

ANÁLISE DE MICRO-ORGANISMOS INDICADORES NO PROCESSAMENTO E EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO DE PÃO DE FORMA

NATHALIA ALVES SPECHT¹; GABRIELA VENTURINI ANTUNES²; JOZI
FAGUNDES DE MELLO³

¹ Universidade Federal de Pelotas – nathaliaaspecht@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – gabrielaaventurini@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – jozimello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Pão é classificado como o alimento feito a partir da farinha, podendo esta ser de trigo ou outras variedades. Dependendo do tipo de pão, ele pode ou não ser fermentado, mas sempre deve receber cocção (Brasil, 2005). Para produção de pão, é essencial a atuação de leveduras que agem convertendo os açúcares da massa em etanol e dióxido de carbono, proporcionando o aroma e crescimento característicos (Brasil, 2009).

Ao longo da produção de pães, Bactérias Mesófilas Aeróbias, Bolores e Leveduras podem alterar as características do produto e o levar a deterioração. A presença desses micro-organismos em altas contagens em um alimento pode indicar que foi utilizada matéria-prima de baixa qualidade, que houve processamento ineficiente, armazenamento com tempo e temperatura inadequados, ou ainda, contaminação pós-processamento (Franco e Landgraf, 2003). Sendo assim, esses micro-organismos são indicadores de higiene ambiental e de deterioração do produto. Junto à atuação destes micro-organismos, fatores intrínsecos e extrínsecos também podem influenciar na validade do alimento. Merecem destaque a atividade de água, o pH e a temperatura.

É de suma importância monitorar as condições microbiológicas de um produto, assim como os fatores internos e externos que o afetam, já que é por meio deste controle que se supervisiona a produção de um alimento seguro visando a saúde do consumidor. Diante disso, este estudo tem como objetivo quantificar micro-organismos indicadores de higiene em diferentes etapas de produção e armazenamento de pão de forma, além de verificar a adequação ou não do prazo de validade instituído pela indústria.

2. METODOLOGIA

Participou desse estudo, de forma voluntária, uma indústria produtora de pães da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, com alvará sanitário vigente. Esta empresa produz e comercializa em média de 80 pães de forma/dia.

Foram coletadas amostras do ar ambiente (Ar_A), da caixa plástica de resfriamento dos pães pós cocção (CX) e da fatiadeira (FD). Nestes pontos foram quantificados Bactérias Mesófilas Aeróbias, Bolores e Leveduras. A coleta do ar ambiente se deu pela técnica de sedimentação simples por 15 minutos. A coleta das

amostras CX e FD foram realizadas por esfregaço de suabe em superfície de 50 cm².

Foram analisadas amostras do pão em diferentes momentos: após o resfriamento e antes do fatiamento (T0), após ser fatiado em FD (T1), com 7 dias de fabricação (T2), com 10 dias de fabricação (T3) que é o prazo de validade estipulado pela empresa e com 13 dias de fabricação (T4). Em tais amostras foram analisados Bactérias Mesófilas Aeróbias, Bolores e Leveduras, Coliformes a 35°C e a 45°C e *Escherichia coli*. A coleta e transporte das amostras ocorreram segundo definições da *American Public Health Association* (APHA) (Downes, 2001), assim como as diluições, análises e cálculo dos resultados.

As análises de Bolores e Leveduras foram realizadas utilizando-se a técnica de espalhamento em superfície, onde 0,1 mL das diluições foram inoculadas em placas de Ágar Batata Dextrose acidificado com ácido tartárico, em duplicata, incubadas a 25°C \pm 1°C por 5 dias. O mesmo procedimento foi realizado para análise de Bactérias Mesófilas Aeróbias, porém foi utilizado o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem incubado a 36°C \pm 1°C por 48 horas. Os resultados foram calculados e expressos em Unidades Formadoras e Colônia por grama de alimento analisado (UFC/g) (Silva et al., 2017).

A análise de Coliformes a 35°C e a 45°C se deu pela técnica do Número Mais Provável (NMP – 3 tubos). Um mililitro de cada diluição foi transferido para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio com tubos de fermentação, sendo incubados a 35°C por 48 horas. Uma alçada de material de cada tubo positivo (turvação e formação de gás) foi transferida para tubos contendo 10 mL de caldo *Escherichia coli* e tubos de Durham invertidos, sendo incubados a 45°C por 48 horas. Os tubos positivos para coliformes a 45°C foram submetidos à verificação de presença de *E. coli*, conforme Silva et al., 2017.

Silva Jr (2008) (< 50UFC/cm²) e APHA (2 UFC/cm²) foram considerados como padrão microbiológico para superfícies (Silva Jr, 2008; Evancho et al, 2001). O limite microbiológico para pães definidos pela ANVISA foi utilizado como padrão para análise dos resultados de Coliformes a 45°C no pão de forma (Brasil, 2001). Esse órgão não estabelece limite microbiológico para os demais micro-organismos que foram analisados por este estudo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas (Tabela 1) mostram que todos ambientes analisados estavam de acordo com o padrão definido por Silva Jr (2008) (< 50UFC/cm²) e por APHA (2,0 UFC/cm²) (Evancho et al, 2001), pois apresentaram resultados < 0,06 NMP/cm². Esses dados apontam condições ambientais adequadas para produção de alimentos.

Tabela 1. Quantificação de Micro-organismos Indicadores no Ambiente

Amostra	B.A.M	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C	Leveduras	Bolores	B+L
Ar_A	0,7 ^a	NA	NA	0,2 ^a	0,2 ^a	0,3 ^a
CX	3,0x10 ² ^b	< 0,06 ^c	< 0,06 ^c	3,0x10 ² ^b	3,0x10 ² ^b	3,5x10 ² ^b
FD	<10 ² ^b	< 0,06 ^c	< 0,06 ^c	<10 ² ^b	1,0x10 ³ ^b	1,0x10 ³ ^b

Legenda: B.A.M., Bactérias Mesófilas Aeróbias; B + L, Bolores e Leveduras; Ar_A, Ar ambiente; CX, Caixa Plástica; FD, Fatiadeira; ^a, unidades formadoras de colônia por

minuto; NA, não analisado; ^b, unidades formadoras de colônia por centímetro quadrado estimado; ^c, Número Mais Provável por cm².

No dia da fabricação e embalagem do pão de forma (T0 e T1), foi observado baixa quantificação de todos os micro-organismos analisados (Tabela 2). Segundo o que é preconizado pela ANVISA (10² UFC/g) (Brasil, 2001), os valores encontrados de Coliformes a 45°C estão dentro do limite microbiológico aceitável para comercialização e consumo de alimentos. Estes resultados sugerem a eficácia da temperatura no controle microbiológico, uma vez que a temperatura ideal de multiplicação destes micro-organismos é de 25°C a 45°C (Franco e Landgraf, 2003), e o cozimento se deu em 160°C por 24 minutos.

Tabela 2. Quantificação de Micro-organismos Indicadores de Pão de Forma.

Amostra	B.A.M ^a	Leveduras ^a	Bolores ^a	B + L ^a	Colif. 35°C	Colif. 45°C
T0	5,0x10 ¹ (est).	< 10 ² (est).	< 10 ² (est).	< 10 ² (est).	< 0,06 ^b	< 0,06 ^b
T1	5,0x10 ¹ (est).	< 10 ² (est).	3,5x10 ² (est).	3,5x10 ² (est).	< 0,06 ^b	< 0,06 ^b
T2	1,5x10 ⁵	8,0x10 ⁴	2,4x10 ⁴	1,0x10 ⁵	< 0,06 ^b	< 0,06 ^b
T3	PD	PD	PD	PD	PD	PD
T4	PD	PD	PD	PD	PD	PD

Legenda: B.A.M, Bactérias Mesófilas Aeróbias; ^a, resultados em Unidades Formadoras de Colônia por grama de alimento analisado; B+L, Bolores e Leveduras; ^b, número mais provável por grama de alimento; T0, amostra de pão antes do fatiamento; T1, amostra de pão depois do fatiamento; T2, pão com 7 dias de fabricação, T3, pão com 10 dias de fabricação, T4, pão com 13 dias de fabricação; (est.), estimado; PD, pão deteriorado e não analisado.

Em T2 houve maior crescimento microbiológico, porém a quantificação de Coliformes a 45°C permaneceu dentro dos limites microbiológicos para pão de forma, definidos pela ANVISA. Este crescimento microbiológico provavelmente se deu pelos fatores intrínsecos do pão serem os ideais para os micro-organismos analisados, ou seja, atividade de água entre 0,95 e 0,96 (Franco e Landgraf, 2003) e o pH é ácido (Santos, 2015). Além disso, o pão foi armazenado em temperatura ambiente, no mês de outubro, onde as temperaturas começam a se elevar, ficando em torno da ideal para a multiplicação destes micro-organismos, ou seja, 25°C (Franco e Landgraf, 2003).

Nos pontos amostrais T3 (10 dias de fabricação) e T4 (13 dias de fabricação), o crescimento de fungos filamentosos se mostrou visível a olho nu na superfície do pão, o que o tornou impróprio para o consumo e por consequência, não foi submetido às análises microbiológicas. Em T3 seria o último dia de validade do produto, dessa forma o pão não deveria apresentar este grau de deterioração, tal fator revela inadequação no prazo de validade estabelecido, que deveria ser reduzido. Em T4 o pão já estava fora do seu prazo de validade segundo o tempo estabelecido pela indústria.

O período de validade de um produto é determinado pelo tempo em que o alimento se apresenta seguro no ponto de vista microbiológico, sem alterações sensoriais e físicas e ainda mantendo seu valor nutricional (Brasil, 2012). As análises microbiológicas auxiliam no monitoramento sanitário de um produto. Um alimento com quantidades elevadas de Bactérias Mesófilas Aeróbias pode indicar

deterioração, além de falta de higiene, pelo uso de matéria-prima contaminada, processamento ineficiente ou armazenamento por tempo e temperatura inadequados (Franco e Landgraf, 2003).

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pelas análises microbiológicas no ambiente, pode-se concluir que houve adequação microbiológica nos pontos analisados. Os resultados obtidos com as análises das amostras do alimento revelam a inadequação do prazo de validade instituído pela indústria. Assim, se sugere que seja alterado este período para menos de 10 dias. Novas pesquisas se fazem necessárias para investigar o que resultou na deterioração do produto antes da validade estabelecida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL. **Resolução RDC nº. 263, de 22 de setembro de 2005**: Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 2005.

BRASIL, Food Ingredients. Panificação. **Rev. Fi**, São Paulo, n. 10, p. 23, 2009.

DOWNES, F.D. & ITO, K. ***Compendium of Methods for the Examination of Foods***. 4.ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.

Evancho GM, Sveum WH, Moberg LJ, Frank JF. Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment. In: Downes FP, Ito K, editors. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, D.C.: APHA, 2001. p. 25-36.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. In: **Microbiologia dos alimentos**. 2003

SANTOS, J.L.P. **Modelagem preditiva da deterioração de pães integrais multigrãos por fungos filamentosos**. 2015. 187f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SILVA JÚNIOR. E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos serviços de alimentação**. 6ª. ed. São Paulo :Varela; 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise de alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela; 2017.