminação do que as granolas envasadas, ambas se mantiveram dentro dos limites máximos permitidos, atendendo os parâmetros estabelecidos pela legislação nº 12 de janeiro de 2012, sendo satisfatórias para o consumo humano. Contudo, é importante frisar que a contaminação microbiológica é um ponto importante a ser analisado, pois está diretamente ligada a qualidade do produto a ser ofertado no mercado consumidor

6. REFERÊNCIAS

1. Silvia AF, Oliveira BC, Brito D, Martins JC, Sales J, Liotti K, et al . PREOCUPAÇÃO DOS CONSUMIDORES COM A ALIMENTAÇÃO SAUDÁVEL.
- 2 .Hans Hauner H, Bechthold A, Boeing H, Brönstrup A, Buyken A, Leschik-Bonnet E, et al. Evidence-based guideline of the German Nutrition Society: carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases. *Ann Nutr Metab.* 2012;60(Suppl 1):1-58.
- 3 . Lukianocenko M. Consumidor quer saúde. *REV Superhiper.* 2002; 11:13-5.
4. RANCIARO, Glauco Anibal. Alimento individual, granola na medida certa. 2013. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
5. Granada G, Rosa V, Zambiasi R, Koetz P. CARACTERIZAÇÃO DE GRANOLAS COMERCIAIS. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas,* 23(1): 87-91, jan.-abr. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v23n1/18261.pdf>
6. Granada G, Rosa V, Zambiasi R, Koetz P. Caracterização de granolas comerciais. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas.* Jan./abr, 2003; 23(1): 87-91.
7. Forsythe JS. *Microbiologia da Segurança dos Alimentos.* Porto Alegre: Artmed; 2013.
8. CHISTE, R. C.; COHEN, K. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. *Ciências tecnológica.* 2006. Disponível em [:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-206120060004000238](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-206120060004000238). Acessado em 24 de Março de 2016.
9. Vasconcelos F. Análise Microbiológica De Barras De Cereais E Cereais Matinais, Comercializados Na Cidade De Pelotas - RS. [Monografia de Conclusão de Curso]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. Curso de Ciências Biológicas; 2006.
10. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [online]. Brasília, Brasil; 1999.

11. Tramontin NB, Silva MA. Avaliação higiênico sanitária do processo de beneficiamento de arroz [trabalho de conclusão de estagio]. Universidade do Extremo Sul Catarinense. Curso de Tecnologia de Alimentos; 2012.

12. Huiwen Deborah Chen and Gad Frankel. FEMS Microbiology Reviews. Volume 29, Issue 1, pages 83–98, January 2005.

13. Feitosa AC, Rodrigues RM, Torres EA, Silva JF. Staphylococcus aureus em alimentos. Revista Desafios –v. 04,n. 04, 2017 [acesso em 2017nov 8]. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/3531/11812>

14. Bresolin BMZ, Dall'Stella JK, Silva SEF. Pesquisa sobre a bactéria staphylococcus aures na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/Paraná/Brasil. Estud. Biolog. 2005 [acesso em 2017 nov 8]; ., v.27, n.59,

Disponível em:

<https://periodicos.pucpr.br/index.php/estudosdebiologia/article/view/22709/21789>

15. Neusely da Silva, Veleria C.A Junqueira, Neline F.A. Silveira, Marta H. Taniwalki. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água 4 ed. 2010.

16. Magalhães KCP, Alves VC, Peres AP, Sales WB. Análise de coliformes totais e termotolerantes de granolas e qualidade higiênico sanitária em casas de cereais de Curitiba-PR. Cad. da Esc. de Saúde[Internet]. 2015 [acesso em 2017 dez 10]; , V.1 N.13: 105-115.

Disponível em:

<http://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/2432>

17. Granada G, Rosa V, Zambiasi R, Koetz P. Caracterização de granolas comerciais. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas. Jan./abr, 2003; 23(1): 87-91.

18. Mendoza VS, Santos LL, Sanjinez-Argadoña EJ. Elaboração de granola com adição de polpa e castanha de bacuri para consumo com iogurte. Evidência, Joaçaba [internet]. 2016 [acesso em 2017 dez 12]; v. 16, n. 2, p. 83-100. Disponível em:

<http://docplayer.com.br/57506744-Elaboracao-de-granola-com-adicao-de-polpa-e-casta-nha-de-bacuri-para-consumo-com-iogurte.html>

19. Leal AJ, Weiss RDNM, Friedrich RSC. Análise microbiológica de leguminosas, farináceas e cereais comercializados em Santa Maria, RS. *Disciplinarum Scientia* [internet]. 2003 [acesso em 2017 dez 14]; v.4,n. 1, p. 1-9. Disponível em : <https://www.periodicos.unifra.br/index.php/disciplinarumS/article/view/835/779>

20. Matsubara MT. RASTREAMENTO BACTERIANO NOS PONTOS CRÍTICOS DE CONTAMINAÇÃO POR COLIFORMES E *Escherichia coli* EM INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ [dissertação]. Universidade Federal do Paraná; 2011. [Acessado em 2017 dez 14]. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/38816/R%20-%20E%20-%20MARCELO%20TAKEO%20MATSUBARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

21. ANVISA DIVULGA. Online. Disponível na Internet: Em: 22 out. 2001.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Resultado das análises microbiológicas.