Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Avaliação da Qualidade Microbiológica de Cereais usados numa Indústria Alimentar - Frulact

Joana Isabel Dias Grilo

Relatório apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Nutrição Humana e Qualidade Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Cristina Maria Batista Santos Pintado, Professora da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Engenheira Magda Catarina Dias David, da empresa Frulact – Indústria Agroalimentar no Tortosendo

2012

À memória dos meus Avós e da minha Prima Isabel

Agradecimentos

À Professora Doutora Cristina Pintado, a minha orientadora interna, pela paciência, disponibilidade, dedicação, amizade, pelos conhecimentos técnico-científicos transmitidos e pela orientação no trabalho e revisão de texto.

À empresa Frulact – Indústria Agro-alimentar, que me proporcionou as condições necessárias à realização deste trabalho.

À Engenheira Magda David, a minha orientadora externa, por toda a colaboração, apoio e amizade no decorrer deste trabalho, bem como às técnicas Vera, Marta, Ana, Elisabete, Nádia e Cristina, como também aos técnicos Filipe e Carlos pelos conhecimentos transmitidos e bons momentos.

Ao Professor Doutor João Pedro Luz, docente da Escola Superior Agrária de Castelo Branco, pela fundamental colaboração neste trabalho, na identificação de diferentes tipos de bolores, pelos conhecimentos transmitidos e toda a disponibilidade em ajudar.

À D.Helena Martins e Engª Manuela Goulão, do Laboratório de Microbiologia da ESA, por toda a disponibilidade, ajuda e amizade durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais e irmão, a quem dedico este trabalho, por me acompanharem nesta caminhada difícil, pelo esforço feito ao longo destes 3 anos da minha vida académica, pelo incentivo, amor e confiança em mim.

A toda a minha família pela força e apoio que demostraram ao longo de todo o curso.

Aos meus amigos, agradeço a paciência, disponibilidade e amizade que me deram ao longo do curso. A todos aqueles amigos que me ajudaram e ajudam a enfrentar todas as adversidades e a todos aqueles amigos com quem partilhei bons e maus momentos.

Muito Obrigada!

Avaliação da Qualidade Microbiológica de Cereais usados numa Indústria Alimentar – Frulact

Resumo

O presente trabalho decorreu na empresa Frulact - Tortosendo e teve como objetivo avaliar o nível de contaminação microbiológica de amostras de cereais destinados à indústria alimentar.

Foram analisadas 54 amostras no total, sendo 38 de cereais (aveia, n=12; cevada, n=7; centeio, n=2; trigo, n=17) 9 de bolachas e 7 de cereais acidificados. As amostras foram analisadas tendo em vista a contagem de microrganismos totais a 30ºC, a contagem de bolores e leveduras e a pesquisa de microrganismos termorresistentes a 25ºC e a 30ºC. Dez das amostras foram igualmente analisadas para o parâmetro a_w (atividade da água). As amostras foram colhidas em quatro locais da fábrica: receção, armazém de refrigeração, armazém de congelação e armazém de secos.

A análise de resultados permitiu-nos concluir que cerca de 20,4% das amostras apresentavam contagens de microrganismos aeróbios totais a 30ºC superiores a $3{,}0\text{x}10^3$ por grama de amostra. Quanto aos microrganismos termorresistentes, apenas 3 das 18 amostras analisadas apresentaram este grupo de microrganismos. Relativamente aos bolores e leveduras verifica-se que 25,5% das amostras apresentam valores superiores a $1{,}0\text{x}10^2$ por grama de amostra. As amostras de trigo foram as que apresentaram um nível de contaminação mais elevado, em particular as amostras provenientes do armazém de refrigeração. Os valores de a_w obtidos variaram entre 0,21 e 0,56. Na caracterização da flora fúngica nos cereais verificou-se uma predominância de bolores identificados presuntivamente como pertencentes aos géneros *Aspergillus* e *Penicilllium*.

Palavras-chave: Cereais, bolores e leveduras, microrganismos termorresistentes, microrganismos a 30ºC, indústria alimentar

Evaluation of Microbiological Quality of Cereals Used in Food Industry – Frulact

Abstract

This work took place at the food industry Frulact - Tortosendo and aimed to assess the level of microbiological contamination of cereal samples for the food industry.

A total of 54 samples were analyzed: 38 cereals (oat, n=12; barley, n=7; rye, n=2; wheat, n=17) 9 cereal biscuits and 7 acidified cereals. The samples were analyzed in order to do the enumeration of microorganisms at 30ºC, the enumeration of molds and yeast and the detection of heat-resistant microorganisms at 25ºC and 30ºC. Ten samples were also analyzed for the water activity (a_w). The samples were taken from different places: reception, warehouse cooling, warehouse freezing and warehouse of dry materials.

The analysis of the results allowed us to conclude that about 20.4% of the samples had a total count of microorganisms at 30 ° C greater than 3.0 $x10^3$ per gram of sample. As for heat-resistant microorganisms, only 3 of the 18 samples showed this group of microorganisms. With regard to yeasts and molds shows that 25.5% of the samples showed values greater than 1.0 $x10^2$ per gram of sample. Wheat samples were those that had a higher level of contamination, in particular samples from the warehouse cooling. The a_w values ranged between 0.21 and 0.56. Concerning the characterization and the presumptive identification, the fungi belonging to genera *Aspergillus* and *Penicilllium* were predominate.

Keywords: Cereals, molds and yeast, thermoresistant microorganisms, microorganisms at 30ºC, food industry

Índice geral

Agradecimentos v

Índice geral ix

Índice de figuras xi

Índice de tabelas xii

Índice de Anexos xiii

Lista de abreviaturas xiv

1. Introdução 1

2. Revisão Bibliográfica 3

2.1. Composição e aspetos nutricionais dos cereais 3

2.2. Deterioração após colheita 4

2.3. Bolores contaminantes dos cereais 5

2.4. Principais micotoxinas desenvolvidas pelos bolores presentes nos cereais 7

2.5. Medidas de prevenção e controlo 8

2.6. Aspetos microbiológicos 9

2.6.1. Atividade da água (a_w) 9

2.6.2. Microrganismos aeróbios totais a 30ºC ou flora total 10

2.6.3. Bolores e leveduras 10

2.6.4. Microrganismos termorresistentes 11

3. Trabalho Laboratorial 13

3.1. Contagem de microrganismos aeróbios totais a 30ºC e flora fúngica 15

3.1.1. Contagem de microrganismos a 30ºC ou flora total 16

3.1.2. Contagem da flora fúngica 16

3.2. Pesquisa de microrganismos termorresistentes 17

3.3. Isolamento, purificação e caracterização morfológica dos bolores e leveduras 18

3.4. Determinação da atividade da água (a_w) 19

4. Resultados e Discussão 20

4.1. Contagem de microrganismos aeróbios totais a 30ºC, flora fúngica e microrganismos termorresistentes nos cereais 20

4.2. Caracterização da flora fúngica nos cereais 25

4.3. Contagem de microrganismos aeróbios totais a 30ºC e flora fúngica em soluções acidificadas 27

4.4. Avaliação da atividade da água (a_w) 27

5. Considerações Finais 29

6. Referências Bibliográficas 30

Anexos

Índice de figuras

Figura 1: Estrutura do grão dos cereais 3
Figura 2: Principais características morfológicas do género *Aspergillus* 6
Figura 3: Principais características morfológicas do género *Penicillium* 7
Figura 4: Material para a colheita das amostras de cereais 15
Figura 5: Suspensão-mãe de algumas amostras de cereais 16
Figura 6: Procedimento relativo à inoculação das amostras para a contagem de microrganismos aeróbios totais a 30ºC 16
Figura 7: Procedimento relativo à inoculação das amostras para a contagem de bolores e leveduras 16
Figura 8: Esquema do método usado neste trabalho para a pesquisa de microrganismos termorresistentes 17
Figura 9: Coloração de esfregaços pelo método de coloração simples 18
Figura 10: Material para a determinação da atividade da água 19
Figura 11: Fotografias macroscópicas de diferentes espécies do género *Penicillium* 25
Figura 12: Fotografia macroscópica do género *Aspergillus* 26
Figura 13: Fotografia microscópica de diferentes géneros de bolores 26

Índice de tabelas

Tabela 1: Composição química (% na matéria seca) de alguns grãos de cereais inteiros 4
Tabela 2: Bolores contaminantes dos cereais 5
Tabela 3: Principais espécies responsáveis pela produção de micotoxinas 8
Tabela 4: Caracterização das amostras de cereais utilizadas neste estudo 14
Tabela 5: Caracterização das amostras de soluções acidificadas de cereais utilizadas neste estudo..... 15
Tabela 6: Contagem de microrganismos (ufc/g) da análise às amostras de cereais colhidas na altura da receção 20
Tabela 7: Contagem de microrganismos (ufc/g) da análise às amostras de cereais armazenados na congelação 21
Tabela 8: Contagem de microrganismos (ufc/g) da análise às amostras de cereais armazenados na refrigeração..... 22
Tabela 9: Contagem de microrganismos (ufc/g) da análise às amostras de cereais armazenados no armazém dos secos 24
Tabela 10: Contagem presuntiva para diferentes géneros de bolores..... 25
Tabela 11: Contagem de microrganismos (ufc/g) da análise às soluções acidificadas de cerais . 27
Tabela 12: Resultados da avaliação da atividade da água e da humidade relativa de equilíbrio de algumas amostras de cereais 27

Índice de Anexos

Anexo I Fotografias de algumas amostras de cereais analisadas ao longo do trabalho

Anexo II Exemplo de um impresso para o registo de análises microbiológicas e dos resultados das análises dos produtos

Anexo III Modo de Preparação do diluente *Maximum Recovery Diluent*

Anexo IV Exemplo de um impresso para o registo da pesquisa de microrganismos termorresistentes e dos resultados das análises dos produtos

Anexo V Modo de Preparação do meio *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Anexo VI Contagem de Colónias nos diferentes meios

Anexo VII Fotografias da flora fúngica resultante das análises das amostras de cereais

Lista de abreviaturas

a_w	Atividade da Água
CO_2	Dióxido de Carbono
ESACB	Escola Superior Agrária de Castelo Branco
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
g	Grama
HRE	Humidade Relativa de Equilíbrio
mL	Mililitro
O_2	Oxigénio
PCA	*Plate Count Agar*
PDA	*Potato Dextrose Agar*
pH	Potencial hidrogeniónico
Ref^a	Referência
ufc	Unidades Formadoras de Colónias
YGC	*Yeast Extract Glucose Chloramphenical Agar*
ºC	Graus Celsius
%	Percentagem