



## Análise Técnica

### Segurança Microbiológica de Molhos Comercializados em Embalagens Tipo Sache: Avaliação de um Abridor de Embalagens

Coord. Prof. Dr. Marco Antônio Lemos Miguel

Equipe: Carolina Beres & Priscila Paula Duboc

Universidade Federal do Rio de Janeiro - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes

Laboratório de Microbiologia de Alimentos - tel. 021 2562-6745

marco.miguel@micro.ufrj.br

#### 1. Introdução

A preocupação com a segurança microbiológica no uso de alimentos como maionese, *ketchup* e mostarda, entre outros, que eram frequentemente mantidos sem refrigeração para uso em bares, restaurantes e lanchonetes culminou na substituição das antigas bisnagas por embalagens individuais tipo saches, em atendimento ao projeto de lei 486/2011 publicado no Diário Oficial em maio de 2011. Devido à falta de uma região de abertura bem definida, estas embalagens são frequentemente abertas com a boca pelos usuários. Em função das condições de estocagem e manipulação, a superfície destas embalagens pode estar contaminada com patógenos e causar danos à saúde do consumidor. Como solução para este problema, alguns modelos de abridores de saches estão disponíveis no mercado. Entretanto, não foram encontrados estudos que avaliem os aspectos microbiológicos associados ao uso destes equipamentos. Este estudo teve como objetivo avaliar as características microbiológicas da superfície de embalagens tipo sache disponíveis no comércio da cidade do Rio de Janeiro, e

analisar a aplicabilidade e segurança microbiológica de um equipamento desenvolvido para abrir este tipo de embalagem.

## 2. Material e Métodos

Neste estudo foi utilizado o abridor de saches mais difundido no mercado nacional (Khort Comércio de Produtos Plásticos) (figura 1).



Figura 1: Abridor de sache usado nas análises

Para a caracterização microbiológica da superfície das embalagens foram analisados 285 saches obtidos nos balcões de bares e lanchonetes da cidade do Rio de Janeiro. Estes foram coletados assepticamente e transportados em sacos estéreis até o laboratório para análise no mesmo dia. Cinco unidades de cada estabelecimento foram homogeneizadas fechadas com 100 mililitros de *Brain Heart Infusion* (BHI) em um agitador tipo “*Stomacher*” por 60 segundos. Diluições decimais foram semeadas em Agar Batata Dextrosado, Agar *Baird Parker* e Agar Padrão para Contagem, para determinação de fungos, *Staphylococcus* coagulase positivos e bactérias mesófilas totais, respectivamente. Também foi realizada a análise através da técnica de filtração em membranas. A incubação foi realizada à 25°C por até 5 dias para fungos e 37°C por até 48 horas para as bactérias. A pesquisa de coliformes foi realizada em Colilert® (IDEXX Laboratories, Inc.) e interpretada de acordo com instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por lote (UFC/lote). Para avaliação da aplicabilidade e segurança microbiológica, o abridor de saches foi avaliado quanto à persistência de *Escherichia coli* ATCC 25922 nas partes

plásticas e na lâmina de corte. Diferentes unidades novas foram higienizadas com hipoclorito 100 ppm e tiosulfato 1,5%, rinsadas exaustivamente com água destilada, secas sob ultravioleta por 30 minutos e inoculadas com  $10^8$  UFC de *Escherichia coli* previamente cultivadas em BHI. As unidades foram estocadas à 25°C em tubos estéreis e analisadas por até 30 dias. Para as análises as unidades foram homogeneizadas em agitador tipo Vortex por 1 minuto em 10 mililitros de meio BHI, semeadas em Agar Tripcaseína de Soja e incubadas a 37°C por até 48 horas. A identidade das colônias recuperadas foi confirmada pela produção da enzima beta glucuronidase. Um lote não inoculado foi utilizado como controle e também submetido às análises microbiológicas. Os testes foram realizados em triplicata.

As análises de transferências foram realizadas em 3 etapas. O primeiro experimento teve como objetivo avaliar a capacidade de transferência da contaminação do abridor para o sache, desse modo 10 abridores foram tratados com hipoclorito de sódio 12% e tiosulfato 1,5%, com posterior rinsagem com água destilada estéril e secagem em luz ultravioleta. Nestes foram inoculados  $10^8$  células/unidade. Cada abridor foi usado para abertura de um sache, o picote resultante da abertura e o sache com conteúdo foram analisados para a contagem de *E. coli*. Para análise da capacidade de propagação da contaminação 3 abridores foram desinfetados conforme citado anteriormente e inoculados com  $10^8$  células/unidade. Cada equipamento foi usado para abertura de 10 saches. O picote resultante da abertura e o sache e seu conteúdo foram analisados para a presença de *E. coli*. A transferência de contaminação do sache para o abridor foi realizada com saches confeccionados no laboratório usando sacos estéreis, preenchidos com 1 mL de caldo BHI. Estes foram inoculados com  $10^8$  células/mL e cada sache foi aberto em um abridor esterilizado como citado. Os abridores foram analisados para a presença de *E. coli*.

### 3. Resultados e discussão

#### Análise microbiológica da superfície de sachês

Neste estudo 70,2% das embalagens adquiridas no mercado apresentavam contaminação por fungos ( $10 - 10^2$  UFC/lote). Bactérias mesófilas foram detectadas em 82,5% dos sachês com contagens entre  $10$  e  $10^2$  UFC/ lote e 66,6% com contagem de estafilococos entre  $10$  e  $10^2$  UFC/lote (figura 2). Dos 57 lotes analisados apenas 6 apresentam contaminação por coliformes totais, sendo nenhuma deles com resultado positivo para *E.coli*. Em estudos semelhantes, Duboc (2010) evidenciou a contaminação química e microbiológica na superfície de embalagens tipo sache para doce de leite. No estudo de Duboc foi encontrada uma contaminação de 58% das amostras analisadas com bolores e 28% apresentou contaminação com bactérias mesófilas, ambas com concentração até  $10^3$  UFC/lote. Estes estudos mostram que embora o risco com a qualidade microbiológica do produto tenha sido minimizado pelo uso de embalagens individuais, esta medida não contemplou os riscos associados com o contato direto da boca com a superfície das embalagens.

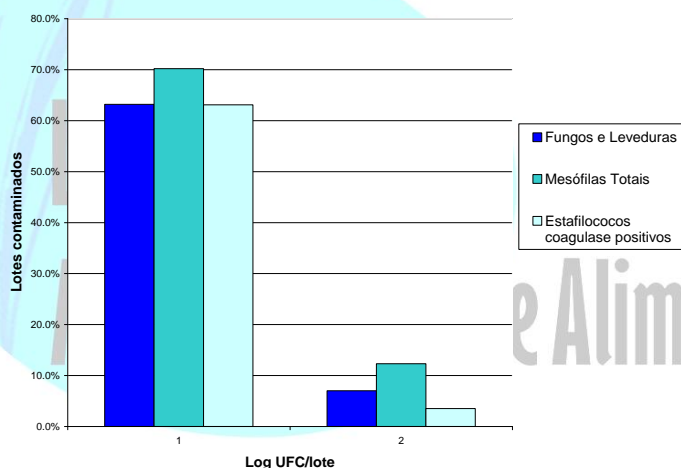


Figura 2: Característica microbiológica da superfície de embalagens tipo sache disponíveis em bares e lanchonetes da cidade do Rio de Janeiro. Um lote corresponde a 5 unidades amostradas de um mesmo estabelecimento; UFC/lote: Unidade Formadora de Colônias por lote.

### Sobrevivência de *Escherichia coli* na superfície de sachês

Após 24 horas de estocagem a redução de *E. coli* nas partes do abridor variou entre 5 e 7 ciclos, sendo maior na lâmina, corpo e fenda, respectivamente. Entretanto, no oitavo dia de incubação a lâmina já apresentava uma redução de 8 ciclos logarítmicos, 2 ciclos maior do que as outras partes. A menor redução foi observada na fenda, o que sugere um maior cuidado com a higienização desta parte (Figura 3). Observou-se que ao final uma maior redução de células da lâmina, o que se mostra uma vantagem já que no momento do uso do equipamento o maior contato com a embalagem ocorre com a lâmina. Essa maior redução pode ser explicada pela composição do metal usado na formação da lâmina e um possível poder antimicrobiano (Rocha, *et al.* 2011).

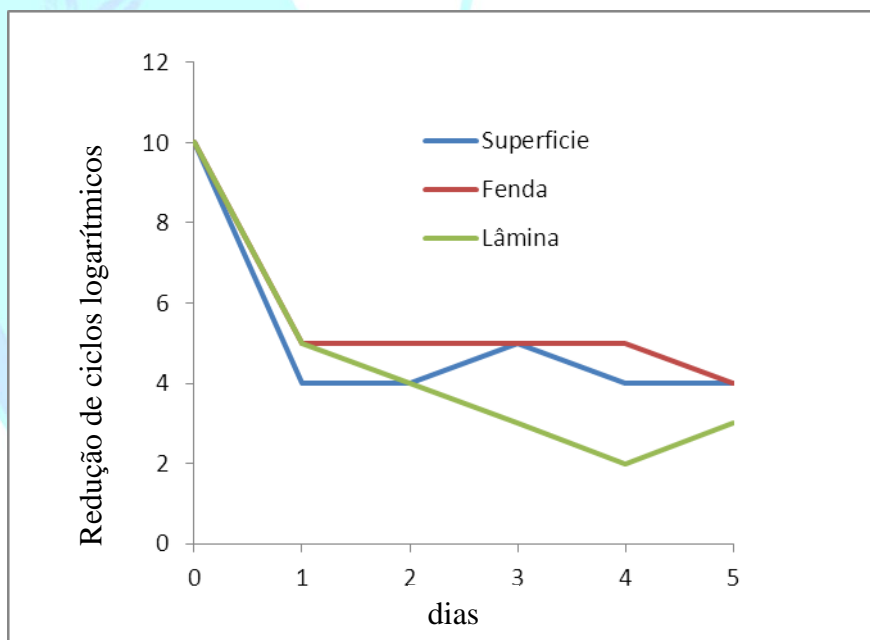


Figura 3: Sobrevivência de *Escherichia coli* em diferentes partes de abridores de sachês intencionalmente contaminados.

Os dados obtidos sugerem que após a contaminação do abridor por embalagens contaminadas, manipulação ou vetores, as diferentes partes mostram características distintas na redução do contaminante, sendo as fendas a

responsável pela manutenção de um maior número de microrganismos, diferente da lâmina. Embora tenha sido detectada a presença de coliformes em 10,5% dos saches, em geral a carga microbiana na superfície das embalagens foi baixa. Levando-se em consideração a elevada redução dos microrganismos testados apresentada nas primeiras 24 horas de incubação, e o pequeno contato da embalagem com a lâmina, podemos sugerir que o uso do equipamento apresenta uma maior segurança em relação à abertura do sache, que coloca a boca em contato direto com uma microbiota variada e dependente das condições de armazenamento destes. O estudo também mostrou que fica clara a necessidade de estabelecimento e respeito aos protocolos para higienização do equipamento. Nas condições analisadas os microrganismos não foram capazes de se multiplicar no equipamento, entretanto os testes não foram realizados com equipamentos apresentando resíduos de alimentos, o que poderia aumentar o tempo de sobrevivência do microrganismo.

#### **Potencial de transferência de *Escherichia coli* do abridor para os saches**

Os abridores inoculados com  $10^8$  células de *Escherichia coli* foram capazes de contaminar somente o primeiro entre 10 saches abertos consecutivamente. A análise dos saches após a abertura com os equipamentos contaminados mostrou uma baixa transferência de microrganismos, ou seja foram detectadas apenas  $10^2$  células das  $10^8$  inoculadas. Este resultado pode ser explicado pela pequena área de contato com a lâmina no momento da abertura associada à rápida inativação dos microrganismos observada na lâmina do cortador. Não foi detectada a presença dos microrganismos inoculados no conteúdo dos saches. Os resultados expressam a média de três experimentos.

#### **Potencial de transferência de *Escherichia coli* do sache para o abridor**

Os saches inoculados com  $10^8$  células de *Escherichia coli* foram capazes de contaminar 30% dos abridores testados. A análise dos abridores mostrou que houve uma transferência de menos de 10 células por abridor. Os resultados expressam a média de dez experimentos.

A carga microbiana média encontrada nos saches comercializados no Rio de Janeiro foi de  $10^2$  células por lote de 5 saches, o que corresponde a uma contaminação de aproximadamente 20 células por sache. Levando-se em consideração a possibilidade da presença de microrganismos infecciosos, este número de células, quando em contato com a boca do consumidor pode levar ao desenvolvimento de doença de origem alimentar. Entretanto, o estudo revelou que existe uma rápida inativação dos microrganismos quando em contato com as partes do abridor, principalmente a lâmina. Esta possível transferência dos microrganismos em baixa concentração na superfície dos saches para o abridor levaria a uma redução mais significativa destes agentes de acordo com os resultados obtidos. O estudo mostrou ainda que a presença do microrganismo na lâmina dos abridores leva a uma transferência pouco significativa para a superfície e conteúdo dos saches.

#### **4. Conclusão**

Embora o uso do abridor analisado necessite de mais estudos quanto à segurança, procedimento e frequência de higienização, os resultados sugerem que seu uso minimize o risco de contato direto com patógenos que podem estar em baixas concentrações na superfície dos saches.

#### **5. Referencias**

Nunes, A. Assembléia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro. Projeto de Lei no 486/2011.

Duboc, P.P. “Aspectos microbiológicos de embalagens de doce de leite comercializados em saches”. Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

Rocha, D.P., Pinto, G.F., Ruggiero, R., Oliveira, C.A., Guerra, W., Fontes, A.P.S., Tavares, T.T., Marzano, I.M. e Pereira-Maia, E.C. “Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana.” Química Nova, 34 (1), 111-118, 2011.

Apoio: CNPq, CAPES e FAPERJ.