Análise microbiológica de barras de cereais de batata doce biofortificadas desenvolvidas em uma universidade em Cascavel, PR

Microbiological analysis of biofortified sweet potato cereal bars developed at the universit in Cascavel, PR

Análisis microbiológico de barras de cereal de batata biofortificadas desarrolladas en una universidad de Cascavel, PR

DOI:10.34119/bjhrv7n2-285

Originals received: 03/01/2024
Acceptance for publication: 03/22/2024

Maria Gabriele Cerny
Graduada em Farmácia Generalista
Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Cascavel, Paraná, Brasil
E-mail: gabi_cerny_@hotmail.com

Thais Dalcotivo
Graduada em Farmácia Generalista
Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Cascavel, Paraná, Brasil
E-mail: fafalconi@hotmail.com

Helena Teru Takahashi Mizuta
Doutora em Ciência Farmacêuticas
Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Cascavel, Paraná, Brasil
E-mail: helena.takahashi@yahoo.com.br

Fabiana André Falconi
Doutora em Ciências de Alimentos
Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Cascavel, Paraná, Brasil
E-mail: fafalconi0911@gmail.com

RESUMO
As barras de cereais atendem a demanda de indivíduos que procuram o consumo de produtos saudáveis. Entretanto, as altas concentrações de nutrientes favorecem o crescimento microbiano, mesmo que precauções higiênico-sanitárias sejam observadas na sua produção. Portanto, o objetivo deste trabalho foi a realização de análises microbiológicas em 15 barras de cereais de batata doce biofortificadas, desenvolvidas no Laboratório da UNIOESTE – *campus* Cascavel. As amostras enviadas para o Laboratório de Microbiologia e foram mantidas congeladas e em sua embalagem original até o momento da análise. As análises microbiológicas realizadas foram contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes, pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de Bolores e Leveduras. Os resultados obtidos nas análises demostraram que todas as amostras apresentaram presença de bolores e leveduras, mas em pequena quantidade.

Nenhuma amostra apresentou coliformes totais e termolerantes e *Salmonella* sp., estando de acordo a legislação.

Palavras-chave: contaminação, alimentos, barra de cereais.

ABSTRACT
Cereal bars meet the demand of individuals seeking the consumption of healthy products. However, high concentrations of nutrients favor microbial growth, even if hygienic-sanitary precautions are observed in their production. Therefore, the objective of this study was to perform microbiological analyses on 15 biofortified sweet potato cereal bars, developed at the Unioeste – campus Cascavel. The samples were sent to the Microbiology Laboratory and kept frozen and in their original packaging until the time of analysis. The microbiological analyzes performed were total and Thermotolerant coliform count, Salmonella spp. and counting molds and yeasts. The results obtained in the analyzes showed that all samples presented the presence of molds and yeasts, but in a small amount. No sample presented total and thermolerant coliforms and Salmonella sp., being in accordance with the legislation.

Keywords: contamination, cereal bars, food.

RESUMEN
Las barritas de cereales responden a la demanda de las personas que desean consumir productos sanos. Sin embargo, las altas concentraciones de nutrientes favorecen el crecimiento microbiano, incluso si se observan precauciones higiénicas y sanitarias en su producción. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue realizar análisis microbiológicos en 15 barras de cereal de batata biofortificadas desarrolladas en el laboratorio de UNIOESTE - campus Cascavel. Las muestras se enviaron al Laboratorio de Microbiología y se mantuvieron congeladas en su envase original hasta su análisis. Los análisis microbiológicos realizados incluyeron recuentos de coliformes totales y termotolerantes, Salmonella spp. y recuentos de mohos y levaduras. Los resultados obtenidos de los análisis mostraron que todas las muestras tenían mohos y levaduras, pero en pequeñas cantidades. En ninguna de las muestras se encontraron coliformes totales o termotolerantes ni Salmonella sp., lo que se ajusta a la legislación.

Palabras clave: contaminación, alimentos, barra de cereales.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos produtos é de essencial importância, para atender as expectativas dos consumidores por meio de criação e inovação de produtos alimentícios, sendo uma das alternativas de desenvolvimento e diferenciação das empresas (Friedrichsen, et al., 2022)

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 (Perim, et al., 2016; Albuquerque et al., 2019). A indústria de alimentos em busca de inovação e atender os anseios dos consumidores

procuram analisar as demandas de mercado e entre as perceptivas de alimentos práticos e saudáveis, se destaca as barras de cereais (Silva et al., 2017; Friedrichsen, et al., 2022).

As barras de cereais atendem a tendência de indivíduos que procuram o consumo de produtos saudáveis (Capelezzo et al., 2020). Além disso, estas estão facilmente disponíveis em mercados, apresentam embalagens compactas, facilitando o transporte e consumo e preço relativamente baixo. O atributo "alimento saudável com elevado sabor" é o item de maior relevância na decisão de compra dos consumidores (Paiva et al., 2012).

As barras de cereais apresentam grande possibilidade de inovação, em que diversos ingredientes podem ser incorporados. Assim, podem ser um meio prático e fácil de ingerir nutrientes. (Capelezzo et al., 2020). A elaboração de barra de cereal a base de batata doce vem atender questões atuais na alimentação como, por exemplo, ser isenta de glúten, favorecendo portadores da doença celíaca, assim como também praticantes de atividade física pela opção do carboidrato complexo (Silva, 2017).

A batata doce, *Ipomoa batatas L,* é uma das hortaliças mais consumidas na culinária popular brasileira e, de acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, é a quarta mais produzida no Brasil (Embrapa, 2016). É um alimento essencialmente energético, composta de carboidrato complexo que auxilia o corpo a manter seu estado metabólico ativo, ao mesmo tempo em que colabora para o ganho de massa muscular.

A batata doce apresenta na sua composição vitaminas, minerais, fibras, carboidratos, carotenóides, antocianinas e compostos fenólicos que estão ligados ao controle das doenças crônicas e a proteção de células no organismo, que torna um alimento funcional (Silva, 2017; Friedrichsen, et al., 2022).

As barras de cereais são classificadas em alimentos de baixa umidade, possuem atividade de água (Aw) menor do que 0,6, ocasionando assim uma estabilidade microbiológica, desta forma podendo ser estocadas em temperatura ambiente. As altas concentrações de nutrientes, em especial de carboidratos nas barras de cereais, proporcionam ambientes favoráveis para a multiplicação de microrganismos (Perin et al., 2016).

Mesmo que precauções higiênico-sanitárias sejam observadas durante a produção de barras de cereais existe a possibilidade de ocorrer a contaminação do produto. Sendo assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão que estabelece a Legislação Brasileira para Alimentos, determina por meio da Instrução Normativa nº 60, os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano (Brasil, 2019). Dentre os micro-organismos envolvidos no processo de contaminação de barras de cereais, destacam-se o *Bacillus cereus* como um entre os mais virulentos, coliformes totais e

termotolerantes e a *Salmonella spp*, dos quais podem causar ao homem diarreia, náuseas, dores abdominais e febre podendo levar a morte em indivíduos imunodeprimidos.

Também é exigida a contagem de Bolores e Leveduras devido às características deste alimento (Oliveira et al., 2020). Uma vez que esse tipo de alimento que apresenta baixa Aa e alta pressão osmótica, se torna um ambiente favorável para o crescimento de fungos e inibem o crescimento de bactérias. Essas condições são ótimas para a multiplicação dos fungos, que culminam em mudanças na estrutura química e na aparência do alimento, além de acarretar na produção de micotoxinas por algumas espécies (Paiva et al., 2012; Perim et al., 2016).

Os manipuladores de alimentos também desempenham importante função na preservação da higiene do alimento, uma vez que podem representar uma importante fonte de transmissão de patógenos. (Magalhães et al., 2015).

Portanto, as barras de cereais que se tornaram uma opção saudável e nutritiva, podem ser um fator de risco para a saúde humana. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi pesquisa de microrganismos, que tenham importância na saúde do consumidor, em barras de cereais de batata doce biofortificadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi realizado a partir de 15 barras de cereais de batata doce biofortificadas produzidas em um Laboratório da UNIOESTE, campus Cascavel.

As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Microbiológicas de Água, Alimentos e Medicamentos e mantidas congeladas e em sua embalagem original até o momento da análise. As análises microbiológicas realizadas foram contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes, contagem de *Bacillus cereus*. pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de Bolores e Leveduras, segundo legislação vigente (Brasil, 2019).

Para a preparação da amostra foram pesados 25g em condições assépticas, homogeneizada com 225mL de água peptonada 0,1% e submetida a diluições de 10^{-1} a 10^{-3} em tubos com 9mL de água peptonada 0,1%.

Para contagem de coliformes totais foi inoculado 1mL de cada diluição em três tubos de Caldo Lauril Sulfato (LST) com tubos de Durhan e mantidos a 35°C por 24-48 horas. Os tubos que apresentaram turbidez e formação de gás dentro dos tubos de Durhan foram considerados positivos, sendo transferida uma alçada para Caldo EC (*Escherichia coli*) contendo tubos de Durhan invertidos e incubados em banho-maria a 45,5°C por 24 horas. Após

este período, foram contados os tubos positivos (turbidez e gás), através de tabela específica, o resultado foi expresso em NMP/g.

Para a análise de *B. cereus* 0,1 ml de cada uma das diluições das amostras foi inculado, por superfície, em Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) com o auxílio de alça de Drigalsky para o dispersamento do inóculo no meio. Depois da inoculação as placas foram incubadas a 36ºC por 24 horas e analisadas as colônias típicas com características deste microrganismo (rugosas, secas, com coloração rosada até púrpura, rodeadas por halo branco), que foram submetidas às provas bioquímicas para identificação.

Para a análise de *Salmonella spp*, 25g da amostra foram diluídas em 225mL de água peptonada 1,0% para pré-enriquecimento e incubada a 35ºC por 24 horas. Posteriormente foi realizado o enriquecimento seletivo, transferindo 1mL da cultura para um tubo contando caldo Rapapport, e um contendo caldo Selenito Cistina, sendo incubados a 35ºC por 24 horas. Após esse período, foi realizada a inoculação por plaqueamento diferencial em Ágar Entérico de Hectoen (HE), Ágar Salmonella Shuigella (SS) e Ágar MacConkey (MC), com estrias descontínuas para obter colônias puras, sendo incubado a 36ºC por 24 horas. As colônias típicas para *Salmonella spp.* foram identificadas posteriormente por testes bioquímicos.

Para pesquisa de Bolores e Fungos, foi inoculado 1,0 mL de cada diluiçao em Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com Ácido Tartárico 10%, pela metodologia de profundidade. As placas foram incubadas à 36ºC por 7 dias e, após, realizada a contagem.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados das análises microbiológicas de 15 amostras de barras de cereais de batata doce produzidas e analisadas na Unioeste.

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas de 15 amostras de barras de cereais de batata doce.

Amostra	***Bacillus cereus* (UFC/mL**	**Coliformes Totais (NMP/g)**	**Coliformes Fecais (NMP/g)**	***Salmonella spp.***	Bolores e Leveduras
1	$1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0 \times 10^2$
2	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0 \times 10^2$
3	$1,0 \times 10^3$	<3,0	<3,0	Ausência	$3,0 \times 10^3$
4	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$3,0 \times 10^3$
5	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$3,0 \times 10^3$
6	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$2,0 \times 10^3$
7	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$2,0 \times 10^3$
8	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$1,5 \times 10^3$
9	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$2,0 \times 10^3$
10	$1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0 \times 10^1$
11	$1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0 \times 10^3$

12	$1,0x10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0x10^1$
13	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0x10^1$
14	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0x10^3$
15	$<1,0 \times 10^2$	<3,0	<3,0	Ausência	$5,0x10^2$

Fonte: Os autores

De acordo com a Instrução Normativa nº 60 de 2019 (BRASIL, 2019), as barras de cereais devem apresentar de 10 a 10^2 de *Escherichia coli*, ausência de *Salmonella spp.* em 25 g e 10^3 a 10^4 e Bolores e Leveduras.

Na análise de coliformes totais e termotolerantes, todas as amostras apresentaram contagem com valor menor que 3 NMP/g, de acordo com a legislação vigente, que determina a contagem máxima de *E. coli* de 10^2 NMP/g. A presença de coliformes termotolerantes em alimentos determina a contaminação direta ou indireta de origem fecal de humanos e/ou outros animais. *E. coli* , que faz parte do grupo dos coliformes termotolerantes, é o melhor indicador de contaminação fecal. Essa espécie possui cepas que podem ser patógenos intestinais ou extraintestinais (Stelato et al., 2009).

Nas análises de *Salmonella sp.* todas as amostras também obtiveram ausência de colônias típicas, estando de acordo com a legislação vigente (Brasil, 2019). *Salmonella* é um microrganismo Gram negativo, envolvido em vários surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive no Brasil. As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais o principal reservatório natural (Franco e Landgraf, 2008).

Em outros trabalhos que analisaram barras de cereais desenvolvidas em laboratórios, os autores também observaram que as formulações dos produtos apresentaram ausência de coliformes a 45 °C e de *Salmonella* sp, estando de acordo com os padrões vigentes (Silva et al., 2017; Oliveira et al., 2020; Souza et al., 2023).

Das 15 amostras analisadas, uma apresentou contaminação por *B. cereus*, com valor de $1x10^3$ UFC/mL. Na legislação vigente, não está estabelecido valor máximo para *B. cereus*, entretanto na anterior o valor máximo permitido era de $5,0x10^2$ UFC/mL (Brasil, 2001).

Em trabalho realizado por Silva (2017), que analisaram barras de oleaginosas a partir de batata doce também foi encontrada ausência de *Bacillus cereus* nas amostras analisadas.

Em trabalho realizado por Stelato et al. (2009), que analisaram 40 barras de cereais, 5 amostras apresentaram contaminação por este microrganismo. Segundo os autores, a contaminação por *Bacillus cereus* provavelmente ocorreu por falta de condições higiênico-sanitárias adequadas na produção do alimento. A contaminação também pode ter ocorrido

através da material-prima, uma vez que os cereais apresentam esporos de *B. cereus*, que são resistentes a diferentes temperaturas, pH e desidratação.

Os resultados obtidos nas análises de bolores e leveduras demostraram que todas as amostras apresentaram contaminação, variando entre 10^1 e 10^3 UFC/g do produto (Tabela 1). Uma vez que a legislação estabelece máximo de 10^4, todas as amostras estão de acordo com a legislação (Brasil, 2019).

Em trabalho realizado por Perim et al. (2016), das 15 amostras analisadas, constatou-se a presença microbiológica do fungo do gênero *Penicillium* sp, o que foi possível identificar por meio da análise das características macro e microscópicas. Para os autores, os cereais são alimentos favoráveis para contaminação por fungos, sendo estes grandes responsáveis pelos prejuízos na agricultura, principalmente em regiões de clima tropical, já que a condição deste clima colabora para o crescimento desses microrganismos.

Segundo Zorrón et al. (2018) o crescimento exacerbado de fungos pode vir a causar vários danos, tanto ao produto quanto ao consumidor, como por exemplo cheiro e sabor desagradável, encurtamento da vida útil do produto e doenças transmitidas por alimentos. Os autores, em seu trabalho, que analisaram barras de cereais em Taubaté, observaram a grande variedade de fungos presentes nestes produtos. A presença de bactérias, fungos, larvas, ovos e demais sujidades pode representar um risco adicional à saúde do consumidor. Isso mostra a importância da avaliação microbiológica e parasitológicas das matérias-primas utilizadas na produção de barras de cereais.

Em trabalho realizado com barras de cereais elaboradas com bacaba, observou-se que as amostras se mantiveram estáveis após 120 dias de armazenamento. Segundo os autores, a inocuidade das amostras deve-se as boas práticas de fabricação que foram aplicadas e mantidas dentro de toda cadeia de produção, além da escolha de cereais de boa procedência, e um armazenamento adequado do produto ao longo da vida útil (Pereira et al., 2020).

No presente trabalho, todas as amostras estão de acordo com o padrão microbiológico estabelecido para RDC nº 331, do Ministério da Saúde, indicando que as barras de cereais foram processadas em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, garantindo a inocuidade do produto.

4 CONCLUSÃO

Os resultados das análises microbiológicas mostram que todas as amostras estão próprias para o consumo.

Apesar dos resultados encontrados, é importante ressaltar a necessidade de realização do controle de qualidade microbiológico em todo o processo de produção de barras de cereais, desde a análise dos ingredientes até o produto final.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M.C.C.; AZEVEDO, L.M.A.; SANTOS, E.M.S.; CUNHA, I.G.B. Análises microbiológicas de granolas comercializadas no Bairro São José na cidade de Recife-PE. Brazilian Journal of Health Review, v. 2, n. 3, p. 1743-1753, 2019

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União.** 17 de dezembro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº. 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. 26 de dezembro de 2019.

CAPELEZZO, L.; AGNOL, J.D.; TOMBINI, C.; GODOY, J.D.; ONOFRE, S.D.; MACHADO JUNIOR, F.R.S.; MELLO, J.M.M.; DALCANTON, F. Elaboração e avaliação físico-química de uma barra de cereal utilizando resíduo cervejeiro. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 3, p. 5107-5121, 2020.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Editora Atheneu. 192p., 2008.

FRIEDRICHSEN, J.S.A.; SAQUETI, B.H.F.; BRUNI, A.R.S.; GOMES, E.S.; SILVA, J.F.; IENTZ, G.A.S.; BAETA, F.S.; PIACQUADIO, N.M.; BULLA, M.K.; SANTOS, O.O. Desenvolvimento de barra de cereais com adição de farinha de batata-doce, colágeno e betaína: revisão dos ingredientes utilizados e viabilidade. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, 2022.

MAGALHÃES, K. C. P.; ALVES, V. C.; PERES, A. P.; SALES, W. B. Análise de coliformes totais e termotolerantes em granola e qualidade higiênico sanitária em casas de cereais de Curitiba – PR. **Caderno da Escola de Saúde**, v. 1, n. 13, p. 105-115, 2015.

OLIVEIRA, V.R..; SILVA, N.R.O.; LIMA, C.M.G.; VERRUCK, S.; CAETANO, D.; DUARTE, F.C.; BARBOSA, E.A. Barra de cereais com alto valor energético: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. **Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos**, Ed. Científica Digital, v.1, cap. 24, p. 323-334, 2020.

PAIVA, A. P.; BARCELOS, M. F. P.; PEREIRA, J. A. R.; FERREIRA, E. B.; CIABOTTI, S. Characterization of food bars manufactured with agroindustrial by-products and waste. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 3, 2012.

PEREIRA, F.O; MARTINS, A.G.L.A; RIBEIRO, C.L.; LIMA, R.J.C.P.; AGUIAR, E.M.; SANTOS, D.P. Elaboração e avaliação fisico-química, microbiológia e sensorial de barra de cereais enriquecida com bacaba (oenocarpus distichus MART). Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 6, p.36209-36218, 2020.

PERIM, C.; 2; COSTA, J.A.P.; BOMFIM, F.R.C. Pesquisa de fungos em barras de cereais comerciais. Revista Científica da FHO|UNIARARAS, v. 4, n. 1, p. 45-52, 2016.

SILVA, S.J.F. Avaliação bromatologica e microbiologica de barra de oleaginosa elaborada a partir de batata doce (Ipomoea batatas) de cultivar Beauregard. Trabalho de Conclusão de Curso de Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

SOUZA, A.S.; HUNALDO, V.K.L.; 2 , SANTOS, L.N.; SANTOS, L.H.; FREITAS, A.C.; FONTELENE, M.A. Desenvolvimento de barra de cereal a base de farinha de casca de maracujá. **Brazilian Journal of Production Engineering**, v. 9, n. 4, p. 140-147, 2023.

STELATO, M.G.; MAR RAMOS, M.M.; POSSIGNOLO, G.O.; SREBERNICH, S.M. Pesquisa de bactérias em barras de cereais comercializadas em Campinas e região, SP. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 178/179, p. 141-145, 2009.

ZORRÓN, D.B.; COELHO, F.A.S.; UENO, M. Avaliação microbiológica e parasitológica de barras de cereais comercializadas em Taubaté, SP / Microbiological and parasitological evaluation of cereal bars marketed in Taubaté, SP. Higiene Alimentar, v. 32, n. 282/283, p. 75-79, 2018.