

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Bioindicadores de Contaminação em Sorvetes
Comercializados no Sistema *Self-Service* em
Uberlândia-MG**

Valdirene Aparecida da Silva

**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-2000**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Bioindicadores de Contaminação em Sorvetes
Comercializados no Sistema *Self-Service* em
Uberlândia -MG**

Valdirene Aparecida da Silva

Ms. Daise Aparecida Rossi

**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-2000**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Bioindicadores de Contaminação em Sorvetes
Comercializados no Sistema *Self-Service* em
Uberlândia-MG**

Valdirene Aparecida da Silva

Aprovado pela comissão examinadora em ____/____/00

NOTA: ____

**Daise Aparecida Rossi
(Orientadora)**

**Liana Moreira Vidigal
(Co-Orientadora)**

**João Batista Ferreira dos Santos
(Co-Orientador)**

**Uberlândia-MG
Dezembro-2000**

O Arremessador de Estrelas

Era uma vez, um homem que morava de frente para o mar e todos os dias ele acordava pela manhã e ficava observando as ondas do mar por horas a fio, sem se distrair.

Um dia, ele começou a perceber que um ancião andava todos os dias na beira do mar, devagar, calmamente, catando alguma estrelas do mar que o próprio mar jogava na praia. À medida que andava o ancião ia jogando as estrelas de volta à água. Porém estas eram somente algumas no meio de milhares. A cena se repetia todos os dias o que deixou o homem intrigado com a atitude do ancião.

Certo dia, não suportando mais sua curiosidade, desceu à praia e ficou esperando o ancião e, como de costume, lá vinha ele jogando as estrelas de volta ao mar, até que foi interrompido com a seguinte pergunta:

— Por que o senhor, todos os dias, pega algumas estrelas e as lança novamente ao mar? O ancião, sabiamente o respondeu?

— Cada estrela que eu lanço ao mar é uma vida que eu salvo, pois se ela permanecer na areia ela morrerá. O homem, com ar irônico retrucou:

— Mas o mar joga para a praia milhares de estrelas e o senhor não consegue retornar nem um décimo delas! O ancião com ar sábio, novamente o respondeu:

— Para as milhares de estrelas que ficam na areia, minha atitude não faz diferença nenhuma, entretanto, para àquelas poucas que eu retornei ao mar existe uma grande diferença, pois estou devolvendo a vida a quem já estava sem esperança.

A partir deste dia, o homem se juntou ao ancião em sua tarefa e os dois passaram a lançar estrelas ao mar.

Autor desconhecido

Dedicatória

A minha família,

*“A vocês que compartilharam os meus ideais e os alimentaram,
Incentivando-me a prosseguir na jornada,
Fossem quais fossem os obstáculos;
A vocês que sempre mantiveram-se ao meu lado,
Dedico essa conquista com a mais profunda admiração e respeito.”*

Agradecimento Especial

A Deus,

Senhor, eu vos ofereço o meu sorriso; o sorriso de paz que brota da minha alma em festa, o sorriso de amor que brota de minha alma em prece e o sorriso da dor da minha alma em pranto.

Senhor, eu vos ofereço as minhas forças que às vezes não consigo vencer, as lágrimas que não consigo reter e as tolices que não consigo deixar de cometer.

Senhor, eu vos ofereço as minhas dúvidas, as minhas incertezas, os meus temores e as minhas ansiedades.

Senhor, eu vos ofereço o meu silêncio, quando a minha vontade é de gritar; a minha inércia, quando o meu desejo é de correr e a minha ausência, quando o meu querer é estar sempre presente.

Senhor, eu vos ofereço o tudo do meu nada, porque só Vós sois sabedoria infinita, porque Vós somente Vós, sabes que eu sou um dos vossos e porque eu sou peregrino errante a caminhar nas sombras da busca do meu objetivo, do meu sucesso, da minha felicidade, confiando em ti, numa vontade louca de acertar.

Autor Desconhecido

Agradecimentos

Daise,

"Todos aqueles que encontramos profundamente formam-nos, modificam-nos, constroem-nos."

Jean Cordónel

Liana,

"Não é fácil dizer adeus, principalmente, quando as mãos que abraçamos neste adeus, são mãos queridas, mãos amigas, mãos irmãs..."

Jão Batista,

"O importante da vida é saber transformar os pequenos instantes em grandes momentos."

Bruno, Fran, Jupy's, Renata,

*"Há sempre alguém na vida da gente...
Alguém que nos apareceu sorrindo,
Alguém que nos apareceu cantando,
Há sempre alguém na vida da gente...
Alguém que nos deixou chorando,
Alguém que nos deixou sofrendo.
E, por mais indiferente que nos queira parecer,
Há sempre alguém impossível de se esquecer...
Os anos de convivência, os momentos de diversão,
A divisão de alegrias, dificuldades, vitórias e tristezas,
Fazem de vocês pessoas impossíveis de se esquecer."*

Sônia, Odécio, Francesca e amigos da FUNDAE,

"Minha homenagem e gratidão a todos os que pela amizade, carinho, respeito e convívio ao longo desses anos compartilharam e contribuíram para que essa conquista se realizasse."

Zenom e Gismar,

"Obrigada pela compreensão e disponibilidade para que esse trabalho pudesse concretizar-se."

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1. Sorvete.....	03
2.2. Microrganismos indicadores de qualidade em alimentos.....	05
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	09
3.1. Coleta das Amostras.....	09
3.2. Metodologia Analítica.....	10
3.3. Análise Estatística.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1. “Swabs” da concha de coleta.....	13
4.2. Análises do sorvete.....	15
5. CONCLUSÃO.....	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica dos sorvetes no sistema self-service comercializados em Uberlândia – MG, foram realizadas contagens de bactérias mesófilas, *Staphylococcus* coagulase positivo, coliformes totais e fecais de seis marcas diferentes de sorvetes nos sabores morango e coco. As amostras foram divididas em alimentos e “swabs” da colher utilizada para servir, perfazendo um total de 120 amostra. Todas as amostras analisadas se apresentaram em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, apresentando contagem superior à permitida, em pelo menos uma das análises realizadas. As médias das contagens realizadas nos “swabs” apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para bactérias mesófilas, coliformes totais e coliformes fecais nas diferentes marcas estudadas, porém, não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quando foram comparadas as médias dos sabores morango e coco. A presença de *Staphylococcus* coagulase positivo somente foi detectada na concha utilizada nos sorvetes de morango com médias de $4,0 \times 10^2$, $8,0 \times 10^1$, $7,6 \times 10^2$ e $1,6 \times 10^3$ UFC/g nas marcas B, C, D e E, respectivamente. No sorvete do mesmo sabor, nas marcas B, C e D, as contagens deste microrganismo estavam acima da permitida em 3 amostras, com valores de $1,1 \times 10^3$, $3,7 \times 10^3$, $1,4 \times 10^3$ UFC/g, indicando possível contaminação cruzada. Coliformes fecais estavam presentes em 53,3% e 73,3% das amostras de sorvetes dos sabores morango e coco, respectivamente, sendo que não há padrão na legislação para contagens desses microrganismos. As médias obtidas para coliformes totais estavam dentro do padrão exigido pela legislação vigente.

Palavras-chave: sorvete, self-service, bioindicadores de contaminação.

1. INTRODUÇÃO

A palavra "sorvete" vem do árabe "chorbat", que é definida no Oriente como "suco de frutas, em caldas de açúcar e água gelada". Ao longo do tempo, a fabricação do sorvete foi adaptando inovações tecnológicas como adição de leite, creme de leite e outros aditivos, assim como a pasteurização e a incorporação de ar à mistura de ingredientes (HOFFMANN *et al.*, 1995).

O sorvete não é considerado um alimento essencial para a dieta diária do ser humano, porém é um alimento rico em carboidratos, gordura, ferro, proteínas, sais minerais como o cálcio e vitaminas como A, B1, B2, B6, E, C, D e K, podendo se constituir em uma fonte complementar de alto valor nutritivo. No Brasil, o consumo maior é durante o período de temperaturas elevadas, porém, na América do Norte e Europa é um alimento consumido durante todo o ano.

Devido sua composição e dependente das condições de fabricação, o sorvete pode se constituir em um veiculador de microrganismos para o homem, principalmente, devido ao fato de erroneamente, muitos leigos considerarem o congelamento como garantia de qualidade microbiológica. De fato, o frio, é o maior fator isolado de conservação do sorvete, não sendo eficiente porém, para transformar um produto de má qualidade em um de qualidade superior, sendo suficiente somente para manter suas características (NÓBREGA, 1991).

As principais fontes de contaminação do sorvete na fabricação são os ingredientes, equipamentos e processamento a qual é submetido, sendo que após produção e congelamento, a manipulação passa a ser a fonte potencial de maior importância, principalmente quando somada às características físicas como a composição, acidez final e utensílios que entram em contato com o alimento.

Os agentes contaminantes dos alimentos podem ser classificados em saprófitas ou patogênicos, os quais são responsáveis por mudanças físicas e químicas podendo causar deterioração nos alimentos e toxiinfecção no homem (PELCZAR *et al.*, 1996). Dentre os microrganismos causadores de doenças, transmitidos por alimentos, as bactérias representam o grupo de maior importância, sendo responsáveis pela ocorrência de cerca de 70% dos surtos e 90% dos casos (ANDRADE & MARTYN, 1996).

Dentre os microrganismos que podem causar quadros de toxinfecção alimentar e que têm sua presença favorecida por matéria-prima contaminada, processamento inadequado, higiene pessoal deficiente, manipulação e equipamentos contaminados encontram-se o *Staphylococcus* coagulase positiva produtores de enterotoxinas e os coliformes fecais (ELEMENTOS..., 1999).

Como acontece com a maioria dos alimentos processados, a quantificação de microrganismos indicadores como bactérias mesófilas, *Staphylococcus* coagulase positivo, número mais provável de coliformes totais e fecais, são fundamentais para se avaliar as condições higiênico-sanitárias das instalações e processamento, assim como, o cuidado com o qual o sorvete foi preparado.

Além da contaminação existente no alimento já pronto para consumo, manipulação adicional como a que acontece com o sorvete servido em pequenas porções, pode favorecer o crescimento da microbiota existente ou recontaminar o produto. Desta forma, torna-se importante monitorar os fatores que podem desencadear esta contaminação, comparando o produto embalado para consumo e o servido em pequenas porções, assim como, os fatores que podem contribuir para esta contaminação, como a espátula que é utilizada para servir e que permanece na maioria dos estabelecimentos, imersa em água em temperatura ambiente.

Considerando a possibilidade de contaminação de sorvetes vendidos à população, este trabalho possui como objetivos:

1. avaliar a qualidade microbiológica de sorvetes sabor morango e coco comercializados em Uberlândia - MG no sistema *self-service*, através da contagem padrão de mesófilas, *Staphylococcus* coagulase positiva e grupo coliforme.
2. verificar a contaminação microbiológica das espátulas utilizadas para servir o sorvete e sua influência nas contagens do sorvete coletado no item 1.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Sorvete

O primeiro sorvete foi criado no ano 62 d.C., para ser servido nas festas de Nero, feito por pedaços de gelo onde se amassavam frutas, mel, vinho e outros produtos, sendo que somente no século XIII é que surgiu um sorvete mais aprimorado, fabricado com leite, trazido por Marco Polo da Ásia. Lentamente, o conhecimento sobre sorvetes foi se difundindo pela Europa e Estados Unidos e somente em 1851, quando foi montada a primeira sorveteria na cidade de Baltimore Maryland é que o sorvete foi fabricado industrialmente HOFFMANN *et al.*, 1995).

Os sorvetes são classificados como gelados comestíveis, que são produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições que garantam a conservação do produto no estado gelado ou parcialmente congelado durante o armazenamento, transporte e a entrega ao consumo. Tais produtos podem ser classificados também de acordo com sua composição ou conforme o processo de fabricação e apresentação (HOFFMANN *et al.*, 1995).

A produção do sorvete, segundo GUIA...(1999) consta basicamente das seguintes etapas: mistura dos ingredientes, homogeneização, pasteurização, mistura/resfriamento, estocagem, distribuição e comercialização. Após esse processo, o sorvete é mantido sob uma temperatura de -30°C a -35°C, o que torna o produto potencialmente perigoso, se estiver contaminado, já que alguns patógenos e toxinas

presentes não são destruídos, mas sim, mantidos nas temperaturas de congelamento (NÓBREGA, 1991). Um pensamento bastante comum e errôneo da maioria das pessoas é achar que os sorvetes não representam risco de toxinfecções, por considerarem que a baixa temperatura de armazenamento, significa garantia de qualidade microbiológica. MONTEIRO (1978), constatou que em sorvetes armazenados a $-23,3^{\circ}\text{C}$, microrganismos causadores das febres paratifóide e ondulante permanecem viáveis por 36 meses e também que espécies de bacilos causadores de tuberculose virulentos foram detectados após estocagem por mais de 30 meses. FALCÃO *et al.* (1985), constatou diversas ocorrências em um surto de gastroenterite no Amapá, causado por *Salmonella paratyphi C*, veiculado pelo sorvete.

O número e o tipo de microrganismos viáveis, presentes no sorvete, refletem o grau de contaminação da matéria-prima, as condições higiênicas sanitárias das instalações e processamento, assim como, o cuidado com os quais o sorvete foi preparado. NÓBREGA (1991), ao analisar três diferentes marcas de sorvete, observou que uma das marcas, a marca "A", apresentou todas as 4 amostras fora do padrão para bactérias mesófilas, 3 fora do padrão para coliformes totais e 1 fora do padrão de *S. aureus*. De acordo com o autor, esses resultados correspondem às condições higiênico-sanitárias observadas, que apresentaram várias irregularidades, tais como: ausência de gorros, luvas e uniformes dos manipuladores, instalações inadequadas, na qual o banheiro situava-se dentro da sala de preparação e o mesmo era desprovido de pia para lavagem das mãos; utensílios utilizados na preparação em péssimas condições de conservação e limpeza, e ainda, que os ingredientes utilizados no preparo do sorvete não sofriam qualquer tratamento térmico durante ou após seu preparo final.

Alguns sorvetes são aromatizados artificialmente, adicionando-se sucos, corantes e aromatizantes e outros produzidos utilizando-se polpa da própria fruta. Os ingredientes adicionados ao sorvete, devem ser de garantida qualidade microbiológica, de maneira que não prejudiquem a qualidade do produto, e conseqüentemente, a saúde do consumidor. As frutas devem estar perfeitamente maduras, não podendo apresentar defeitos, tais como, focos de parasitas, manchas estranhas ou dilacerações causadas por insetos ou pássaros. Sua pele ou casca deve estar perfeitamente limpa, sem a presença e

pesticidas, adubos químicos ou orgânicos. Os sucos podem conferir sabor desagradável ao sorvete, se já estiverem em processo de fermentação (GUIA...,1999).

Estabilizantes, emulsificantes, corantes e aromatizantes devem ser adicionados à calda base do sorvete antes da pasteurização, e portanto, é imprescindível o controle da temperatura neste processo, uma vez que tais aditivos podem estar contaminados por microrganismos patogênicos, que encontrando condições favoráveis podem se multiplicar e provocar a deterioração do produto. Vale ressaltar que alguns patógenos são capazes de produzir enterotoxinas resistentes a temperatura de pasteurização, que no caso de misturas de sorvete, é geralmente de 85°C durante 25 segundos (GUIA...,1999). Apesar das boas práticas de fabricação indicarem a pasteurização de todos os ingredientes, muitas frutas, sucos, aromatizantes, entre outros, podem perder suas características quando submetidas ao calor. Neste caso, todos os ingredientes devem possuir certificados e laudos da fonte produtora, garantindo as características desejáveis do produto e registro do fabricante junto a órgão fiscalizador.

Dentre as sementes oleaginosas que são normalmente adicionadas ao sorvete destacam-se as nozes, avelãs, castanhas e coco ralado. É necessário que se tenha um controle da qualidade desses ingredientes, uma vez que os mesmos podem estar contaminados por micotoxinas, resistentes a temperatura de pasteurização (GUIA...,1999).

2.2. Microrganismos indicadores de qualidade em alimentos

São considerados mesófilos os microrganismos que crescem em temperaturas entre 25°C a 40°C (PELCZAR *et al.*,1996). A contagem padrão de bactérias mesófilas tem sido usada como indicadora da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também informações sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número indicam matérias-primas excessivamente contaminadas, limpeza e desinfecção de superfícies ineficientes, deficiente higiene na produção e condições inadequadas de tempo/temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos, ou ainda, uma combinação destes fatores (GUERREIRO,1984).

A enumeração do número de coliformes tem a finalidade de avaliar as condições sanitárias de produção, processamento e estocagem. Altas contagens significam

contaminação pós processamento, limpeza e sanitização deficientes e tratamentos térmicos ineficientes, já que a temperatura de pasteurização destrói completamente esses microrganismos (SIQUEIRA, 1995).

As enterobactérias são bastonetes Gram negativas, mesófilas, não esporuladas, cujo habitat natural é o intestino humano e animal. Compreendem várias famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae e muitos gêneros como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Proteus*. São aeróbias ou anaeróbias facultativas, fermentam uma grande variedade de carboidratos e são oxidase negativo (PELCZAR *et al.*, 1996).

Em alimentos, devido a grande diversidade de microrganismos presentes, geralmente são pesquisados grupos de microrganismos indicadores de contaminação, entre eles, o grupo coliforme de origem ambiental ou fecal. O grupo coliforme é caracterizado por bacilos Gram negativos, fermentadores da lactose com produção de ácido e gás, dentre seus principais representantes encontram-se, o *Enterobacter aerogenes* e a *Escherichia coli*. Analisando estes bioindicadores em gelados comestíveis, PINTO *et al.* (2000) em Araçatuba – SP, constatou que das 12 amostras analisadas, 5 apresentaram-se fora do padrão estipulado pelo Ministério da Saúde para coliformes totais e 3 fora da especificação legal para coliformes fecais.

O *Staphylococcus aureus* pertence à família Micrococaceae, são bactérias mesófilas, apresentando temperatura de crescimento entre 7°C e 47,8°C. São cocos Gram positivos, anaeróbios facultativos, com maior crescimento sob condições aeróbias quando então produzem catalase, são coagulase positivo e ocorrem em aglomerados em forma de “cachos de uva” (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os estafilococos, dentre os microrganismos Gram positivos, destacam-se como importante grupo, cuja presença se faz observar, sobretudo, na pele e mucosas do homem estendendo-se, de forma generalizada, a animais de sangue quente (PEREIRA *et al.*, 1999). No que se refere às espécies coagulase positivas, HERRERO *et al.* (1989), isolou além de *S. aureus*, as espécies *S. hyicus* e *S. intermedius* enterotoxigênicas em portadores assintomáticos, portanto, é necessário admitir a existência de outras espécies além de *S. aureus*, em manipuladores de alimentos, fator relevante no diagnóstico de intoxicação alimentar, embora, na maioria dos casos de toxiinfecção alimentar, o *S. aureus* apareça com maior frequência.

O *S. aureus* coloniza as mucosas nasais e orais (garganta) e outros locais como períneo, pele e cabelos de indivíduos saudáveis. Além da contaminação através dos manipuladores de alimentos portadores de *S. aureus*, esta bactéria pode ser introduzida no alimento a partir de equipamentos e utensílios utilizados no processamento (ELEMENTOS..., 1999). Este microrganismo é causador de toxinfecção de origem alimentar, devido a secreção de uma proteína solúvel em água e de elevada resistência térmica, denominada enterotoxina estafilocócica (DELAZARI & LEITÃO, 1976). Quanto mais baixa a temperatura, maior será o tempo necessário para produção de enterotoxinas. Surtos epidêmicos ocorrem quando a quantidade de enterotoxina no alimento ultrapassa o limite de resistência do consumidor, desencadeando os sintomas da doença, como vômito, diarreia, ânsia, calafrios, dores abdominais, prostração e raramente febre (GELLI & MARTINS, 1986).

De acordo com "Food and Drug Administration", a dose infectiva de enterotoxina estafilocócica, poderá ser atingida quando a população de *S. aureus* for maior que 10^5 UFC/g no alimento contaminado. A potencialidade da enterotoxina é elevada, podendo pequenas quantidades presentes no alimento serem suficientes para desencadear os sintomas. *S. aureus* são bactérias resistentes, facilitando a contaminação e multiplicação em alimentos, podendo sobreviver por muito tempo em ambientes hostis além de apresentar multirresistência a quimioterápicos, antibióticos e metais pesados (ELEMENTOS..., 1999).

NÓBREGA (1991), analisou sorvetes de sabor chocolate na cidade de João Pessoa -PB em diferentes estabelecimentos e observou que 2 amostras encontravam-se fora do padrão para *S. aureus*, de acordo com os padrões estabelecidos pela Divisão Nacional de Alimentos/Ministério da Saúde - DINAL/MS (1987). Foram estabelecidos nessa portaria padrões para gelados comestíveis onde adota-se no máximo 10^2 /g para coliformes totais (NMP); presença de *S. aureus* no máximo de 10^3 UFC/g e limite máximo de 2×10^5 UFC/g para bactérias mesófilas, entretanto, não determina um padrão definido para coliformes fecais.

Segundo HOBBS & GILBERT (1986) citado por SILVA JR. (1997) a contaminação dos alimentos pode ser consequência do contato com utensílios, superfícies e equipamentos insuficientemente limpos, já que microrganismos veiculadores de toxinfecções alimentares podem se manter em partículas de alimento

ou em água sobre os utensílios lavados inadequadamente. Falhas na higiene durante a manipulação e/ou processamento dos alimentos, resultam numa alta contaminação microbiana mesmo numa faixa estritamente ácida em produtos mantidos sob refrigeração constante (PINTO *et al.*, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas em diferentes sorveterias que adotam o sistema self-service, na região central da cidade de Uberlândia-MG, onde há maior fluxo de pessoas. As amostras de sorvetes dos sabores de morango e coco, de seis marcas diferentes foram colocadas em frascos estéreis e acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas para o Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia - UFU, para posterior análise microbiológica e físico-química. Além da coleta dos sorvetes, foram realizados "swabs" da colher utilizada para retirar o sorvete, e também, mensuração da temperatura do balcão de refrigeração. A condução do experimento está esquematizada na Figura 1.

3.1. Coleta das Amostras

Foram coletadas 50 gramas de sorvete dos sabores coco e morango de seis marcas diferentes, em 5 repetições, totalizando 60 amostras. A coleta foi realizada com colher (concha boll) do próprio estabelecimento e as amostras acondicionadas em frascos estéreis, imediatamente transportadas até o laboratório para análises de contagem padrão de mesófilas, número mais provável de coliformes fecais e totais e *Staphylococcus* coagulase positivo. Além do sorvete, foram coletadas com auxílio de um "swab" estéril, amostras da superfície da colher utilizada para coletar sorvetes e estes mergulhados em 9mL de água peptonada estéril, sendo considerado esta, como a diluição 10^{-1} . Foram efetuadas nos 60 "swabs", as mesmas análises realizadas no sorvete.

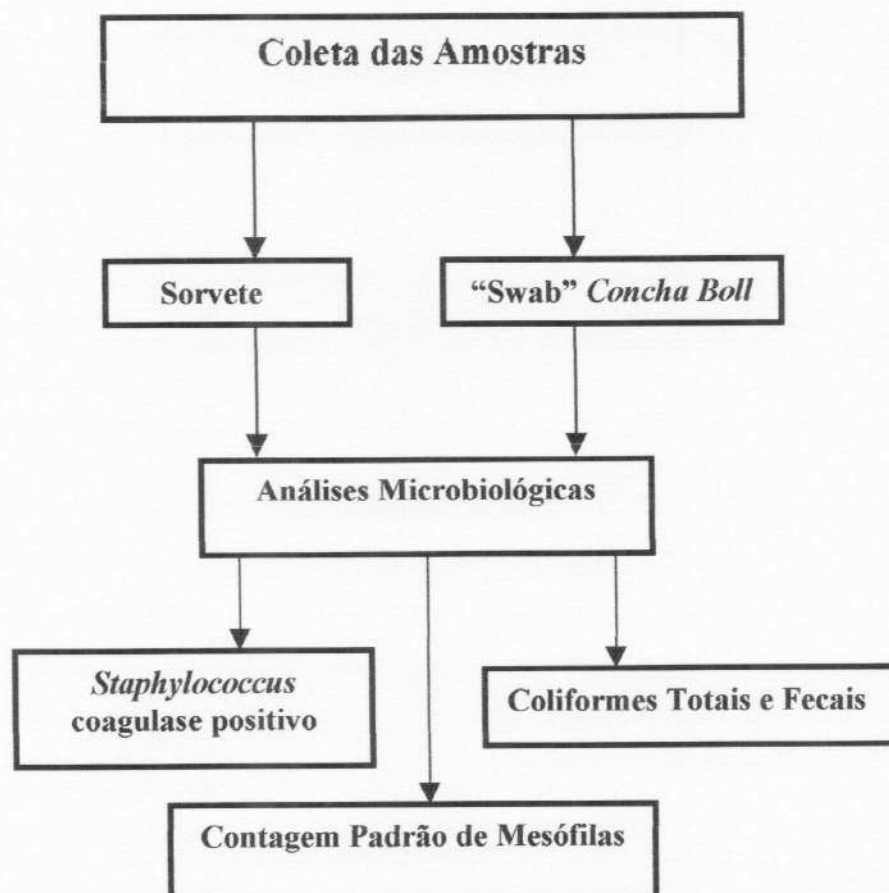


Figura 1. Esquema de condução do experimento.

3.2. Metodologia analítica

Para análise do sorvete, inicialmente foram pesados com auxílio de uma espátula estéril, 10 gramas das amostras e colocadas em um frasco contendo 90 mL de água peptonada estéril, sendo esta a diluição 10^{-1} .

Para a contagem padrão de mesófilas, foram preparadas diluições decimais seriadas, sendo 1 mL de cada diluição adicionado a placas de Petri estéreis, onde foram colocados 15 mL de ágar padrão para contagem (PCA) previamente fundido e resfriado a 45°C. Após homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C/48 horas. Após a incubação as placas foram contadas e o número de colônias encontrado foi multiplicado pela recíproca da diluição e o resultado expresso como unidades

formadoras de colônias por grama de sorvete (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992).

A análise do número mais provável de coliformes fecais e totais é subdividido em duas etapas, o teste presuntivo e o confirmativo. No teste presuntivo foram utilizados 3 séries de 3 tubos, contendo uma série de caldo lactosado duplo (LSTD) e as outras duas de caldo lactosado simples (LSTS), todos com tubos de Durhan. Foram adicionados 1, 0,1 e 0,01 ml da amostra original em cada série e os tubos incubados a 35°C/48 horas. Os tubos que apresentaram gás nos tubos de Durhan, foram anotados, e posteriormente, confirmados em caldo verde brilhante e bile 2% (35°C/48 horas) e caldo E.C (44,5°C/48 horas), para determinação de coliformes totais e fecais, respectivamente. Foram considerados positivos, os tubos que apresentaram gás no tubo Durhan e os resultados foram expressos de acordo com a tabela de NMP e registrado como NMP de coliformes/mL (BRASIL, 1981).

Para a realização da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo, foi semeado com auxílio de alça de Drigalsk sobre a superfície do ágar Baird Parker, 0,1 ml de cada diluição selecionada. O inóculo foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio até total absorção e as placas foram incubadas em posição invertida a 35-37°C /48 horas. Após incubação foram contadas as placas que continham entre 20-200 colônias, selecionadas colônias típicas (circulares negras, brilhantes, com anel branco opaco rodeado por um halo claro transparente destacando-se sobre a opacidade do meio) e atípicas. As colônias selecionadas foram repicadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e ágar tripticase soja (TSA) inclinado e incubadas a 35°C/24 horas. Provas como coloração diferencial de Gram, catalase e coagulase foram efetuadas e confirmadas como *Staphylococcus* coagulase positivas as bactérias que apresentarem resultados positivos em todas as provas. Em seguida foram realizados os cálculos e os resultados expressos como UFC/mL (ABNT, 1991).

Todas as análises efetuadas no sorvete foram também realizadas nos "swabs", seguindo a mesma metodologia, porém considerando a amostra coletada em 9mL de água peptonada, como diluição 10^{-1} .

3.3 Análise Estatística

Foram utilizadas para tratamento dos dados, a análise de variância e as diferenças entre médias, verificadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAMPAIO, 1998). O delineamento utilizado foi o DIC (delineamento inteiramente casualizado) em esquema fatorial. Foram verificadas as diferenças entre as médias obtidas nas contagens microbiológicas dos sorvetes sabor morango e coco nas diferentes marcas, assim como, as diferenças entre as médias de contagens dos “swabs”.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. "Swabs" da concha de coleta

Todos resultados obtidos nas contagens de bactérias mesófilas das conchas estavam acima dos padrões adotados pelas indústrias alimentícias, que considera como superfície limpa ou higienizada aquela que apresentar no máximo $1,0 \times 10^2$ UFC/cm². As menores médias obtidas, considerando o sabor, foram $4,1 \times 10^5$ UFC na concha utilizada para servir sorvete de morango (marca C) e $1,1 \times 10^5$ UFC para a concha do sorvete de coco, na marca D. Os resultados médios das contagens de mesófilas das conchas não apresentaram diferença ($p > 0,05$) quando comparada sua utilização nos dois sabores, porém foram diferentes quando levado em conta o local de coleta ($p < 0,05$). Os resultados médios das contagens de bactérias mesófilas, obtidas nos swabs das conchas utilizadas para cada sabor, nas diferentes marcas coletadas nas 5 repetições constam na Tabela 1.

Tabela 1. Contagens médias de bactérias mesófilas das conchas utilizadas para servir o sorvete de 6 marcas diferentes

Marcas	Contagem de mesófilas (UFC/concha)		
	Morango*	Coco*	Média**
A	$4,2 \times 10^5$ A	$2,0 \times 10^5$ A	$3,1 \times 10^5$ b
B	$1,0 \times 10^7$ A	$6,6 \times 10^6$ A	$8,3 \times 10^6$ a
C	$4,1 \times 10^5$ A	$4,1 \times 10^5$ A	$4,1 \times 10^5$ ab
D	$5,3 \times 10^6$ A	$1,1 \times 10^5$ A	$2,7 \times 10^6$ ab
E	$9,7 \times 10^6$ A	$1,2 \times 10^7$ A	$1,1 \times 10^7$ a
F	$1,7 \times 10^6$ A	$3,9 \times 10^5$ A	$1,0 \times 10^6$ ab

* média de 5 amostras

** média de 10 amostras

(a,b) médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, são diferentes ($p < 0,05$)

(A,B) médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes ($p < 0,05$)

A enumeração de coliformes totais e fecais também não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) quando foram comparados as contagens das conchas utilizadas para servir o sorvete de coco ou morango, porém, foram diferentes quando foi levado em consideração a marca ($p < 0,05$), os resultados das contagens médias podem ser melhor observados na Tabela 2.

Tabela 2. Contagens médias** de coliformes totais e fecais (NMP/mL) das conchas utilizadas para servir o sorvete de 6 marcas diferentes

Marcas	Coliformes (NMP/mL)	
	Coliformes totais	Coliformes fecais
A	$4,4 \times 10^1$ ab	$3,4 \times 10^1$ a
B	$4,8 \times 10^1$ ab	$2,6 \times 10^1$ a
C	$5,7 \times 10^1$ ab	$1,4 \times 10^1$ a
D	$7,7 \times 10^1$ a	$1,9 \times 10^1$ a
E	$8,8 \times 10^1$ a	$2,8 \times 10^1$ a
F	$3,8 \times 10^0$ b	$0,4 \times 10^1$ a

** média de 10 amostras

(a,b) médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas iguais não são diferentes ($p < 0,05$)

Não existe um padrão pré estabelecido pela legislação que recomende o número máximo de coliformes totais em utensílios que entrem em contato direto com o alimento pronto para o consumo, porém SILVA JR (1995), adotou como aceitável para cozinhas industriais, uma contagem de até 100 UFC/cm^2 . As contagens encontradas em todas as repetições estavam dentro deste limite, porém, apesar de baixas, foram constantes em todas as repetições e podem ter contribuído para aumentar as contagens dos sorvetes.

Coliformes fecais também apresentaram baixas contagens, mas, constantes em todas as repetições. A presença de coliformes totais e fecais indica uma higienização não adequada ou insuficiente. A inadequação foi observada em todas as repetições, já que somente em 2 estabelecimentos de venda (A e F), a concha para servir sorvete ficava imersa em água corrente, que é o procedimento correto. Esta observação coincidiu com as menores contagens obtidas para coliformes totais.

As contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva apresentaram diferenças significativas tanto quando comparadas as médias obtidas para os 2 sabores quanto para as diferentes marcas ($p < 0,05$). O “swab” da concha do sorvete de coco não apresentou contagens em nenhuma das repetições. Quando analisada a concha para sorvete de morango houve contagem nas marcas B, C, D e E, que foram de $4,0 \times 10^2$, $8,0 \times 10^1$, $7,6 \times 10^2$ e $1,7 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente. Apesar de não existirem padrões para “swabs” de utensílios, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi considerada alta, já que a concha entra em contato direto com o sorvete pronto para o consumo e esses microrganismos, oriundos de manipuladores, podem ser introduzidos nos alimentos de forma direta ou indireta através dos utensílios e equipamentos (ELEMENTOS..., 1999). As marcas que mantinham a concha em água corrente não apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, indicando mais uma vez, a importância desse procedimento.

4.2. Análises do sorvete

A diferença entre as contagens médias de bactérias mesófilas realizadas nos sorvetes não foram significativas entre os 2 sabores coletados ou para as diferentes marcas ($p > 0,05$). Apesar da diferença não ser significativa, 2 amostras do sabor morango das marcas A e F e 1 amostra do sabor coco (marca D), apresentaram contagens médias dentro do padrão máximo estabelecido pelo Ministério da Saúde, que é $2,0 \times 10^5$ UFC/g, sendo que, quando o padrão foi comparado às médias dos dois sabores, foi observado que nenhuma marca estava dentro dos padrões (Tabela 3).

A contaminação cruzada (sorvete x utensílios) pode ser um dos fatores que influenciaram na contagem dos microrganismos, pois foi observado que os as contagens das conchas utilizadas para servir o sorvete também apresentaram altas contagens de bactérias mesófilas.

Apesar das contagens médias de bactérias mesófilas estarem acima dos padrões preconizados pela legislação em todas as marcas, observando as médias para sabor de cada marca, 2 (3,33%) marcas A e F produtoras de sabor morango e 1 (1,66%) marca D, produtora do sabor coco apresentaram contagens dentro dos padrões estabelecidos. PINTO *et al.*, (2000) analisando resultados de 6 amostras de sorvete artesanais que

utilizavam leite em sua formulação, comercializados em Araçatuba-SP, encontrou resultados inferiores aos obtidos no presente trabalho, com 33% das amostras acima dos padrões permitidos. HOFFMANN *et al.*, (2000) analisando 12 amostras de sorvetes de uma microindústria da cidade de São José do Rio Preto-SP encontrou 75% das amostras, com contagens acima de $2,0 \times 10^5$ UFC/g, semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho.

Tabela 3. Contagens médias de bactérias mesófilas em 6 marcas diferentes de sorvetes comercializadas no sistema self-service em Uberlândia – MG.

Marcas	Contagem de mesófilas (UFC/g)		
	Morango*	Coco*	Média**
A	$1,8 \times 10^4$ a	$3,1 \times 10^6$ a	$1,5 \times 10^6$ a
B	$4,1 \times 10^5$ a	$8,8 \times 10^5$ a	$6,5 \times 10^5$ a
C	$5,2 \times 10^5$ a	$3,3 \times 10^5$ a	$4,3 \times 10^5$ a
D	$2,5 \times 10^7$ a	$5,7 \times 10^4$ a	$1,2 \times 10^7$ a
E	$5,2 \times 10^5$ a	$6,6 \times 10^5$ a	$5,9 \times 10^5$ a
F	$1,6 \times 10^5$ a	$2,8 \times 10^5$ a	$2,2 \times 10^5$ a

* média de 5 amostras

** média de 10 amostras

(a,b) médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, são diferentes ($p < 0,05$)

As contagens médias de coliformes totais de todas as marcas estavam dentro do padrão do Ministério da Saúde, que é de no máximo 10^2 UFC/g. As diferenças entre as contagens médias não foram significativas para sabor ($p > 0,05$), mas foram para as marcas analisadas ($p < 0,05$). Os resultados médios de coliformes totais obtidos para cada marca estão contidos na Tabela 4.

Apesar das contagens médias em todas as marcas dos 2 sabores apresentarem contagens menores que 10^2 UFC/g, as contagens individuais mostraram que 40% das amostras sabor coco e 50% das amostras de sabor morango apresentaram contagens superiores às permitidas (dados não mostrados), as frequências destas amostras podem ser observadas na Figura 2. Mesmo as médias estando dentro dos padrões, a alta frequência de amostras individuais acima dos padrão estabelecido para coliformes

totais, indicam contaminação pós processamento, limpeza e sanificação inadequada, ou uma combinação destes fatores, (NÓBREGA, 1991).

Tabela 4. Contagens médias de coliformes em 6 marcas diferentes de sorvetes comercializadas no sistema self-service em Uberlândia - MG.

Marcas	Contagem de coliformes (NMP/g)		
	Morango*	Coco*	Média**
A	$9,8 \times 10^0$ A	$2,4 \times 10^1$ A	$1,7 \times 10^1$ c
B	$8,9 \times 10^1$ A	$9,3 \times 10^1$ A	$9,1 \times 10^1$ a
C	$8,8 \times 10^1$ A	$5,9 \times 10^1$ A	$7,4 \times 10^1$ ab
D	$2,7 \times 10^1$ A	$1,5 \times 10^1$ A	$2,1 \times 10^1$ bc
E	$6,9 \times 10^1$ A	$8,8 \times 10^1$ A	$7,9 \times 10^1$ ab
F	$7,7 \times 10^1$ A	$4,3 \times 10^1$ A	$6,0 \times 10^1$ abc

* média de 5 amostras

** média de 10 amostras

(a,b) médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, são diferentes ($p < 0,05$)

(A,B) médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes ($p < 0,05$)

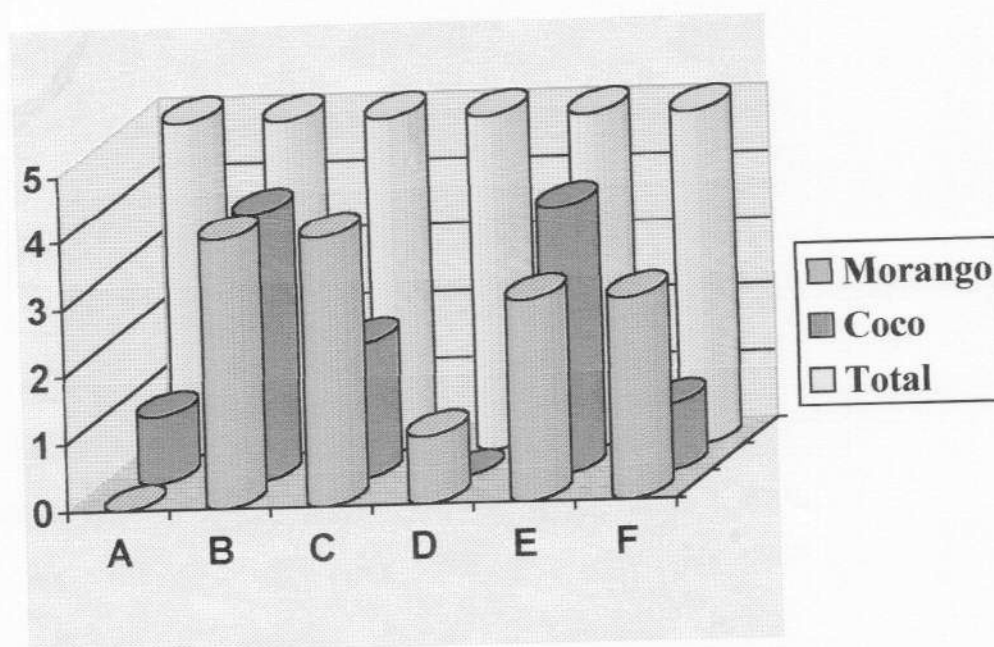


Figura 2. Frequência das contagens de coliformes totais acima do padrão permitido pela legislação, nas diferentes marcas, para os sabores coco e morango, em um total de 5 amostras coletadas de cada sabor.

Segundo NOBREGA (1991), o grupo de coliformes fecais fornece informações seguras sobre as condições sanitárias e eventual ocorrência de enteropatógenos. Embora não exista padrão para coliformes fecais, durante o experimento foi constatada sua presença em 53,3% das amostras de sorvete morango e 73,3% dos de coco, sendo que os resultados individuais de cada coleta podem ser observados na Tabela 5. As diferenças entre as contagens foram significativas para sabor ($p < 0,05$), mas não significativas para as diferentes marcas analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 5. Contagens individuais de coliformes fecais (NMP/mL) em 6 marcas diferentes de sorvetes comercializadas no sistema self-service em Uberlândia-MG.

Marca/ Sabor	Repetições									
	1 ^a		2 ^a		3 ^a		4 ^a		5 ^a	
	mor	coco	mor	Coco	mor	coco	mor	coco	mor	coco
A	0,3	3,5	0,0	4,3	2,3	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0
B	>110	0,73	4,4	110	9,3	>110	0,3	110	0,0	0,0
C	>110	5,3	0,0	12,0	>110	>110	9,3	2,1	0,0	0,0
D	0,36	0,0	2,9	9,3	24,0	9,3	0,91	0,3	0,0	0,0
E	1,6	0,3	2,9	110,0	1,9	>110	0,0	>110	0,0	>110
F	15,0	12,0	2,4	15,0	15,0	9,3	0,3	0,0	0,0	0,0

A presença de coliformes fecais em alimentos indicam processamento inadequado ou recontaminação pós-processamento, sendo provenientes de matéria-prima, higiene pessoal precária, bem como desinfecção dos equipamentos e utensílios deficientes (PELCZAR *et al.*, 1996). Quanto maior a contagem mais exposto à condições inadequadas de processamento e/ou armazenamento que favoreçam sua multiplicação (HOFFAMANN *et al.*, 2000 ; PINTO *et al.*, 2000).

As diferenças nas contagens médias de *Staphylococcus* coagulase positiva não foram significativas para os diferentes sabores ou marcas coletadas ($p > 0,05$). Segundo os padrões do Ministério da Saúde a contagem no sorvete deve ser de no máximo 10^3 UFC/g (BRASIL, 1997). Das 60 amostras de sorvetes analisadas (100%), somente 7

(11,7%) apresentaram contagem para este microrganismo, sendo que 3 (5%) apresentaram resultados acima dos padrões permitidos, com contagens de $5,3 \times 10^3$ UFC/g e $1,8 \times 10^4$ UFC/g no sorvete sabor morango, das marcas B e C, respectivamente, sendo que no sorvete sabor coco, somente uma amostra apresentou contagem inadequada, que foi de $2,0 \times 10^3$, observada na marca D.

De maneira geral, foi observado que todas as marcas analisadas se apresentaram em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, apresentando contagem superior à permitida, em pelo menos uma das repetições realizadas (Tabela 6).

Tabela 6. Frequências de amostras de sorvete sabor morango e coco, coletadas em self-service da cidade de Uberlândia, que apresentaram resultados acima dos padrões recomendados pela DINAL/MS*.

MARCAS	MORANGO					COCO				
	Mesófilas	%	Coliformes	%	<i>Staphylococcus</i> Coagulase +	Mesófilas	%	Coliformes	%	<i>Staphylococcus</i> Coagulase +
	Totais					Totais				
A	0	0	0	0	0	2	2,7	1	3,3	0
B	2	6,7	4	13,3	1	5	16,7	4	13,3	0
C	1	3,3	4	13,3	1	1	3,3	2	6,7	0
D	2	6,7	1	3,3	0	0	0	0	0	1
E	3	10,0	3	10,0	0	5	16,7	4	13,3	0
F	1	3,3	3	10,0	0	2	6,7	1	3,3	0

* Padrão da DINAL/MS para gelados comestíveis:
 - Contagem Padrão em placas (máximo): $2 \times 10^5/g$
 - *S. aureus*: UFC ou NMP (máximo): $10^3/g$
 - Coliformes Totais: NMP (máximo): $10^2/g$

5. CONCLUSÃO

As análises microbiológicas de amostras de sorvete de morango e coco e de “swabs” das colheres utilizadas para servir, em sistema self-service, na cidade de Uberlândia-MG, permitem concluir:

- Todas as amostras analisadas se apresentaram em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, com contagem superior à permitida, em pelo menos uma das análises realizadas.
- As médias das contagens realizadas nos “swabs” apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para bactérias mesófilas, coliformes totais e coliformes fecais nas diferentes marcas estudadas, porém, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) quando foram comparadas as médias dos sabores morango e coco.
- A presença de *Staphylococcus* coagulase positivo somente foi detectada na concha utilizada nos sorvetes de morango com médias de $4,0 \times 10^2$, $8,0 \times 10^1$, $7,6 \times 10^2$ e $1,6 \times 10^3$ UFC/g nas marcas B, C, D e E, respectivamente. No sorvete do mesmo sabor, nas marcas B, C e D, as contagens deste microrganismo estavam acima da permitida em 3 amostras, com valores de $1,1 \times 10^3$, $3,7 \times 10^3$, $1,4 \times 10^3$ UFC/g.
- Coliformes fecais estavam presentes em 53,3% e 73,3% das amostras de sorvetes dos sabores morango e coco, respectivamente. As médias obtidas para coliformes totais estavam dentro do padrão exigido pela legislação vigente.