

## **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEGUMINOSAS, FARINÁCEOS E CEREAIS COMERCIALIZADOS EM SANTA MARIA, RS<sup>1</sup>**

### *MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF LEGUMES, FLOURS AND CEREALS TRADED IN SANTA MARIA, RS*

**Aline Jaime Leal<sup>2</sup>, Rita Denise Niederauer Weiss<sup>3</sup> e  
Rosane Salete Carvalho Friedrich<sup>3</sup>**

#### **RESUMO**

*A qualidade dos alimentos é de fundamental importância porque, se contaminados, podem causar riscos à saúde pública. Por isso, há a necessidade de um aperfeiçoamento constante das ações de controle sanitário. Neste trabalho, o objetivo foi verificar se os produtos alimentícios disponíveis no comércio de Santa Maria estavam de acordo com os padrões de qualidade determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os parâmetros analisados foram: contagem padrão em placa; coliformes totais e fecais; presença de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.* e contagem de *Bacillus cereus*, bolores e leveduras. Das 84 amostras analisadas, apresentaram algum tipo de contaminação: amendoim, 50%, lentilha, 33,33%, feijão, 18,75%, farinha de milho, 85,71%, farinha de trigo, 44,44%, arroz, 20% e nenhuma contaminação no milho de canjica e de pipoca. Desse modo, constatou-se que produtos alimentícios contaminados estão disponíveis no comércio de Santa Maria, evidenciando falhas no controle sanitário.*

**Palavras-chave:** microbiologia de alimentos, controle de qualidade, saúde pública.

#### **ABSTRACT**

*Food quality is really important because if it's contaminated, it can be a risk to public health. Therefore, periodic improvements of sanitary control are necessary. The aim of this research was to check if the foods available in the market of Santa Maria followed the quality standards established by the Sanitary Surveillance National Agency (ANVISA). The standards analyzed were: standard*

<sup>1</sup> Trabalho de Iniciação Científica - PET / CCS / UFSM / SESu / MEC.

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas - UFSM.

<sup>3</sup> Orientadoras - Departamento de Microbiologia e Parasitologia - UFSM.

counting in plate; total and fecal coliforms; presence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp.; counting of *Bacillus cereus*, moulds and yeasts. Among the 84 samples analyzed, that presented some type of contamination were: 50% of peanut samples, 33,33% lentil, 18,75% bean, 85,71% maize flour, 44,44% wheat flour, 20% rice and no contamination in the hominy corn and popcorn. This way, it was proved that contaminated food products are available in the commerce of Santa Maria, evidencing failures in the sanitarian control.

**Key words:** food microbiology, quality control, public health.

## INTRODUÇÃO

O controle da qualidade dos alimentos é de fundamental importância para que se previna a ingestão de produtos contaminados que possam pôr em risco a saúde da população. Como a comercialização de produtos impróprios para o consumo humano é uma forma rápida de disseminação de patógenos, os laboratórios, rotineiramente, têm avaliado a qualidade do produto final e a higiene empregada no seu processamento através de microrganismos indicadores (SANT'ANA et al., 2003).

Segundo o *Sistema Regional de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos* (SIRVETA, 2002), nas Américas, entre 1998 e 2001, ocorreram 2.575 surtos de doenças veiculadas por alimentos; desses, 60,8% foram causados por infecções ou intoxicações bacterianas e apenas 15,6% por viroses. Essas infecções alimentares ocorrem pela ação direta do microrganismo que invade o tubo gastrointestinal e as intoxicações pela ingestão de toxinas produzidas por bactérias, como as enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* (TORTORA et al., 2003).

No Rio Grande do Sul, o gênero *Salmonella* foi a principal causa de doenças transmitidas por alimentos nos últimos anos. Entre 1997 e 1999, ocorreram 116 surtos de salmonelose, envolvendo 8.217 pessoas, das quais 2.846 ficaram doentes e 1.557 foram hospitalizadas, não havendo relato de morte (COSTALUNGA; TONDO, 2002). Outro importante patógeno veiculado por alimentos é o *Bacillus cereus*, principalmente por produzir esporos que nem sempre são destruídos quando o alimento é aquecido e que podem germinar à medida que esse resfria, produzindo toxinas (TORTORA et al., 2003).

De acordo com Sirveta (2002), a maioria dos surtos de doenças relacionadas à comida nas Américas ocorreu em residências (38,1%) e em escolas (17,1%). Esses dados sugerem que a maior parte dos alimentos contaminados é proveniente do comércio, sendo importante o controle de qualidade e de armazenamento desses produtos.

Neste trabalho teve-se por objetivo verificar se os produtos alimentícios disponíveis no comércio de Santa Maria estavam de acordo com os padrões de qualidade determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (BRASIL, 2001; 2002).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram analisadas 84 amostras de diferentes produtos alimentícios, sendo: 35 de arroz, 16 de feijão, 9 de farinha de trigo, 7 de farinha de milho, 6 de lentilha, 5 de milho de pipoca, 4 de milho de canjica e 2 de amendoim. Os parâmetros analisados foram: contagem padrão em placa, coliformes totais e fecais, presença de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. e contagem de *Bacillus cereus* e bolores e leveduras.

### **Determinação de coliformes totais, fecais e contagem de bactérias aeróbicas mesófilas**

Para a pesquisa de coliformes, utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP), segundo American Public Health Association (APHA, 1998). Primeiramente, foram pesados 25g de cada amostra, diluídos em 225mL de água peptonada alcalina e, a partir dessa, mais duas diluições decimais foram realizadas. Uma série de nove tubos contendo o meio caldo lauril sulfato foi semeada com as diluições (1:10, 1:100 e 1:1000) e incubada a 37°C por 24/48h. A partir dos tubos com crescimento e produção de gás, um inóculo foi transferido com auxílio de uma alça de platina para tubos contendo o caldo verde brilhante para a detecção de coliformes totais, sendo mantido a 37°C por 24/48h. Para a pesquisa de coliformes fecais, semeou-se o caldo EC, a partir dos tubos de caldo verde brilhante com crescimento e produção de gás e foi incubado a 42,5°C por 24/48h. A estimativa do número de coliformes foi realizada com base na tabela do Número Mais Provável (NMP), através da associação de tubos positivos e negativos.

Para verificar a presença de *Escherichia coli* foi usado o meio Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), que foi semeado por esgotamento com a alça de platina a partir do caldo EC positivo e feita a confirmação da identificação através do teste IMViC (indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e citrato de Simmons).

Os meios Ágar MacConkey e Ágar Padrão Contagem foram utilizados para pesquisa de bactérias Gram-negativas e contagem de microrganismos aeróbicos mesófilos em placa (SILVA et al., 1997), respectivamente. No

primeiro, foi semeado 0,1mL da primeira diluição (1:10) e no segundo, 0,1mL de todas as diluições.

### **Presença de *Staphylococcus aureus***

Os meios Manitol Salgado (SILVA et al., 1997) e Ágar Baird-Parker (AOAC, 1990) foram semeados com 0,1mL da diluição 1:10 e o crescimento de colônias do gênero *Staphylococcus* foi verificado, com posterior confirmação da identificação através de testes bioquímicos e prova da coagulase.

### **Presença de *Salmonella* sp.**

Uma alíquota de 5mL da primeira diluição em água peptonada alcalina foi incubada a 37°C por 24/48h. A partir do crescimento neste meio, semearam-se os meios Rapaport Vassiliadis (WEISS, 1999) e Tetrionato (ABNT, 1991), que foram incubados a 37°C e 42,5°C, respectivamente, por 24/48h. A partir do crescimento nesses meios, semearam-se os meios seletivos e diferenciais Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e o CROMagar *Salmonella*®\* para isolamento do gênero *Salmonella*. Ambos permaneceram a 37°C por 24/48h. No meio SS, as colônias dessa bactéria crescem na coloração preta ou transparente e no outro, cor púrpura. Para confirmação da presença de *Salmonella* sp. foram realizados testes bioquímicos.

### **Contagem de *Bacillus cereus***

Para pesquisa de *Bacillus cereus*, foi utilizado o meio Ágar Mossel (MOSEL et al., 1967), semeado com 0,1mL da diluição 1:10. Após verificação do crescimento de colônias típicas (rugosas, secas e com coloração rosada/púrpura, rodeadas por um halo branco), realizaram-se testes bioquímicos para comprovação da identificação.

### **Contagem de bolores e leveduras**

Semeou-se 0,1mL de cada diluição no meio Ágar Padrão Contagem acidificado (SILVA et al., 1997) que foi incubado a 25°C por sete dias para contagem de bolores e leveduras.

---

\* PROBAC do Brasil Produtos Bacteriológicos LTDA. Rua Alvarenga, 2140- Butantã- São Paulo, SP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem padrão em placa tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação (SIQUEIRA, 1995). Das cinco amostras que obtiveram contagem em placa superior a permitida: uma amostra foi de arroz com  $4,5 \times 10^5$  UFC/g; uma de amendoim com  $1,1 \times 10^5$  UFC/g e três amostras de feijão com  $7,2 \times 10^4$  UFC/g,  $1,1 \times 10^5$  UFC/g e  $2,4 \times 10^6$  UFC/g (Tabela 1). Esse grande número de bactérias mesófilas aeróbicas encontradas pode indicar que as matérias-primas utilizadas na produção dos alimentos estavam excessivamente contaminadas, que a higiene foi inadequada durante a produção ou que o problema ocorreu durante a conservação e o armazenamento (SIQUEIRA, 1995). Por isso, ao se realizar o controle higiênico-sanitário em uma indústria de alimentos, deve-se levar em conta as diferentes etapas envolvidas no processo produtivo, desde a matéria-prima até o produto final (BENEDETTI; FALCÃO, 2003).

Os coliformes constituem um grupo de bactérias presentes nas fezes humanas e de outros animais, que podem se disseminar no ambiente, sendo utilizados como indicadores da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e da água. Na contagem de coliformes podem-se diferenciar dois grupos: o de coliformes totais e o de coliformes fecais. 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 (SIQUEIRA, 1995). Do total de 84 amostras analisadas, 28 continham coliformes totais e nove apresentaram contagem de coliformes fecais fora dos padrões determinados pela ANVISA (Tabelas 1 e 2), sendo que dessas, cinco estavam contaminadas com *Escherichia coli*.

Em uma amostra, foi confirmada a presença de *Staphylococcus aureus* (Tabela 1), que pode ser interpretada como indicativo de contaminação a partir da pele, boca, e das fossas nasais dos manipuladores dos alimentos, bem como da limpeza e da sanificação inadequada dos materiais e dos equipamentos (SIQUEIRA, 1995).

Dois amostras de lentilha e sete de farináceos apresentaram alta contagem de bolores e leveduras, que variou entre  $1,3 \times 10^3$  e  $3 \times 10^4$  UFC/g (Tabela 2). A contaminação da farinha foi alta, se comparada com os resultados obtidos por Berghofer et al. (2003), nos quais a farinha de trigo apresentou 45% e 96% de leveduras e bolores, respectivamente, variando entre  $10^2$  e  $10^3$  UFC/g.

**Tabela 1.** Número de amostras de alimentos fora dos padrões de qualidade microbiológica, segundo especificações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Padrão da ANVISA	Número de amostras fora do padrão					
	Arroz (35)*	Feijão (16)*	Lentilha (6)*	Amen-doim (2)*	Milho de pipoca (5)*	Milho de canjica (4)*
Contagem em placa ( $5 \times 10^4$ UFC/g)	1	3	-	1	-	-
Coliformes fecais (ausência em 1g)	2	2	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ausência em 0,1g)	1	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp. (ausência em 25g)	-	-	-	-	-	-

\* Número de amostras analisadas.

O *Bacillus cereus* foi encontrado em uma amostra de farinha de trigo e em três de arroz. Berghofer et al. (2003) verificaram que a contaminação da farinha de trigo por *Bacillus cereus*, em quatro localidades na Austrália, aumenta no decorrer do processamento do trigo, variando de 64% no trigo depois do condicionamento e 93% no produto final. Quanto ao arroz, Valero & Salmerón (2002) constataram o contrário, a contaminação diminui do arroz não descascado ( $10^3$  UFC/g) para o arroz branco (menos de  $10^2$  UFC/g).

Nenhum dos produtos alimentícios analisados apresentou *Salmonella* sp., possivelmente por essa ser mais freqüente em alimentos de origem animal. Costalunga e Tondo (2002) constataram que, entre 1997 e 1999, no Rio Grande do Sul, 42,45% dos casos de salmonelose foram causados pela ingestão de maionese caseira e apenas 0,72% estavam associados à contaminação do feijão.

Os únicos alimentos que não apresentaram nenhum tipo de contaminação foram o milho de canjica e o de pipoca (Tabela 3).

**Tabela 2.** Número de amostras de farináceos fora dos padrões de qualidade microbiológica, segundo especificações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Padrão da ANVISA	Número de amostras fora do padrão	
	Farinha de trigo (9)*	Farinha de milho (7)*
Contagem em placa ( $5 \times 10^5$ UFC/g)	-	-
Coliformes fecais (ausência em 1g)	2	3
<i>Staphylococcus aureus</i> (ausência em 0,1g)	-	-
<i>Salmonella</i> sp. (ausência em 25g)	-	-
Bolores e leveduras ( $10^3$ UFC/g)	2	5
<i>Bacillus cereus</i> ( $10^3$ UFC/g)	1	-

\* Número de amostras analisadas.

**Tabela 3.** Classificação dos produtos alimentícios analisados, segundo os padrões vigentes determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para cada classe de produto.

Produto	Impróprios para o consumo	Boas condições	Total de amostras
Amendoim	1	1	2
Arroz	7	28	35
Feijão	3	13	16
Farinha de milho	6	1	7
Farinha de trigo	4	5	9
Lentilha	2	4	6
Milho de canjica	0	4	4
Milho de pipoca	0	5	5

## CONCLUSÃO

Os produtos impróprios para o consumo totalizaram 27,38% das amostras analisadas. Desse modo, verificou-se que produtos alimentícios contaminados estão disponíveis no comércio de Santa Maria, evidenciando falhas no controle sanitário. Por isso, a análise microbiológica periódica é necessária para que o agente contaminante e sua fonte possam ser detectados.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus colegas de laboratório: Rodrigo Buske, Gustavo Machado Nesi, Fabiane do Amaral Pacheco e Germana D'avila dos Santos, que participaram da coleta de dados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Salmonella – determinação em alimentos**. MB3465. ABNT, 1991.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Staphylococcus aureus* in foods. **Official methods of analysis of AOAC International**. 15<sup>a</sup> ed. Arlington, EUA, 1990.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20<sup>a</sup> ed., Washington, DC, USA. 1998.

BENEDETTI, A. C. E. P.; FALCÃO, D. P. Monitoramento da Qualidade Higiênico-sanitária no Processamento do “Leite” de Soja na UNISOJA, Araraquara, SP. **Rev. Ciência e Tecnol. Alim.**, Campinas, 23 (Supl): p. 200-205, 2003.

BERGHOFER, L. K. et al. Microbiology of Wheat and Flour Milling in Australia. **International Journal of Food Microbiology**, Itália, v. 85: p. 137-149, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 175, de 08 de julho de 2003. Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003.

COSTALUNGA, S.; TONDO, E. C. *Salmonellosis* in Rio Grande do Sul, Brazil, 1997 to 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo. v. 33: p. 342-346, 2002.

MOSSEL, D. A. A.; KOOPMAN, M. J.; JONGERIUS, E. Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. **Appl. Microbiol.** v. 15, p. 650-653, 1967.

SANT'ANA, A. S. et al. Qualidade Microbiológica de Águas Minerais. **Rev. Ciência e Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 23 (Supl): p. 190-194, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. **A Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela Ltda, 1997.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Serviço de Produção de Informação da EMBRAPA, 1995.

SIRVETA. Sistema Regional de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos: [www.panalimentos.org/sirveta](http://www.panalimentos.org/sirveta), acessada em 11 de janeiro de 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul Ltda, 2003.

VALERO, J. A. S. M.; SALMERÓN, M. C. Enumeration, Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Strains from Spanish Raw Rice. **Food Microbiology**, v. 19: p. 589-595, 2002.

WEISS, L. H. N. **Ocorrência de Salmonella sp. em suínos de terminação no Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1999.