

**Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária
Curso de Ciências Biológicas**

**Bolores e leveduras, coliformes totais e de origem fecal em
sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados
vendidos na cidade de Uberlândia -MG.**

Cristiane Silveira de Brito

Uberlândia -MG
Dezembro-2003

**Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária
Curso de Ciências Biológicas**

**Bolores e leveduras, coliformes totais e de origem fecal em
sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados
vendidos na cidade de Uberlândia -MG.**

Cristiane Silveira de Brito

**Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas da Universidade Federal de
Uberlândia para a obtenção do grau de Bacharelado
em Ciências Biológicas.**


Uberlândia -MG
Dezembro-2003

**Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária
Curso de Ciências Biológicas**


**Bolores e leveduras, coliformes totais e de origem fecal em
sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados
vendidos na cidade de Uberlândia -MG.**

Cristiane Silveira de Brito


Aprovado pela Comissão Examinadora em 17/12/2003.



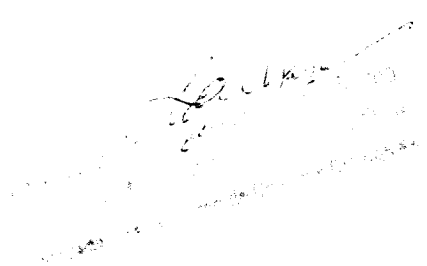
Prof. Dra. Daise Aparecida Rossi
(Orientadora)



Prof. Dr. César Augusto Garcia



Profa. M.S. Fúlvia Arantes Zardini



Uberlândia -MG
Dezembro-2003

Diálogo com Deus

Obrigado Senhor:

*Por meus braços perfeitos, quando há tantos mutilados
Por meus olhos perfeitos, quando há tantos sem luz
Por minha voz que canta, quando tantas emudecem
Por minhas mãos que trabalham, quando tantas mendigam.*

*É maravilhoso Senhor:
Ter um lar para voltar, quando tantos não têm para onde ir
Sorrir, quando há tantos que choram
Amar, quando há tantos que odeiam
Sonhar, quando há tantos que têm pesadelos
Viver, quando há tantos que morrem antes de nascer...
E, sobretudo, ter tão pouco a pedir, e tanto a agradecer!*

Autor desconhecido.

Agradecimento aos pais

Obrigada por todo o apoio, carinho, dedicação e até mesmo as muitas renúncias que fizeram por mim. Amo muito vocês!

Agradecimento a minha irmã Juliana

Agradeço por toda amizade e apoio que me ofereceu não apenas nesse trabalho, como também durante toda a minha vida.

Agradecimento a minha orientadora

Daise agradeço por toda a ajuda e companheirismo que me dedicou durante a nossa convivência. Muito obrigada! E que Deus te abençoe.

Agradecimento a todos do Laboratório de Biotecnologia Animal da FAMEV/UFU e demais colaboradores

A vocês que me auxiliaram na execução desse trabalho, agradeço por toda a ajuda que me dedicaram!

Sumário

	Pág.
1. Introdução	1
2. Referencial teórico	3
2.1. Contaminantes de alimentos ácidos	3
2.2. Bioindicadores de contaminação em alimentos	4
3. Material e métodos	6
3.1. Análises	6
3.2. Análise dos resultados	7
4. Resultados e discussão	8
4.1. Temperatura, pH e características dos estabelecimentos	8
4.2. Análises microbiológicas	9
5. Conclusões	15
6. Referências bibliográficas	16

Resumo

Considerando que no Brasil, o consumo de suco de laranja vem aumentando muito nos últimos anos e, que muitas vezes, os sucos são produzidos artesanalmente, este trabalho possuiu como objetivo avaliar a qualidade microbiológica destes produtos. Foram analisadas trinta amostras de sucos de laranja, sendo quinze de sucos naturais e quinze de industrializados não pasteurizados. As análises microbiológicas demonstraram que 86,66% (13/15) dos sucos *in natura* e 40,00% (6/15) dos sucos industrializados não pasteurizados estavam em desacordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras quando os resultados foram comparados aos preconizados pela legislação vigente. Coliformes totais e de origem fecal foram encontrados apenas nos sucos *in natura*. Das amostras de sucos *in natura* analisadas, 6,67% (1/15) apresentaram contagens acima das permitidas para coliformes fecais. Os resultados obtidos indicam que os alimentos analisados embora não sinalizem uma situação preocupante em relação aos riscos à saúde do consumidor, demonstra que deve-se ter precaução durante a produção e manipulação dos alimentos.

Palavras - chave: suco de laranja, bolores e leveduras, coliformes totais e fecais.

1. Introdução

Sucos de frutas cítricas são alimentos ricos em vitaminas e outros nutrientes muito consumidos no Brasil e em diferentes partes do mundo. Nos últimos anos, devido principalmente à conscientização sobre as propriedades nutricionais das frutas e dos sucos naturais, o interesse do consumidor pelo suco fresco com pequena vida útil de prateleira vem aumentando (IHA et al., 2000).

Os sucos de frutas são muitas vezes produzidos artesanalmente e em estabelecimentos onde as condições higiênico-sanitárias de preparo nem sempre são adequadas (PEREIRA et al., 1989). Uma grande variedade desses produtos é ofertada ao mercado consumidor, porém, na maioria das vezes, o produto não reflete a qualidade esperada (HOLFFMANN et al., 2001).

O trato gastrointestinal do homem e dos animais, rico em microrganismos, em quantidade e variedade, é uma das principais fontes de agentes patogênicos. Em condições precárias de higiene, esses microrganismos entéricos podem contaminar as mãos dos manipuladores e, conseqüentemente, os alimentos por eles preparados. A higienização inadequada de equipamentos e utensílios constitui outro fator relevante de risco, favorecendo a contaminação cruzada, cuja fonte pode ser a matéria-prima, o ar, a poeira e o próprio manipulador (GERMANO et al., 2000).

Segundo a Organização Mundial de Saúde - OMS (1989), o termo manipuladores, no sentido amplo, corresponde a todas as pessoas que entram em contato com um produto comestível, em qualquer etapa da linha de produção, desde a sua fonte até o consumidor. De acordo com PEREIRA et al. (1999) o manipulador é um elemento incisivo no processo de disseminação desses microrganismos.

Acreditava-se que a característica ácida dos sucos de frutas cítricas (pH 4,5) exercia um efeito letal sobre as células de microrganismos indicadores e patogênicos. Entretanto, foi constatado a sobrevivência de coliformes fecais e outras enterobactérias em sucos de frutas e outros substratos ácidos. Assim, a presença de patógenos enterais nesse tipo de substrato pode representar um perigo potencial à saúde do consumidor. Os agentes

bacterianos entéricos que geralmente produzem síndromes diarréicas alimentares são as salmonelas, *Shigella* e a *Escherichia coli* (PEREIRA et al., 1989).

Os principais pontos críticos de contaminação de sucos de frutas são a lavagem deficiente da fruta antes da extração do suco e a presença de frutos podres e em início de deterioração que podem contaminar o equipamento de extração e o próprio suco. Outro fator importante é a falta de preparo dos manipuladores e vendedores de sucos cítricos. Não é raro observar nesses profissionais, deficiência na higiene comportamental ou hábitos que podem comprometer a qualidade do produto, como deixá-lo fora de refrigeração ou manter os canudos em lugares inapropriados (RUSCHEL et al., 2001).

Alguns cuidados rigorosos devem ser tomados no sentido de preservar sucos de frutas que, pela sua própria natureza, são facilmente perecíveis. No caso particular dos sucos de frutas naturais, as alterações químicas, enzimáticas e microbianas podem provocar modificações de odor, sabor e consistência, principalmente se forem mantidos a temperaturas superiores à 5°C (FURLANETTO et al., 1982).

Considerando que saúde e alimentação estão estritamente relacionadas, este estudo possuiu como objetivos:

- verificar e quantificar bolores e leveduras, coliformes totais e de origem fecal em sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados comercializados na cidade de Uberlândia – MG;
- comparar os resultados obtidos com os padrões estabelecidos pela legislação em vigor.

2. Referencial teórico

2.1. Contaminantes de alimentos ácidos

A contaminação de sucos de frutas pode estar relacionada com várias origens, desde a própria casca do vegetal, por meio de insetos, do pó, da água utilizada nas várias etapas de manipulação, durante e após a preparação do suco.

Dentre os microrganismos envolvidos na contaminação de alimentos ácidos, as leveduras são consideradas agentes potenciais de deterioração. Algumas delas apresentam metabolismo respiratório, oxidando diferentes substratos, particularmente carboidratos. Essas leveduras normalmente não são produtoras de gases e apresentam crescimento restrito às superfícies dos meios (formação de película), não se desenvolvendo em condições de anaerobiose (HOFFMANN et al., 2001).

Nos sucos cítricos, o baixo pH e a alta quantidade de açúcares, propiciam o desenvolvimento de bolores e leveduras, que são os microrganismos que mais se adaptam a esses substratos (FURLANETTO et al., 1982).

Segundo CARR (1975), os sucos de frutas são na sua maioria suficientemente ácidos para inibir o crescimento bacteriano, porém, bactérias acéticas aeróbicas, bactérias lácticas microaerófilas, além de algumas espécies do gênero *Zigomomonas*, por serem ácido-tolerantes, podem causar modificações na aparência, aroma e consistência dos mesmos.

O desenvolvimento de microrganismos em alimentos está condicionado por uma série de fatores. Dentre eles, o pH destaca-se por exercer grande poder seletivo sobre a microbiota (PEREIRA et al., 1989). Os produtos derivados de frutas cítricas normalmente apresentam valores de pH inferiores a 4,0, motivo pelo qual, os principais problemas de deterioração a que estão sujeitos restringem-se às conseqüências do desenvolvimento de bolores e leveduras, bactérias lácticas e acéticas. Porém, apesar da maioria das bactérias patogênicas não poderem se desenvolver ou sobreviver por muito tempo em tais níveis de pH, enterobactérias têm sido isoladas de sucos recém extraídos (HOFFMANN et al., 2001).

As alterações microbianas que ocorrem em sucos de frutas naturais expostos à temperatura ambiente são normalmente fermentações alcoólicas ocasionadas por leveduras,

seguidas de oxidações do álcool e de ácidos por leveduras e por bolores que crescem na superfície. A presença de bactérias acéticas pode ocasionar a produção de ácido acético pela oxidação do álcool formado e, com isto, acidificar ainda mais o suco (FURLANETTO et al., 1982).

Geralmente a presença de bolores e leveduras em alimentos é indicativo de condições sanitárias deficientes no processamento, ou então, de matéria prima excessivamente contaminada (HOLFFMANN et al., 2001). Como fatores que influenciam a qualidade microbiológica dos sucos de laranja, pode-se destacar as condições higiênico-sanitárias das extratoras, além do treinamento dos manipuladores que nelas trabalham (RUSCHEL et al., 2001).

2.2. Bioindicadores de contaminação em alimentos

Segundo FRANCO; LANDGRAF (1996), microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração em potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção e armazenamento.

A presença de coliformes é o melhor indicativo de deficiência na higiene no preparo dos alimentos. De acordo com SIQUEIRA (1995), os coliformes classificam-se em dois grupos, os coliformes totais e os coliformes fecais, que são rotineiramente utilizados como microrganismos indicadores para avaliar as condições higiênicas dos alimentos.

A pesquisa de coliformes fecais ou de *E. coli* nos alimentos fornece com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos, sendo, utilizado como microrganismo indicador de contaminação fecal (FRANCO, LANDGRAF, 1996).

O grupo coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. Há cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas* (SILVA, 1997).

Os coliformes totais são bactérias da família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de ácidos e gás quando incubadas a 35-37°C por 48 horas. Podem ser móveis ou imóveis, são catalase positivos e oxidase negativa. Entende-se por coliformes totais a somatória dos coliformes de origem ambiental com os de origem fecal (FRANCO, LANDGRAF, 1996).

A presença de coliformes totais em alimentos, indica contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento e estocagem (GUERREIRO, 1984).

Os coliformes fecais são os que apresentam a mesma definição dos coliformes totais porém, possuem a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura de 44°C-45°C. Nessas condições, ao redor de 90% das culturas de *E. coli* são positivas, enquanto que entre os demais gêneros apenas algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* mantêm esta característica (PELCZAR et al., 1996).

3. Material e Métodos

As amostras de sucos de laranja *in natura* e industrializadas não pasteurizadas comercializadas em Uberlândia –MG, foram adquiridas no período de julho a setembro de 2003.

Para coleta, foram selecionados cinco pontos de venda para os sucos *in natura* e cinco marcas para os industrializados não pasteurizados, os quais foram adquiridos com datas de validade distintas. As amostras foram coletadas em 3 dias distintos (repetições), totalizando 30 parcelas. No momento da coleta, foram verificadas as condições da comercialização, como higiene do vendedor e local de venda, presença de rótulo, data de validade e cuidados com a refrigeração e os resultados registrados. Após coleta, as amostras foram transportadas em caixa isotérmica ao Laboratório de Biotecnologia Animal da FAMEV/UFU, onde foram analisadas.

3.1. Análises

Imediatamente à chegada ao laboratório, uma alíquota foi retirada assepticamente de cada suco para mensuração pH e da temperatura. Em seguida, as amostras foram submetidas às análises microbiológicas de coliformes totais e de origem fecal e bolores e leveduras.

Para a quantificação dos coliformes totais e fecais foi utilizada a técnica do NMP (número mais provável) segundo protocolo da ABNT (1991) descrito por SILVA et al. (1997). O enriquecimento não seletivo foi realizado em caldo lactosado com tubos de Duhran incubados a 35°C/48 horas. A confirmação (presença de gás nos tubos de Duhran) foi realizada em caldo verde brilhante e caldo E.C. (ambos com tubo de Duhran) incubados à 35°C e 45°C/ 48 horas, para coliformes totais e fecais respectivamente. Os resultados foram registrados como NMP/mL de coliformes fecais e totais.

Para a quantificação dos bolores e leveduras, as amostras foram inicialmente submetidas a diluições decimais em água peptonada tamponada. O método utilizado para contagem foi o método de plaqueamento em profundidade em ágar batata dextrose (PDA) acidificado até pH 3,5, com incubação à 25°C/5 dias. Os resultados obtidos foram

multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e registrados como unidades formadoras de colônias por mililitro da amostra - UFC/mL (ABNT,1991).

3.2. Análise dos resultados

Os resultados das contagens foram comparados aos padrões preconizados pelo Ministério da Saúde, com a literatura e com as condições observadas no preparo e comercialização.

Para a análise estatística foi aplicado o teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade, visando verificar a presença ou não de diferenças significativas nos resultados encontrados das categorias de sucos analisados (*in natura* e industrializado não pasteurizado) (SAMPAIO, 1998).

4. Resultados e Discussão

4.1. Temperatura, pH e características dos estabelecimentos

Nos sucos *in natura* o pH variou de 3,0 a 4,24 e a temperatura de 9,7°C a 10,3°C, já nos industrializados não pasteurizados, o intervalo foi de pH 1,78 a 3,07 e a temperatura de 10°C a 10,6°C. Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,01$) quando a temperatura e o pH foram comparados entre as amostras de uma mesma categoria (*in natura* ou industrializado). Porém, o pH médio foi significativamente menor ($p < 0,05$) nas amostras industrializadas quando comparadas à média de pH das amostras *in natura*.

O baixo pH dos sucos industrializados não industrializados deve-se à adição de acidulantes e conservantes, tais como o ácido cítrico (INS 330), benzoato de sódio (INS 211), metassulfito de sódio (INS 202) e sorbato de potássio (INS 223). O uso desses aditivos objetiva retardar a deterioração dos sucos, com conseqüente aumento na vida de prateleira. A presença dos aditivos estavam devidamente relacionados nos rótulos.

Os sucos industrializados não pasteurizados, apesar de armazenados em refrigerador, apresentaram temperaturas superiores às ideais (próximas a 4°C), provavelmente, pela alta frequência de abertura dos refrigeradores.

Durante a aquisição das amostras dos sucos *in natura* foi observado que em 60% (9/15) dos locais visitados, os sucos eram feitos perante o cliente, sendo que apenas em um dos estabelecimentos, os manipuladores lavaram as mãos antes de extrair os sucos e usavam máscaras durante o preparo.

Apesar de todas as marcas de sucos industrializados apresentaram rótulos onde constavam a data de validade e a presença dos aditivos, foi observado que em um dos estabelecimentos visitados, havia sucos nos refrigeradores com datas de validade já ultrapassadas. Esse fato reforça a importância da informação constante ao consumidor quanto a observação do rótulo de produtos alimentícios.

A higiene dos estabelecimentos aparentemente estavam adequadas. Em geral, os locais de preparo dos sucos estavam limpos, não foi observada a presença de insetos e/ou roedores no recinto e os utensílios apresentavam boas condições de limpeza e de

conservação. Entretanto, a lavagem das frutas antes da extração do suco não foi observada em nenhum dos estabelecimentos. Todas essas características foram apenas observadas nas visitas e podem não refletir as condições reais dos estabelecimentos.

4.2. Análises microbiológicas

Os resultados obtidos nas contagens de bolores e leveduras nos sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados foram comparados aos padrões preconizados pelo Ministério da Saúde (Tabela 1).

Tabela 1. Contagens de bolores e leveduras de sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados comercializados de julho a setembro de 2003 em Uberlândia-MG, comparados aos padrões preconizados pela legislação brasileira¹.

Tipo de suco	Apresentaram contagens (%)	Acima dos padrões (%)
<i>in natura</i>	100,00 (15/15)	86,66 (13/15)
Industrializado não pasteurizado	40,00 (06/15)	40,00 (06/15)

¹ máximo 10⁴/mL para sucos *in natura* e 20/mL para sucos industrializados não pasteurizados (BRASIL, 1997).

As amostras com contagens de bolores e leveduras acima das permitidas pela legislação foram menores 40% (6/15) nos sucos industrializados não pasteurizados quando comparados aos sucos *in natura* 86,66% (13/15), provavelmente, devido a presença de acidulantes e conservantes. Os aditivos, embora contribuam para o controle microbiano, obrigatoriamente, não indicam uma higienização adequada na produção.

Os resultados obtidos por Ruschel et al. (2001), que avaliaram 52 amostras de sucos de laranja *in natura* na cidade de Porto Alegre-RS para bolores e leveduras foram menores que os obtidos nos sucos coletados em Uberlândia. Os autores observaram que 44,23% das amostras apresentaram resultados inadequados.

FURLANETTO et al. (1982) analisaram 100 amostras de sucos de laranja *in natura* em 10 lanchonetes e restaurantes da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira, da USP, quanto à ocorrência de bolores e leveduras. Foram isoladas e identificadas cepas

USP, quanto à ocorrência de bolores e leveduras. Foram isoladas e identificadas cepas pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Rhizopus* e *Mucor*, sendo os quatro primeiros mais freqüentes. Das cepas isoladas, foram identificadas leveduras pertencentes aos gêneros *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Pichia* e *Kloeckera*, sendo três primeiros os mais freqüentes.

Apesar de Ruschel et al. (2001) afirmarem que a contaminação por bolores e leveduras em sucos de laranja não envolvam demasiados riscos à saúde humana por não serem os meios ideais para a produção de micotoxinas, Sheidegger et al. (1993) sugerem cuidados, visto que esses produtos podem ser fontes de severas infecções por *Candida albicans* em pessoas imunodeprimidas.

As contagens de bolores e leveduras, neste estudo, variaram entre $9,0 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹ a $6,4 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ nos sucos *in natura* (Figura 1) e $6,4 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ a $4,0 \times 10^2$ UFC/mL⁻¹ nos industrializados não pasteurizados (Tabela 2). Esses resultados sugerem problemas relacionados com a limpeza das frutas antes de serem espremidas ou a higienização das máquinas extratoras.

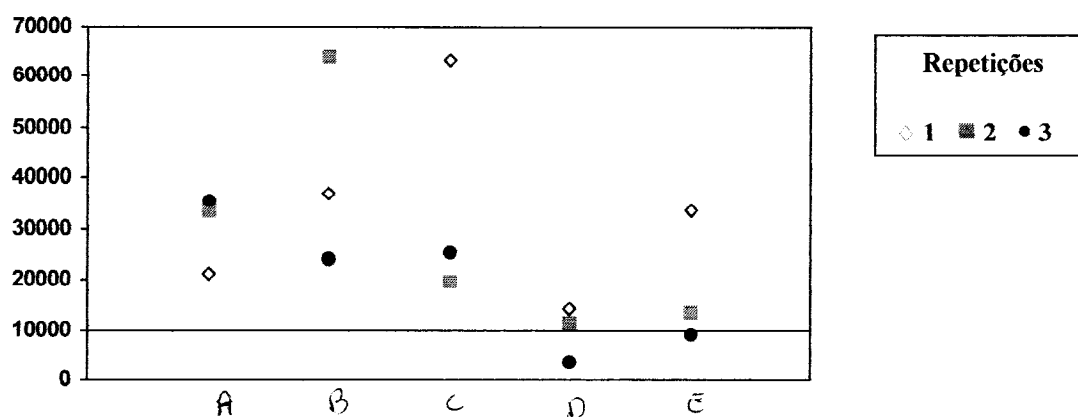


Figura 1. Contagens de bolores e leveduras (UFC.mL⁻¹) de sucos de laranja *in natura* coletados em Uberlândia, 2003.

Tabela 2. Contagens de bolores e leveduras de sucos de laranja industrializados não pasteurizados comercializados de julho a setembro de 2003 em Uberlândia-MG.

Marca	Bolores e leveduras (UFC/mL ⁻¹)		
	Repetição		
	1	2	3
A	4,0x10 ²	0	0
B	0	0	1,06x10 ²
C	0	0	0
D	1,02x10 ²	0	4,0x 10 ²
E	1,08x10 ²	0,64x10 ²	0

* amostras acima dos padrões preconizados pela legislação (máximo 20/mL) – (BRASIL, 1997).

De acordo com a legislação brasileira, a contagem máxima de coliformes fecais toleradas em sucos de laranja *in natura* é de 10²UFC/mL, não existindo padrão para os industrializados. Coliformes totais devem estar ausentes em 50mL dos sucos industrializados não pasteurizados (BRASIL, 2001). A legislação não preconiza valores máximos para contagem de coliformes totais para sucos *in natura*.

Nesse estudo, nos sucos *in natura* foi verificado que em 6,67% (1/15) das amostras analisadas, as contagens estavam acima das permitidas para coliformes fecais. Não foi verificada a presença de coliformes totais e de origem fecal nos sucos industrializados não pasteurizados.

RUSCHEL et al. (2001) analisaram 52 amostras de sucos de laranja *in natura* na cidade de Porto Alegre-RS e determinaram que 5,76% dessas amostras estavam inadequadas para o consumo quanto ao número de coliformes de origem fecal.

A contaminação por coliformes totais e fecais nos sucos *in natura* pode ter origem na parte externa das frutas, de equipamentos e utensílios deficientemente higienizados ou por meio de manipuladores. Esses últimos geralmente são o maior potencial de risco, pois na contaminação por esses grupos de microrganismos, a principal via é a via fecal-oral.

Quando observamos as contagens de coliformes obtidas por estabelecimento onde a coleta foi realizada (Tabela 3), podemos verificar o estabelecimento E foi o que mostrou

maior adequação às exigências legais. Esse estabelecimento também era o único em que o manipulador utilizava máscaras, ressaltando, assim, a importância das boas práticas na manipulação e preparo de alimentos. Esse argumento é reforçado pelo fato de que no dia em que esse manipulador foi substituído por outro (coleta da 3ª amostra nesse estabelecimento) foi o único dia em que o suco coletado apresentou contagem de coliformes totais. Foi observado também que o funcionário substituto não apresentava os mesmos hábitos de higiene observados anteriormente.

Tabela 3. Frequência de amostras de suco de laranja *in natura* que apresentaram contagens para coliformes totais e de origem fecal, Uberlândia – MG, 2003.

ESTABELECIAMENTO	Coliformes totais	Coliformes fecais
	(%)	(%)
A	100 (3/3)	0 (0/3)
B	100 (3/3)	0 (0/3)
C	100 (3/3)	33,33 (1/3)
D	100 (3/3)	0 (0/3)
E	33,33 (1/3)	0 (0/3)

Brandão et al. (1991) relatam que o atraso tecnológico da vigilância sanitária contém uma expressão muito significativa, que pode ser exemplificada através da prática, ainda muito difundida, de substituir a educação sanitária dos manipuladores de alimentos, por exames médicos e laboratoriais de rotina. Esse fato representa um alto custo social e absoluta ineficácia do ponto de vista epidemiológico.

A presença de coliformes fecais sugere a possibilidade de outros patógenos em um produto alimentício. A resistência à pH ácido apresentada por microrganismos como a *E. coli* O157:H7 já foi sugerida por Linton et al. (1999), como uma das causas de surtos envolvendo produtos ácidos como a cidra da maçã, levantando dúvidas sobre a segurança de sucos de frutas não pasteurizados.

Segundo Germano et al. (2000), calcula-se que de 1 a 100 milhões de indivíduos no mundo, contraem toxinfecções decorrentes do consumo de alimentos e de água, anualmente.

É necessário para um efetivo controle das doenças de origem alimentar, que os estabelecimentos que produzem e manipulam alimentos obedeçam os padrões sanitários. O controle deve existir na aquisição da matéria prima, no armazenamento, no tratamento térmico adequado quando necessário, na higienização de utensílios e equipamentos e nas boas práticas de produção e manipulação. Todas estas etapas devem ser acompanhadas de educação sanitária, principalmente para os manipuladores.

Uma observação geral das amostras de suco *in natura* e industrializados não pasteurizados analisados e sua adequação ou não a legislação vigente pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4. Frequência de amostras de suco de laranja *in natura* e industrializado não pasteurizado de acordo com os valores permitidos pela legislação brasileira¹ para coliformes totais e fecais e bolores e leveduras.

Microrganismos	Suco <i>in natura</i> (%)	Suco industrializado (%)
BOLORES E LEVEDURAS		
Amostras adequadas	13,34 (2/15)	60,00 (9/15)
Amostras inadequadas	86,66 (13/15)	40,00 (6/15)
COLIFORMES FECAIS		
Amostras adequadas	93,33 (14/15)	não possui padrão
Amostras inadequadas	6,67 (1/15)	
COLIFORMES TOTAIS		
Amostras adequadas	não possui padrão	100 (15/15)
Amostras inadequadas		0 (0/15)

* Bolores e leveduras: máximo 10⁴/mL para sucos *in natura* e 20/mL para sucos industrializados não pasteurizados (Brasil, 1997); coliformes fecais: máximo de 10/mL para *in natura* coliformes totais: ausente em 50 mL para sucos industrializados não pasteurizados (Brasil, 2001).

De acordo o teste de Wilcoxon, houve diferenças significativas ao nível de 1% entre os dois tipos de suco para todas as variáveis estudadas. Nas figuras a seguir estão apresentados os Box-plot das variáveis analisadas. Exceto para a temperatura, todas as variáveis apresentaram valores medianos menores nos sucos industrializados não pasteurizados.

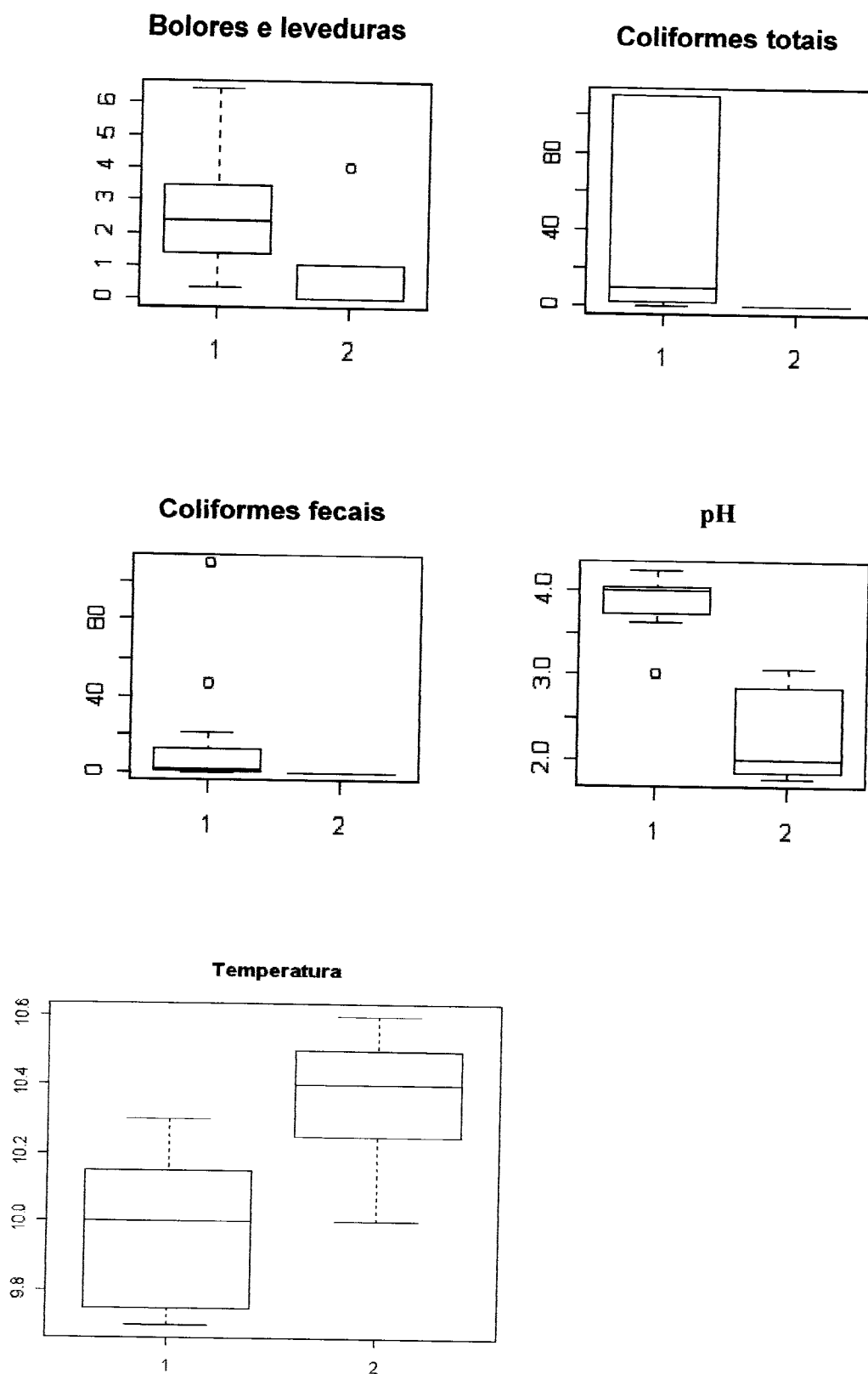


Figura 2. Representação gráfica da análise estatística. 1- Suco *in natura* 2- Industrializado não pasteurizado.

5. Conclusões

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- Os sucos industrializados apresentaram menores contagens e menor número de amostras em desacordo com a legislação. Esses resultados podem ser consequência da adição de conservantes e acidulantes como citados nos rótulos desses produtos.

- As análises microbiológicas demonstraram que 86,66% (13/15) dos sucos *in natura* e 40,00% (6/15) dos sucos industrializados não pasteurizados estavam em desacordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras quando os resultados foram comparados aos preconizados pela legislação vigente. Coliformes totais e de origem fecal foram encontrados apenas nos sucos *in natura*. Das amostras de sucos *in natura* analisadas, 6,67% (1/15) apresentaram contagens acima das permitidas para coliformes fecais.

- A presença de coliformes fecais em 6,67% (1/15) das amostras de suco *in natura* embora não indique uma situação preocupante, demonstra que deve-se ter precaução durante a produção e manipulação dos produtos.

6. Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Microrganismos viáveis aeróbios e anaeróbios em alimentos: contagem padrão em placa**. Rio de Janeiro: ABNT, nov.1991.02 p. (MB3462).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos: determinação do número mais provável (NMP)**. Rio de Janeiro: ABNT, nov.1991.04 p. (MB3463).

BRANDÃO, A.C.B.H.; BRANDÃO, A.A.H.; GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L. Segurança alimentar nos estabelecimentos de consumo. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.5, n.19, p.20-21, out. 1991.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria nº451 de 19 de Setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico e princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II, III. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Ano CXXXV, nº182, Seção I, p. 21005- 21012.

BRASIL. Leis, decretos. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº12, de 2 de Janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF.

CARR, J.C. The Bacteriology of fruit juices. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.6, n.1, p.18-26. jan./ mar. 1975.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, p.170, 1996.

FURLANETTO, S.M.P.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W.; NASCIMENTO, D. Ocorrência de bolores e leveduras em sucos de laranja ao natural. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.13, n.1, p.31-34, jan./mar. 1982.

GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L.; KAMEI, C.A.K.; ABREU, E.S.; RIBEIRO, E.R.; SILVA, K.C.; LAMARDO, L.C.A.; ROCHA, M.F.G.; VIEIRA, V.K.I.; KAWASAKI, V.M. Manipuladores de Alimento: Capacitar? É preciso. Regulamentar... Será preciso??? **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.14, n.78/79, p.18-22, nov. /dez. 2000.

GUERREIRO, M.G. **Bacteriologia Especial: com interesse à saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984. 205p.

HOFFMANN, F.L.; BUENO, S.M.; VINTURIM, T.M. Qualidade microbiológica de sucos de frutas *in natura*. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo. v.15, n.80/81, p.59-62, jan./fev. 2001.

IHA, M.H.; FÁVARO, R.M.D.; OKADA, M.M.; PRADO, S.P.T; BERGAMINI, A.M.M.; OLIVEIRA, M.A.; GARRIDO, N.S. Avaliação físico-química e higiênico-sanitária do suco de laranja fresco e do pasteurizado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. Ribeirão Preto, n.59, p.39-44. 2000.

LINTON, M.; McCLEMENTS, J.M.J.; PATTERSON, M.F. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat. **Journal of Food Protection**, v.62, n.3, p.277-279. 1999.

ORGANIZATION MUNDIAL DE LA SALUD. **Métodos de vigilância sanitária y de gestión para manipuladores de alimentos**. Ginebra, OMS, 1989. (série de informes técnicos, 785).

PELCZAR, J.M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia**. 2ed. São Paulo: Makron Books, v.2, p.1071, 1996.

PEREIRA, M.L.; LEITÃO, M.F.F. *Salmonella e Escherichia coli* em Sucos de Frutas e Outros Substratos Ácidos – Uma Revisão Sobre Injúria Bacteriana. **Revista de Farmácia e Bioquímica da UFMG**. Belo Horizonte, v.10, p. 67-80, 1989.

PEREIRA, M.L.; SERRANO, A.M.; BERGDOLL, M.S. Estafilococos e Alimentos: Possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo. v.13, n.66/67, p.48-55. 1999.

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. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v.21, n.1, p. 94-97, jan./abr. 2001.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. Livraria Varela: São Paulo, 1997, p.295.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1995. 159p.

SHEIDEGGER, C.; PIETRZAK, J.; FREI, R. Methadone diluted with contaminated orange juice or raspberry syrup as a potential source of disseminated candidiasis in drug abusers. **European Journal Clinical Microbiology Infection and Disease**, v.12, p. 229-231, 1993.