

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Escola Superior Agrária

Análises Microbiológicas numa Indústria Agro-Alimentar de Preparados de Fruta

Catarina Daniela Martins dos Santos

Relatório apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar, realizado sob a orientação científica da Doutora Cristina Maria Baptista Santos Pintado, Professora da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Eng^a Magda David, da empresa Frulact - Indústria Agro-Alimentar no Tortosendo

Agradecimentos

A realização deste trabalho só foi possível através do contributo pessoal e profissional de várias pessoas às quais desejo manifestar o meu agradecimento.

À Frulact - Indústria Agro-Alimentar no Tortosendo, que me proporcionou as condições necessárias à realização deste trabalho.

À Eng.^a Magda David pelo apoio e ajuda prestada durante o tempo de estágio, bem como aos colaboradores Vera, Marta, Filipe, Ana, Carlos, Beta, Nádia, Cristina pelos conhecimentos e bons momentos passados.

À Professora Dr.^a Cristina Pintado, na qualidade de minha orientadora interna, pela paciência, disponibilidade demonstrada, por todos os conhecimentos técnico-científicos que me transmitiu e pela leitura crítica do manuscrito.

Aos meus pais, pelo incentivo, encorajamento e esforço monetário feito ao longo de todo o meu percurso académico.

A toda a minha família, em especial à minha avó Conceição Magueijo, por todo o apoio, compreensão e orgulho que demonstraram.

Ao meu namorado Fernando Ribeiro, pela paciência e apoio incondicional sempre prestado.

Aos meus amigos, em especial à Ana Lourenço, Neuza Nunes, Ana Rita Afonso e Maria Lopes pela amizade, compreensão e força que me deram ao longo do curso.

A todos, um muito obrigado!

Análises Microbiológicas numa Indústria Agro-Alimentar de Preparados de Fruta

Palavras-chave: Qualidade microbiológica, preparados de fruta, bolores e leveduras, microrganismos totais a 30°C.

Resumo

Durante o período de estágio, na Frulact - Indústria Agro-Alimentar no Tortosendo, foram efectuadas análises microbiológicas a amostras de matérias-primas (n=17), produto em fase de processamento (pré-mix; n=12) e produto acabado (n=12) de preparados de fruta, tendo como finalidade a contagem total de microrganismos a 30°C e a contagem de bolores e leveduras. As matérias-primas analisadas foram: “amora”, “framboesa”, “morango”, “mirtilo”, “baga de sabugueiro”, “açúcar líquido”, “cacau” e “amêndoa”.

Das várias amostras de matérias-primas analisadas a que mais se destacou foi a “amora”, tendo-se verificado que esta tinha maior susceptibilidade ao desenvolvimento de microrganismos. Quanto aos resultados das análises às amostras de produto em processamento, verificou-se em geral uma diminuição do número de UFC/g, comparativamente com os resultados obtidos nas análises à matéria-prima. É nesta etapa do processo produtivo que se faz a mistura de todos os ingredientes (a uma temperatura de 35°C-40°C) e, em alguns casos, se junta um conservante fungicida e bactericida (sorbato de potássio). Considerando os resultados das análises às amostras de produto acabado, podemos verificar que o tratamento térmico (pasteurização, durante 4 minutos a 90°C) foi eficaz, visto que as contagens obtidas para estas amostras foram $<1 \times 10^1$ UFC/g.

Em suma, no decorrer de todo o processo de produção, desde a matéria-prima até ao produto acabado, podemos verificar que o número de microrganismos vai diminuindo até serem totalmente eliminados.

Microbiological Analysis in a Food Industry of Fruit Preparations

Keywords: Microbiological quality, prepared fruit, yeasts and molds, total microorganisms at 30°C.

Abstract

During the internship period, in the Frulact, a food industry located at Tortosendo, microbiological analysis were performed on samples of raw materials (n=17), processing product (pre-mix, n=12) and finished products (n=12) of prepared fruit, tends as purpose the enumeration of total microorganisms at 30°C and the enumeration of yeasts and molds. The raw materials analyzed were: "blackberry", "raspberry", "strawberry", "blueberry", "elderberry", "liquid sugar", "cocoa" and "nut".

Of the various samples analyzed of raw materials that more detached was "blackberry", being verified that it had increased susceptibility in developing microorganisms. Regarding the results of the analysis of the processing product samples, was found in general a decrease in number of CFU/g, compared with the results obtained for analysis of the raw material. It is at this stage of the production process which join all ingredients (at a temperature of 35°C-40°C) and in some cases joins a fungicide and bactericide preservative (potassium sorbate). Concerning the results of finished product samples analyzed, it can be seen that the heat treatment (pasteurization, for 4 minutes at 90°C) was effective, since the counts obtained for these samples were $<1 \times 10^1$ CFU/g.

In sum, during the whole process of production from raw material to finished product, we can see that the number of microorganisms decreases until completely eliminated.

Índice Geral

	Páginas
Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Índice Geral	v
Índice de figuras	vii
Índice de tabelas	viii
Índice de anexos	ix
Lista de abreviaturas	x
I - Introdução	1
II - Microrganismos associados à fruta fresca e seu controlo	3
1. Microrganismos associados à fruta fresca	3
2. Medidas de prevenção para o desenvolvimento de microrganismos pós-colheita	3
3. Pasteurização em frutas	4
4. Desinfecção em frutas	5
III - Trabalho desenvolvido no âmbito do estágio	6
1. Local de estágio	6
2. Caracterização das amostras analisadas	6
3. Metodologia	10
3.1. Preparação do diluente de recuperação máxima	10
3.2. Preparação do meio de cultura <i>Plate Count Agar</i>	10
3.3. Preparação do meio de cultura <i>Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar</i>	10
3.4. Microrganismos totais a 30°C	11
3.4.1. Preparação da suspensão-mãe e das diluições	11
3.4.2. Sementeira e incubação	12
3.4.3. Fluxograma do processo de contagem de microrganismos totais a 30°C	13
3.5. Bolores e leveduras a 25°C	14
3.5.1. Preparação da suspensão-mãe e das diluições	14
3.5.2. Sementeira e incubação	14
3.5.3. Fluxograma do processo de contagem de bolores e leveduras a 25°C	15
V - Resultados e Discussão	16
1. Resultados da matéria-prima “amora”	16
2. Resultados da matéria-prima “framboesa”	17
3. Resultados da matéria-prima “morango”	19
4. Resultados das matérias-primas “mirtilo” e “baga de sabugueiro”	20

5. Resultados das matérias-primas “açúcar líquido”, “cacau” e “amêndoa”	21
6. Resultados das análises às amostras de produto em processamento	23
7. Resultados das análises às amostras de produto acabado	24
V - Considerações finais	26
Referências bibliográficas	27
Anexos	28

Índice de figuras

	Páginas	
Figura 1	Preparação da suspensão-mãe (10^{-1})	11
Figura 2	Preparação das outras diluições (10^{-2} e 10^{-3})	11
Figura 3	Sementeiras da amostra de “cacau”	12
Figura 4	Fluxograma do processo utilizado na contagem de microrganismos totais a 30°C	13
Figura 5	Fluxograma do processo utilizado na contagem de bolores e leveduras a 25°C	15
Figura 6	Recipiente com a matéria-prima “amora”	16
Figura 7	Recipiente com a matéria-prima “framboesa”	18
Figura 8	Recipiente com a matéria-prima “morango”	19
Figura 9	Recipiente com a matéria-prima “mirtilo”	20
Figura 10	Recipiente com a matéria-prima “amêndoa”	21
Figura 11	Recipiente com a matéria-prima “cacau”	22
Figura 12	Recipiente esterilizado com amostra de produto acabado	25

Índice de tabelas

		Páginas
Tabela 1	Amostras de matérias-primas analisadas	7
Tabela 2	Amostras de produto em processamento analisadas	8
Tabela 3	Amostras de produtos acabados analisadas	9
Tabela 4	Resultados da contagem de colónias obtida nas diferentes diluições e nº UFC/g na matéria-prima “amora”	16
Tabela 5	Resultados da contagem de colónias obtida nas diferentes diluições e nº UFC/g na matéria-prima “framboesa”	17
Tabela 6	Resultados da contagem de colónias obtida nas diferentes diluições e nº UFC/g na matéria-prima “morango”	19
Tabela 7	Resultados da contagem de colónias obtida nas diferentes diluições e nº UFC/g na matéria-prima “mirtilo” e “baga de sabugueiro”	20
Tabela 8	Resultados da contagem de colónias obtida nas diferentes diluições e nº UFC/g na matéria-prima “açúcar líquido”, “cacau” e “amêndoa”	21
Tabela 9	Resultados da contagem de colónias e nº UFC/g nas amostras de produto em processamento	23
Tabela 10	Resultados da contagem de colónias e nº UFC/g nas amostras de produto acabado	24

Índice de anexos

		Páginas
Anexo I	Fluxograma do processo desde a recepção da matéria-prima até ao transporte do produto acabado	28
Anexo II	Resultados totais das amostras de matérias-primas	29
Anexo III	Resultados totais das amostras de produto em processamento	31
Anexo IV	Resultados totais das amostras de produto acabado	33

Lista de abreviaturas

a_w	Actividade da água
CO ₂	Dióxido de carbono
HTST	<i>High Temperature-Short Time</i>
min	Minutos
MRD	<i>Maximum recovery diluente</i>
NaCl	Cloreto de sódio
O ₂	Oxigénio
OMS	Organização Mundial de saúde
O/R	Potencial de oxidação-redução
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
pH	Potencial hidrogeniónico
UFC/g	Unidades formadoras de colónias por grama
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>
YGC	<i>Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar</i>

I - Introdução

A escolha deste estágio curricular teve como base o interesse pela Microbiologia e também pelo funcionamento de uma indústria alimentar, daí a escolha da Frulact - Indústria Agro-Alimentar no Tortosendo, Covilhã para a sua realização. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia da Frulact, onde teve como tema de trabalho as análises microbiológicas efectuadas numa indústria agro-alimentar de preparados de fruta.

Na actualidade a segurança alimentar é uma preocupação dominante em todo o mundo. Desde sempre, os alimentos e os microrganismos desenvolveram uma interessante associação. Visto que os alimentos não apresentam apenas um valor nutricional importante, estes são, muitas vezes, um meio de cultura ideal para o desenvolvimento microbiano (Novais, 1998).

Na natureza, os alimentos são facilmente contaminados por microrganismos, durante a sua manipulação e o seu processamento. Após o alimento ser contaminado, este serve como meio para o desenvolvimento dos microrganismos, sendo estes responsáveis pela deterioração do alimento e também por provocarem intoxicações e infecções transmitidas através dos alimentos (Pelczar Jr. *et al.*, 1997). De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), os manipuladores são responsáveis, directa ou indirectamente, por 26% de casos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos (Andrade *et al.*, 2003).

São vários os factores intrínsecos e extrínsecos que afectam o desenvolvimento microbiano nos alimentos. Os factores intrínsecos, relacionados com os próprios alimentos, incluem o pH, o teor de humidade, a actividade da água (a_w), o potencial de oxidação-redução (O/R), os nutrientes disponíveis, os constituintes antimicrobianos e as estruturas biológicas. Um factor intrínseco de extrema importância é o pH de um alimento, atendendo a que valores baixos de pH favorecem o desenvolvimento de leveduras e bolores. Quanto aos factores extrínsecos, que são na sua essência as características do ambiente de armazenagem, incluem a temperatura, a humidade relativa e a presença e concentração de gases (CO_2 , O_2) (Novais, 1998).

No que diz respeito às frutas, a invasão do tecido de uma planta por bactérias e fungos pode ocorrer durante vários estados do desenvolvimento da fruta. Quanto maior for a extensão da contaminação, maior a probabilidade de ocorrer a deterioração. Um factor que contribui para a contaminação microbiana das frutas é o tipo de manuseamento usado pós-colheita. O manuseamento mecânico produz, provavelmente, quebras no tecido, permitindo a entrada de microrganismos (Pelczar Jr. *et al.*, 1997). Por outro lado, a maior parte dos microrganismos tem origem no solo e estes podem ser espalhados pelo vento, chuva e também podem ser transportados por insectos, contaminando a superfície das frutas. De acordo com Lund e Snowdon (2000), a maioria dos microrganismos encontra-se na superfície das frutas. O número e tipo de microrganismos presentes em frutas recém-colhidas vão depender do clima, época do ano, tempo de colheita, tipo de fruta e a sua proximidade ao solo, irrigação e tratamento pré-colheita com produtos químicos, tais como fungicidas (Lund e Snowdon, 2000).