

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM SUCO DE LARANJA IN NATURA COMERCIALIZADO NAS VIAS PÚBLICAS EM JOÃO PESSOA – PB

Microbiological analysis of natural orange juice commercialized in public streets in João Pessoa - PB

Resumo:

O suco de laranja in natura é consumido no mundo todo por ser uma fonte de vitamina C, sais minerais, carboidratos e de sabor agradável. Porém, estas características proporcionam um meio adequado ao desenvolvimento de microrganismos, inclusive patógenos. O objetivo deste estudo foi verificar a presença de microrganismos no suco de laranja in natura comercializado nas vias públicas em João Pessoa-PB, comparando com a legislação vigente. Em três amostras de diferentes pontos comerciais foram analisadas a presença de mesófilos, fungos, coliformes totais e termotolerantes. A metodologia foi baseada na APHA de 2001. Os valores encontrados estavam acima do recomendado para mesófilos e fungos. Quanto ao teste presuntivo e confirmativo foi presente apenas para "B" e "C", para termotolerantes foi ausente em todas as amostras. Sendo assim, o suco é qualificado para consumo humano. Contudo, se faz necessário a adoção de boas práticas na fabricação e na manipulação deste alimento.

Abstract:

In natura orange juice is consumed worldwide because it is a source of vitamin C, minerals, carbohydrates and pleasant taste. However, these characteristics provide a suitable environment for the development of microorganisms, including pathogens. The objective of this study was to verify the presence of microorganisms in fresh orange juice commercialized in public streets in João Pessoa-PB, in comparison with the current legislation. The presence of mesophiles, fungi, total coliforms and thermotolerants were analyzed in three samples from different commercial points. The methodology was based on the APHA of 2001. The values found were higher than recommended for mesophiles and fungi. As for the presumptive and confirmatory test was present only for "B" and "C", for thermotolerant was absent in all samples. Therefore, the juice is qualified for human consumption. However, it is necessary to adopt good practices in the manufacture and handling of this food.



*Efigênia Béria de Souza Santos,
Valter Oliveira de Souto, Nataly
da Silva Alves, Veridiana
Fabrício do Nascimento, Joselito
Braga da Silva¹*

¹ Universidade Federal da Paraíba
E-mail: valter.o.souto@hotmail.com

Contato principal
Valter Oliveira Souto¹



Palavras chave: Carboidrato, Fungos, Consumo

Keywords: Carbohydrates, Fungi, Consumption



INTRODUÇÃO

A laranjeira (*Citrus sinenses*) dentre todas as árvores frutíferas, é a mais cultivada e pesquisada. Foi disseminada pelo mundo, sofrendo mutações e originando novas variedades, com alterações no sabor, aroma, cor e tamanho (MATTE *et al.*, 2006; ARRUDA *et al.*, 2011). Uma fonte de vitamina C a laranja é considerada um potente e efetivo antioxidante, mesmo se ingerida em pequenas quantidades. Além disso, seu consumo está relacionado com a prevenção de danos oxidativos e de determinadas enfermidades, como o escorbuto (FIGUEIREDO, 2009; DOLINSKY, 2011; SILVA *et al.*, 2007).

O mercado mundial de laranja possui duas regiões produtivas altamente significativas: Flórida (EUA) e São Paulo (Brasil). Juntas, essas regiões respondem por 40% da produção mundial da fruta e seus derivados. O Brasil, maior produtor e exportador de suco de laranja, detém 50% da produção mundial, sendo que apenas 3% ficam no mercado interno. O Ministério da Agricultura (BRASIL, 2000), define suco de laranja como uma bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja através de processo tecnológico adequado.

Porém, o suco de laranja *in natura* é um meio de cultura adequado para microrganismos, pois a sua composição proporciona nutrientes importantes como ácidos orgânicos, sais minerais e carboidratos (SALES *et al.*, 2016). É nas condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o processo de fabricação do suco que geralmente a segurança microbiológica do produto será comprometida (OLIVEIRA, 2006). Os fatores apontados por favorecer a contaminação dos sucos estão relacionados a estocagem e qualidade insatisfatória da matéria-prima, a superfície externa da fruta e a etapa de extração do suco com a inadequada higienização de equipamentos extratores e utensílios, podendo estes, serem fontes de contaminação principalmente por bolores e leveduras (RUSCHEL, 2001).

Levando em consideração um importante fator na contaminação dos alimentos é a deficiência de capacitação dos manipuladores e vendedores, onde a falta de higiene ou hábitos inadequados comprometem a qualidade do produto. Lembrando que a exposição do suco a temperatura ambiente por um tempo prolongado, a existência de canudos, copos e garrafas utilizados na comercialização do suco em locais inadequados, expostos ao ar livre e a manipulação destes materiais sem o uso de luvas são atitudes que favorecem a proliferação de patógenos e deteriorantes (RUSCHEL *et al.*, 2001).

A implantação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Manipulação (BPM), bem como promover aos funcionários informações e treinamento, uma vez que estes locais produzem, manipulam e distribuem alimentos, se torna importante pelo fato de que a carga microbiana e as condições higiênico-sanitárias do produto provavelmente irão refletir as condições da matéria-prima, do ambiente e do pessoal (BRITO; ROSSI, 2005).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar microbiologicamente (mesófilos, fungos, coliformes totais e termotolerantes) o suco da laranja *in natura* comercializado nas vias públicas de João Pessoa – PB, comparando com a legislação vigente e tendo como finalidade qualificar se estará apto ou não ao consumo humano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção das amostras

Foram adquiridas amostras comerciais em pontos aleatórios nas vias públicas de João Pessoa – PB no dia 02 de agosto de 2016. Os sucos foram codificados como amostras A, B e C e analisados baseado na metodologia descrita no *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (APHA, 2001).

Análises Microbiológicas

Foram coletadas as amostras (A, B e C) e transportadas a 10 °C em embalagens térmica para o laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Paraíba para a realização de todas as análises.

Metodologia (Mesófilos e Fungos)

Foram pesados 25 g de cada amostra em uma placa de *Petri* estéril. Logo em seguida, foram homogeneizados os sucos em um *Erlenmeyer* (500 mL) com 225 mL de solução salina a 0,85% e posteriormente diluídos em série. Para a contagem padrão de mesófilos aeróbios, foram inoculados 1 mL das diluições no meio *Tryptone Soy Agar* (TSA), com a utilização da técnica *Pour plate*, indicada para o crescimento de bactérias aeróbias mesófilas. Já para a verificação do crescimento de fungos aeróbios, foram utilizados o meio *Potato Dextrose Agar* (PDA) com a mesma forma de inoculação para todas as amostras. Logo em seguida as placas foram incubadas em estufa com 35 °C/48 horas e 25 °C/72-96 horas, respectivamente. Após esse período, foram realizados as contagens das colônias crescidas (UFC/mL) de acordo com suas características individuais.

Metodologia (Coliformes Totais e Fecais)

Foram realizados os testes qualitativos da presença de coliformes totais e termotolerantes. Para tanto, foram utilizados os testes presuntivo e confirmativo. Para a etapa do teste presuntivo, foram inoculados 10 mL da diluição 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , em tubo de ensaio contendo caldo LST (*Lauril Sulfato Triptose*), com tubos de *Durhan* invertidos, posteriormente para o crescimento foram colocados incubados em estufa a 35-37 °C/48 horas.

Após esse período, na ocorrência de turvação e formação de gás, foram realizados o teste confirmativo. Para tanto, foram transferidos alçadas da amostra para tubos de ensaio contendo caldo BVB (*Brilliant Green Bile Broth*), logo em seguida incubados em estufa a 35-37 °C/48 horas, para a confirmação da presença de coliformes totais. Para os tubos positivos no teste confirmativo de coliformes

totais, foram transferidas alçadas das amostras para tubos de ensaio contendo tubos *Durhan* invertido em caldo EC (*Escherichia coli*), posteriormente para o crescimento foram colocados incubados em estufa a 45 °C/24 horas, para confirmação da presença de coliformes termotolerantes. As análises foram realizadas em duplicata (A1, A2, B1, B2, C1 e C2). Todas as análises foram incubadas em Estufa Bacteriológica da marca *Sterilifer* SX1.0DTMC.

Obtenção dos dados

Os dados foram tabulados com utilização do software Microsoft Excel 2010® e comparados às recomendações da Resolução - RDC nº 12, de 02/01/2001.

O presente estudo não foi submetido ao comitê de ética, visto que a pesquisa não envolve seres humanos ou animais, sendo mantido sigilo absoluto sobre os locais em que os materiais foram coletados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a coleta das amostras dos sucos *in natura* foram observados nos estabelecimentos comerciais que os sucos eram preparados apenas a pedido dos clientes. Na localização dos estabelecimentos escolhidos havia intensa circulação de pessoas e veículos. Apesar deste movimento nos locais de venda do suco, essas características foram apenas observadas, não ficando claros se poderia refletir ou não nas condições reais do produto final. Mesmo porque, a contaminação do produto pode ser por inúmeros outros fatores.

A Tabela 1 refere-se aos resultados obtidos das análises

microbiológicas de mesófilos e fungos efetuadas nas amostras de suco de laranja *in natura*. Neste grupo de microrganismos, as leveduras são consideradas os agentes de maior potencial na deterioração de produtos (HOFFMANN, *et al.* 2001) e a causa mais comum da deterioração de sucos de fruta (SANTOS, 2006).

Na Resolução - RDC nº 12/2001 o limite máximo tolerado de unidades formadoras de colônia é de 10². Os valores encontrados variam de 10³ a 10⁶, demonstrando que o produto consta em alta quantidade contaminação por mesófilos e fungos, já que está acima do preconizado pela legislação.

De acordo com Santos & Ribeiro (2006), a presença excessiva de bolores e leveduras indica manipulação inadequada, podendo ter havido falhas na limpeza das frutas e/ou manuseio realizado em condições insatisfatórias. Bem como, segundo Yamada *et al.* (2014), de duas amostras analisadas em seu estudo ambas apresentaram crescimento excessivo de leveduras, o que impossibilitou a contagem das colônias. Referindo este resultado advindo de má manipulação no preparo do suco. Segundo Silveira & Bertagnolli (2012), alertando para outro parâmetro, nos resultados de seus estudos, o percentual de amostras apresentaram contagem entre 10⁴ e 10⁵ UFC/mL para bolores e levedura que em comparação a outros autores estes valores seriam até inferiores. Porém, os resultados são preocupantes uma vez que este produto não sofre nenhum tipo de tratamento térmico, onde possa reduzir o número de microrganismos capazes de deteriorar o produto e/ou mesmo ocasionar danos a saúde dos consumidores.

Tabela 1 - Determinação de mesófilos e fungos por UFC/mL, em amostras de sucos de laranja *in natura*.

AMOSTRAS (SUCOS)	MESÓFILOS E FUNGOS AERÓBIOS (UFC/mL)	
	TSA / Mesófilos	PSA / Fungos
A	4,5X10 ⁵	4,9X10 ⁶
B	1,4X10 ³	3,5X10 ³
C	1,3X10 ³	3,5X10 ³

Média em contagem de mesófilos e fungos representados em Unidade formadora de colônias por mL (UFC/mL)

TSA – *Tryptose Soy Agar*; PDA – *Potato Dextrose Agar* – meios para placas *Petri*.

A Tabela 2 refere-se aos coliformes que são um grupo de bactérias, onde a mais importante é a *Escherichia coli*, que propicia possível contaminação no alimento por material fecal, oriunda da higiene deficiente (LOPES, 2006).

Na Tabela 2 é possível verificar que houve ausência de coliformes termotolerantes para todas as amostras estudadas. Ficando claro que as condições do produto (suco de laranja *in natura*) se encontram apto ao consumo humano.

Porém, segundo Ruschel *et al.* (2001), analisou 52 amostras de sucos de laranja *in natura*, e constatou que, aproximadamente, 6% das amostras encontravam-se inadequadas para o consumo quanto aos coliformes fecais.

Também segundo o estudo de Brito & Rossi (2005), aproximadamente 7% das amostras se apresentavam irregulares para o consumo, utilizando a quantidade de coliformes termotolerantes como referência.

No estudo de Brum *et al.* (2015), 29% das amostras se encontravam em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente quanto a presença de coliformes termotolerantes. Já no estudo de Silva *et al.* (2014), apresentaram 23,23% (menos da metade) das amostras presença de coliformes termotolerantes. Existem variações entre os estudos em relação aos resultados, o que indica que havendo condições higiênico-sanitárias adequadas é possível controlar a contaminação. O manipulador é a principal fonte responsável para este controle, que

desempenha papel importante na segurança dos alimentos, e na manutenção da higiene.

Tabela 2 - Determinação da presença ou ausência de coliformes totais e termotolerantes, em amostras de sucos de laranja *in natura*.

AMOSTRAS (SUCOS)	COLIFORMES		TOTAIS E
	Teste presuntivo	Testes confirmativos	TERMOTOLERANTES Coliformes termotolerantes
A1	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g
A2	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g
B1	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g
B2	Presença / 25 g	Ausência / 25 g	Ausência / 25 g
C1	Presença / 25 g	Presença / 25 g	Ausência / 25 g
C2	Presença / 25 g	Presença / 25 g	Ausência / 25 g

Amostras A: A1 e A2; Amostras B: B1 e B2; Amostras C: C1 e C2.
Coliformes totais e termotolerantes avaliação / 25 g.

A ANVISA não estabelece parâmetros para Coliformes a 35 °C em sucos de fruta *in natura* (BRASIL, 2001). Contudo, alguns autores afirmam que, apesar de determinadas bactérias possuírem baixos fatores de virulência, com números irrelevantes para o risco de saúde, pacientes idosos e pacientes imunossuprimidos podem constituir uma exceção (WADHWA *et al*, 2002), mesmo porque os coliformes totais e termotolerantes são de poluição fecal, o que demonstra a falta de boas práticas fabricação e na manipulação do suco de laranja *in natura*.

CONCLUSÃO

Apesar de algumas análises realizadas neste trabalho, onde o suco de laranja *in natura* apresenta como resultado “presente” para os testes presuntivos de coliformes totais, a quantidade não desqualifica as amostras coletadas para consumo humano. Reforçando ainda mais os resultados dos coliformes totais são os termotolerantes terem dado o resultado “ausente”. Porém, todas as amostras apresentaram resultados para mesófilos e fungos em números acima do permitido pela Resolução - RDC nº 12/2001, onde pode caracterizar inadequado ao consumo para algumas classes humanas, como pacientes imunossuprimidos.

Em relação a saúde pública, a sociedade necessita possuir ao seu alcance alimentos seguros, sendo estes de boa qualidade, dentro dos padrões pré-estabelecidos, não somente pelos valores nutricionais, mais sim quanto as condições higiênicas que propiciem segurança para a saúde do consumidor. Lembrando que a presença de coliformes totais em amostras de suco *in natura* encontrados neste estudo, embora não indique um risco potencial ao consumidor, demonstra a necessidade de implementação e monitoramento de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Manipulação (BPM) em locais onde se manipulem esse tipo de alimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001. 676p.

ARRUDA, M. C.; JACOMINO, A. P.; TREVISAN, M. J.; JERONIMO, E. M.; MORETTI, C. L. Atmosfera modificada em laranja pêra minimamente processada. Tecnologia de Pós-Colheita. **Revista Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p. 664-671, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa n. 1, 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. p. 54.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada. RDC n. 12, 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2001.

BRITO, C. S.; ROSSI, D. A. Bolors e leveduras, coliformes totais e fecais em suco de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados comercializados na cidade de Uberlândia – MG. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 133-140, 2005.

BRUM, D. C. M.; MALLET, A. C. T.; SARON, M. L. G.; SOUZA, E. B.; COSTA, L. M. A. S. Qualidade microbiológica e físico-química de refrescos comercializados nos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda-RJ. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 943-953, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.12957/demetra.2014.12826>.

DOLINSKY, M. **Recomendações Nutricionais e Prevenção de Doenças**. Rio de Janeiro: Roca, 2011. 160p.

FIGUEIREDO, P. P. Condições higiênico-sanitárias no preparo de suco de laranja *in natura* em lanchonetes comerciais em Goiânia, GO. **Revista Ciência & Saúde**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 574-375, 2009.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; BUENO, S. M.; VENTURIM, T. M. Qualidade microbiológica de sucos de frutas “in natura”. **Revista Higiene Alimentar**., São Paulo, v. 15, n. 80/81, p. 59-62, 2001.

LOPES, G.; CRESTO, R.; CARRARO, M. Análise microbiológica de caldos de cana comercializadas na ruas de Curitiba, PR. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 147, p. 40-44, 2006.

MATTE, C. R.; MARCO, E. M. M.; DAVID, G. T.; OLIVEIRA, C. D. D.; CARVALHO, T. C.; MONTANARI, L. B. Avaliação microbiológica de sucos de laranja *in natura* não pasteurizados durante a 16ª. Fenasoja no município de Santa Rosa/RS. In: Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, 20. 2006, Curitiba. **Anais...** Alimentos e Agroindústrias no Contexto Internacional. Curitiba: sbCTA-PR, 2006. 1-CD-ROM.

OLIVEIRA, J. C.; SETTI-PERDIGÃO, P.; SIQUEIRA, K. A. G.; SANTOS, A. S.; MIGUEL, M. A. L. Características microbiológicas do suco de laranja *in natura*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 241-245, 2006.

RUSCHEL, C. K., CARVALHO, H. H., SOUZA, R. B. & TONDO, E. C. Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre (RS). **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 21, p. 3, 2001.

SALES, W. B.; CAVEIÃO, C.; GRILLO, F. R.; RAVAZANNI, E. D. A.; VASCO, J. F. M. Presença de coliformes fecais e termotolerantes em suco de frutas cítricas. Centro Universitário Autônomo do Brasil (UNIBRASIL). **Revista Saúde e Desenvolvimento**. vol. 9, n.5. jan-jun. 2016

SANTOS, J.; RIBEIRO, G. A. Avaliação microbiológica de sucos de laranja *in natura*, comercializados na cidade de Pelotas,RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 138, p. 104-107, 2006.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; MIGUEL, M. A. L.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Estabilidades química, físico-química e microbiológica de suco de laranja cv. "pêra" submetido a diferentes condições de estocagem. **Boletim**. Centro de Pesquisa de

Processamentos de Alimentos, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 235-246, 2007.

SILVA, R. A.; SALIMENA, A. P. S.; SOUZA, P. R. R. Suco de frutas e qualidade microbiológica. **CES Revista**, Juiz de Fora, v. 28, n. 1. p. 158-168, 2014.

WADHWA, S.G.; KHALED, G.H.; EDBERG, S.C. Comparative microbial character of consumed food and drinking water. **Journal Critical Reviews in Microbiology**. 2002. 28 (3): 249-79.

YAMADA, J. A.; GONZALES, L. M.; CARVALHO, C. R. L. C.; ALMEUIDA, A. A. Análise microbiológica de suco de laranja *in natura* comercializados em quiosques das praias de Santos (SP). In: 14º Congresso Nacional de Iniciação Científica, v. 26 n. 2. 2014. São Paulo. **Anais...** Universidade Cidade de São Paulo. CONIC-SEMESP. 2014.