

AVALIAÇÃO MICROBIOLOGICA DE CONSERVAS DE AZEITONAS VERDES DE MESA FATIADAS COMERCIALIZADAS NO RIO GRANDE DO SUL

YURI MARQUES LEIVAS¹; **FRANCIELLE MACIEL ZURSCHIMITTEM²**; **REBECA CAMARGO PORTO³**; **MIRIAN GALVÃO MACHADO⁴**

¹*Universidade Federal de Pelotas – yurimarquesleivas@yahoo.com.br*

²*Universidade Federal de Pelotas – franciellezurschimittem@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – rebeca_ponto@outlook.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – miriangalvao@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A população na Terra supera a demanda de alimentos e sem ela o ser humano não sobrevive. A boa conversação evita o desperdício, tanto em locais onde há excedente de comida por habitantes, tanto quanto onde há mais pessoas do que alimentos. Além disso, a conservação correta destrói bactérias e enzimas. Isso não só evitará doenças alimentares, como também prolongará o “tempo de prateleira” de um produto. Produtos industrializados devem receber tratamento adequado e boa higienização, para garantir o máximo de qualidade.

A azeitona é o fruto da oliveira (*Olea europaea*) espécie pertencente à família das oleáceas, o fruto é considerado impróprio para consumo *in natura*, pois apresentam um componente responsável pelo seu sabor amargo, a oleuropeína, um glicosídeo presente naturalmente nas azeitonas. Por esse motivo, a maioria dos métodos de processamento inclui uma etapa de hidrólise desse glicosídeo, com o tratamento rápido com hidróxido de sódio ou hidrólise ácida em salmoura ao longo de meses. De acordo com o Conselho Oleícola Internacional, azeitona de mesa é definida como o produto preparado a partir de frutos sadios, submetido a tratamento para eliminação do amargor natural presente no fruto e conservado mediante fermentação natural ou tratamento térmico, com ou sem conservantes, envasado com ou sem líquido de cobertura. As azeitonas são classificadas quanto ao seu estado de maturação. Assim, há azeitona verde, de cor transitória e preta. (CAPPATO, et al. 2015)

Dentre os microrganismos patogênicos que podem estar presentes no produto final destacam-se *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A contagem de coliformes termotolerantes nos alimentos fornece, com maior segurança que a de coliformes totais, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação eventual da presença de enteropatogênicos (FRANCO & LANDGRAF, 2008). A contagem de *Staphylococcus* em alimentos pode ser feita com dois objetivos diferentes, um por ser uma indicação de perigo potencial à saúde pública, devido a enterotoxina estafilocócica e outro relacionado à sanificação questionável, principalmente quando o processamento envolve a manipulação de alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Bactérias do gênero *Salmonella* spp. estão entre os principais micro-organismos patogênicos veiculados por alimentos (CDC, 2011). A transmissão a humanos ocorre geralmente pelo consumo de alimentos contaminados. Alimentos de origem animal são os principais responsáveis pela distribuição deste patógeno (CASTANHA et al., 2004; DIAS et al., 2008).

Apesar de passar por processos de conservação e conter uma alta concentração de sal, a possibilidade de contaminação por esses microrganismos pode ocorrer, através de contaminação cruzada, considerando a manipulação para fatiamento do produto e o uso de água contaminada para produção da

salmoura.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de azeitonas verdes fatiadas comercializadas na cidade de Pelotas, RS, conforme legislação em vigor da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, e desta forma verificar a presença de *Salmonella* spp. *Staphylococcus coagulase* positiva e Coliformes.

2. METODOLOGIA

Coleta das amostras

Foram adquiridas cinco amostras ($n=5$) de conservas de azeitonas verdes de mesa fatiadas, de diferentes marcas e diferentes embalagens, em diferentes supermercados da cidade de Pelotas. As amostras foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, da UFPel, onde foram analisadas. Segundo rotulagem nutricional do fabricante, as amostras apresentavam:

- Amostra 1 (vidro): azeitonas verdes fatiadas, água, sal e acidulante INS 270.
- Amostra 2 (emb. plástica): azeitonas verdes fatiadas, água, sal e acidulante INS 270.
- Amostra 3 (vidro): água, azeitonas verdes (Q.Hojiblanca), sal, acidulante: ácido láctico, ácido cítrico, antioxidante e ácido ascórbico.
- Amostra 4 (emb. plástica): azeitonas verdes fatiadas, água, sal, acidulantes ácido cítrico e láctico, conservador benzoato de sódio, sorbato de potássio e antioxidante ácido isoascórbico.
- Amostra 5 (vidro): não apresentava os ingredientes.

As azeitonas foram trituradas com o auxílio de um *mixer* e para a obtenção de 200g de amostra, foi adicionado, até completar o volume, a salmoura que acompanhava as mesmas.

Pesquisa de *Salmonella*

Foram pesadas assepticamente 25g de amostra, homogeneizada com 225 mL de Caldo Lactosado (CL), para a etapa de pré-enriquecimento. Este foi deixado em repouso por 1h e em seguida incubado a $37\pm1^\circ\text{C}$ por $18\pm2\text{h}$. No enriquecimento seletivo transferiram-se alíquotas de 0,1mL e 1,0mL para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RV) e caldo Tetratônato (TT), respectivamente. Estes foram incubados a $41,5\pm1^\circ\text{C}$ em banho-maria (RV) e $37\pm1^\circ\text{C}$ (TT) por 24 horas. No plaqueamento seletivo e diferencial, alíquotas dos meios RV e TT foram estriadas, por esgotamento, em placas contendo Ágar Xilose- Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Entérico Hecktoen (HE) e incubadas a $37\pm1^\circ\text{C}$ por 24h. Ao término da incubação as colônias suspeitas foram submetidas aos testes bioquímicos para confirmação, onde foram inoculadas em Ágar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI), Ágar Lisina e Ferro (LIA) e Caldo Uréia, incubadas a $37\pm1^\circ\text{C}$ por 24h, para obtenção de resultados conclusivos.

Contagem de Coliformes Termotolerantes pela Técnica de Número Mais Provável (NMP)

Foram pesadas 25 gramas da amostra, em condições assépticas, e homogeneizadas com 225 mL de Água Peptonada 0,1%. A partir desta diluição inicial (10^{-1}) foram preparadas diluições decimais até 10^{-3} , e destas foram inoculados volumes de 1 mL, em triplicata, em Caldo Lauril Sulfato Tryptose (CLST) contendo um tubo de Durhan invertido, após foram incubados a $37\pm1^\circ\text{C}$

por 48h. Ao término do período, os tubos de CLST positivos (com produção de gás), transferiu-se uma alçada para tubos contendo Caldo *E. coli* (EC) e foram incubados a $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 48h, em banho-maria. Após observou-se a ocorrência de crescimento e produção de gás, sendo realizada a leitura em tabela de NMP. A confirmação de *E. coli*, de cada tubo de EC positivo, foi realizada através de alçada por esgotamento, em placas contendo Ágar Eosina Azul de Metíleno (EMB), incubadas à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h, onde observa-se o aparecimento de colônias típicas de centro negro, com ou sem brilho metálico (Silva et al. 2007).

Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva

Para o isolamento e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva semeou-se 1 mL das diluições feitas anteriormente para placas contendo Ágar Baird Parker (BP), em duplicata. Estas foram incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48h, e após foi realizada a contagem de colônias típicas e atípicas. (Silva et al. 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas das amostras estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Contagem de Coliformes termotolerantes (CTT), *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e pesquisa de *Salmonella* spp. em azeitonas verdes de mesa fatiadas, adquiridas no comércio de Pelotas, RS.

AMOSTRA	CTT (NMP.g ⁻¹)	SCP (UFC.g ⁻¹)	Salmonella spp.
01	< 3,0	<1,0 x 10	Ausente
02	< 3,0	<1,0 x 10	Ausente
03	<3,0	<1,0 x 10	Ausente
04	<3,0	<1,0 x 10	Ausente
05	<3,0	<1,0 x 10	Ausente

A Resolução RDC nº12/2001 (Brasil, 2001) estabelece para “vegetais em salmoura, temperados ou não, condimentados ou não, não comercialmente estéreis” a ausência de *Salmonella* spp. em 25g de produto e contagem máxima de 10^2 NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes (45°C) e 5×10^2 UFC.g⁻¹ para *Staphylococcus* coagulase positiva.

A presença de elevados numeros de coliformes indica processamento inadequado e/ou recontaminação pós- processamento, sendo as causas mais comuns, aquelas provenientes da matéria-prima contaminada, equipamentos mal sanitizados e manipulação do produto sem cuidados higiênicos (FRANCO & LANDGRAF, 2008), a contaminação pode se dar por meio da água utilizada na salmoura devido a falta de controle sanitário da água de abastecimento. Com base nos resultados da Tabela 1 observa-se que a contagem de CTT está abaixo do que a legislação preconiza e isso pode ser devido a um cuidado com a higiene do local, dos equipamentos, uma conscientização de higiene pessoal do manipulador e uma matéria prima de qualidade. Pereira, et al, obteve resultados contrários aos nossos: observou em oito das amostras avaliadas um numero elevado de microrganismos indicadores de contaminação fecal, o que revela a necessidade de otimizar os procedimentos de higiene durante o processo de produção de modo a melhorar a qualidade e segurança das azeitonas de mesa.

Em relação às contagens de *Staphylococcus*, os resultados também foram inferiores aos limites máximos estabelecidos na legislação vigente (Brasil, 2001),

e as colônias encontradas eram em sua totalidade atípicas. Em algumas placas de Baird Parker houve crescimento de colônias de bactérias láticas, isso pode se dar à adição de ácido láctico na composição ou apenas pelo próprio ácido láctico contido na salmoura proveniente da fermentação.

Não foi possível identificar a presença de *Salmonella* nas amostras analisadas, sendo este resultado, satisfatório. O pH das amostras foi medido no inicio das análises e estavam na faixa de 4,0. Sabe-se que as bactérias do gênero *Salmonella* spp. apresentam desenvolvimento em pH próximo a neutralidade e que valores acima/igual a 9 ou abaixo/igual a 4 são bactericida, podendo assim explicar os resultados.(JAY,2005)

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos foram classificados como satisfatórios quando relacionados com a legislação, sendo assim, indicam que de modo geral, a conserva de azeitonas verdes de mesa é um produto alimentar seguro para consumo, bem como os processos para obtenção da conserva são eficazes quanto a sua conservação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Resolução RDC nº12, de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 10 jan. 2001. Seção I, p. 45-53

CDC, Estimates of foodborne illness in the United States, 2011, Disponível em: www.cdc.gov/foodborneburden.

CAPPATO, L. P., FERREIRA, E. H. R., ROSENTHAL, A. *Azeitonas de mesa no Brasil: mercado, tecnologia e aspectos legais*. Ciência Rural, Santa Maria, Online, 2015.

CASTAGNA, S.M.F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.56, n.3, p.300-306, 2004.

DIAS, P. A.; CONCEIÇÃO, R.C.S.; COELHO, F.J.O.; TEJADA, T.S.; SEGATTO, M.; TIMM, C.D. Qualidade higiênico sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescais comercializados no Sul do Rio Grande do Sul. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 359-363, 2008.

Importância da conservação dos alimentos. Cursos iPED. Disponível em: <https://www.iped.com.br/materias/nutricao/importancia-conservacao-alimentos.html> acesso em 18 mar. 2017

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008.

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p

PEREIRA, A. P.; PEREIRA, J.A.; BENTO, A.; CIMO ESTEVINHO, L. Qualidade microbiológica de azeitonas de mesa comercializadas em Portugal. Escola Superior Agrária, Instituto Politecnico de Bragança, Campus de Santa Apolonia, Apartado 1172, 5301-855. Bragança. 2009

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Ed. Varela, 536p. 2007.