

1 **Avaliação de indicadores de contaminação**
2 **bacteriológica em sorvetes expressos comercializados**
3 **no município de Caruaru-PE.**

4 **Evaluation of microbiological contamination indicators**
5 **in ice creams commercialized in the town of Caruaru-PE.**

6

7 **Contaminação bacteriológica em sorvetes expressos.**

8 **Microbiological contamination in ice creams.**

9

10 *Evelinne Espíndola Silva¹, Flávia Gabriela de Figueiredo Silva², Nathalia*
11 *Gonçalves de Queiroz³, Agenor Tavares Jácome Júnior^{4*}.*

12 *¹ Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru-PE, Brasil,*
13 *evelinne_espindola96@hotmail.com.*

14 *² Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru-PE, Brasil,*
15 *flaviagaby96@hotmail.com.*

16 *³ Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru-PE, Brasil,*
17 *nathaliag.queiroz@outlook.com.*

18 *^{4*} Centro Universitário Tabosa de Almeida, Av. Portugal, 584, Bairro*
19 *Universitário, Caruaru-PE, Brasil, 081 2103.2000, agenorjacome@asc.es.edu.br.*

20

21 **Resumo**

22 O sorvete é um produto alimentício bastante consumido, principalmente em
23 regiões de clima quente. Quando acrescido de leite constitui um ótimo substrato
24 para o crescimento de microrganismos, principalmente quando são manipulados
25 e armazenados de forma inadequada. A qualidade microbiológica pode ser
26 estabelecida utilizando como parâmetros os microrganismos indicadores de
27 contaminação. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi identificar a presença
28 de Coliformes totais, termotolerantes, bactérias heterotróficas e *Pseudomonas*
29 *aeruginosa* em sorvetes expressos da cidade de Caruaru- PE. As amostras
30 coletadas seguiram os critérios de amostragem de acordo com o Codex

31 Alimentarius. Os resultados mostraram a presença de *Pseudomonas aeruginosa*
32 e bactérias heterotróficas em 100% das amostras e 46,67% apresentaram-se
33 contaminadas por bactéria do grupo coliforme. Este trabalho mostrou a
34 importância de se implantar como padrão microbiológico de alimentos a
35 pesquisa de *P. aeruginosa* e *bactérias heterotróficas*, visando à melhoria da
36 qualidade microbiológica desses produtos, uma vez que a RDC nº 12 de Janeiro
37 de 2001 não reprovava os alimentos contendo estas espécies bacterianas. Tal
38 medida é de extrema importância não só pelo fato da *Pseudomonas aeruginosa*
39 ser considerada como agente patogênico oportunista, mas também a sua
40 presença é indicativa da contaminação por material orgânico.

41

42 **Abstract**

43 Ice cream is a widely consumed food product, especially in hot weather regions.
44 When added to milk, it constitutes a good substrate for microorganisms growth,
45 especially if it is manipulated and stored wrongly. The microbiological quality can
46 be established using the contaminating microorganisms as parameters. Thus, the
47 objective of this project was to identify the presence of total coliforms,
48 thermotolerants, heterotrophic bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* in the ice
49 creams found in the town of Caruaru-PE. The collected samples followed the
50 sampling standards according to the Codex Alimentarius. The results have
51 shown the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and heterotrophic bacteria in
52 100% of the samples and 46,67% have shown contamination by bacteria from
53 coliform group. This project has shown the importance of implanting the search
54 of *P. aeruginosa* and heterotrophic bacteria as a microbiological standard of
55 food, aiming at the improvement of the microbiological quality of these products,
56 once the RDC number 12 of January of 2001 doesn't disapprove food that
57 contains these bacteria species. Such act is extremely important, not only by the
58 fact that the *Pseudomonas aeruginosa* is considered as an opportunist
59 pathogenic agent, but also because its presence indicates contamination by
60 organic material.

61 **Palavras-chave**

62 Contaminação, Gelados comestíveis, Microbiológica, *Pseudomonas aeruginosa*.

63 **Keywords**

64 Contamination, Frozen eatables, Microbiological, *Pseudomonas aeruginosa*.

65

66 **Introdução**

67 O sorvete é um produto alimentício classificado como gelado comestível,
68 segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária¹, estes são definidos como
69 produtos obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, ou ainda
70 como uma mistura de água, açúcares, com ou sem adição de outros ingredientes
71 e substâncias de sabor agradável e refrescante, sendo um produto bastante
72 consumido, principalmente em regiões de clima quente. Pelo seu alto valor
73 nutritivo, o sorvete quando acrescido de leite constitui um ótimo substrato para o
74 crescimento de microrganismos, principalmente quando são manipulados e
75 armazenados de forma inadequada. Os sorvetes são produtos relativamente
76 seguros, devido ao processo de pasteurização, porém a contaminação depois
77 deste processo não está isenta^{1, 2, 3}.

78 Os ingredientes utilizados na fabricação dos sorvetes podem estar
79 intimamente relacionados com os microrganismos encontrados, sendo os quais:
80 gorduras, óleos, leite e seus derivados, algumas proteínas, água potável,
81 açúcares, ovos e seus derivados, frutas, mel, cacau, nozes entre outros. Além
82 dos ingredientes do sorvete, a contaminação por microrganismos patogênicos
83 pode estar vinculada a má pasteurização, contaminação durante a produção,
84 armazenamento inadequado, distribuição e falta de higiene em máquinas e
85 utensílios².

86 A capacidade de sobrevivência dos microrganismos que estão presentes
87 em um alimento, depende de diversos fatores aos quais precisam ser
88 controlados para que o produto final apresente suas características desejáveis e
89 padrões de qualidades de acordo com a legislação⁴.

90 Grande parte dos consumidores não imagina que o sorvete possa
91 apresentar riscos de natureza microbiológica, pois acreditam que a baixa
92 temperatura garante a sua segurança. Entretanto, o congelamento do produto
93 não inibe a presença de microrganismos patogênicos resistentes a baixas
94 temperaturas, chamados de psicotróficos, e que podem ser ingeridos pelos
95 consumidores. Vários grupos de microrganismos possuem a capacidade de
96 crescer no sorvete, devido às condições ideais encontradas. Em consequência

97 disso, é essencial o alerta para qualquer tipo de risco que esteja relacionado ao
98 consumo deste alimento^{5, 6, 7}.

99 A qualidade microbiológica pode ser estabelecida utilizando-se como
100 parâmetros microrganismos indicadores de contaminação. Apesar desses
101 microrganismos não apresentarem potencial patogênico para humanos, eles e
102 seus produtos metabólicos são utilizados para avaliar a qualidade microbiológica
103 e a sanidade do produto. A sua presença sugere a ocorrência de contaminação
104 microbiana com possível presença de patógenos ou deteriorantes potenciais do
105 alimento, indicando condições sanitárias inadequadas de manipulação,
106 processamento, produção ou armazenamento⁸.

107 Dessa forma, diante da necessidade de se verificar se os produtos estão
108 de acordo com os padrões microbiológicos exigidos pela legislação nacional
109 vigente, tendo em vista que a presença de microrganismos nesses produtos
110 pode acarretar risco à saúde, o trabalho visa identificar e quantificar a presença
111 de Coliformes totais, termotolerantes, bactérias heterotróficas e *Pseudomonas*
112 *aeruginosa* em sorvetes expressos da cidade de Caruaru- PE.

113

114 **Métodos**

115 Trata-se de um estudo laboratorial (experimental) realizado no comércio
116 do Município de Caruaru-PE. Foram utilizados sorvetes expressos nos sabores
117 de baunilha e chocolate, sendo excluídos sorvetes que se apresentaram
118 derretidos desde o ato da compra. A presente pesquisa foi realizada no período
119 de Julho a Setembro de 2017, e os locais selecionados foram onde há um maior
120 consumo desses produtos, especificamente no Shopping Difusora, Caruaru
121 Shopping e no centro da cidade, foram coletadas cinco amostras de cada local
122 e a quantidade de amostras foi estabelecida por conveniência.

123 As amostras foram coletadas e seguiram os critérios de amostragem de
124 acordo com o Codex Alimentarius⁹, sendo devidamente identificadas em um
125 saco plástico estéril de 100 mL de coleta, sendo lacradas e acondicionadas em
126 caixas de material isotérmico contendo gelo reciclável e transportadas ao
127 laboratório para análise imediata, onde foram deixadas em repouso, à
128 temperatura ambiente, até liquefazerem, para depois serem homogeneizadas e
129 analisadas (amostra de laboratório).

130 Para identificação de *Coliformes totais* foi utilizada a técnica dos tubos
131 múltiplos como recomendado pelo Standard Methods for the Examination of
132 Water and Wastewater¹⁰. Esta metodologia permite a quantificação por “Número
133 Mais Provável” (NMP) de microrganismos sendo dividida em duas fases
134 consecutivas, uma presuntiva e outra confirmativa, sendo utilizado o meio de
135 cultura Caldo Lactosado (CL) como etapa presuntiva para detecção de
136 fermentadores de lactose e o Caldo Lactosado Verde Brilhante Bile de Boi a 2%
137 para confirmação da presença de coliformes totais¹⁰.

138 Para a identificação dos *Coliformes termotolerantes* foi realizado o
139 repique dos tubos confirmatórios positivos para tubos preparados da mesma
140 forma que o anterior, porém com o meio EC, sendo incubado a 44,5(+0,5) °C
141 durante 24 a 48 horas e posterior identificação dos que tiveram crescimento
142 (positivo) para *Coliformes termotolerantes*, identificado pela ocorrência de
143 produção de gás nos tubos de Durhan¹⁰.

144 O método utilizado para pesquisa de *Pseudomonas sp* também foi a
145 técnica de tubos múltiplos¹⁰, sendo que o meio de cultura utilizado foi o caldo
146 Asparagina na etapa presuntiva e Acetamida na etapa confirmatória.

147 De acordo com o número de tubos positivos em cada uma das diluições
148 e das fases utilizadas, determina-se o número mais provável (NMP), tendo como
149 base tabelas estatísticas de Hoskins.

150 As condições de cultivo para pesquisa de *Bactérias heterotróficas* foram
151 a partir da técnica pour plate, onde foi realizada a determinação do número de
152 colônias em placas a partir do meio Plate Count Agar (PCA) em duas séries de
153 três placas, com incubação de 35°C por 18 horas. A leitura foi realizada no
154 contador de colônias¹⁰.

155

156 **Resultados e Discussão**

157 Os resultados aqui observados demonstraram que 46,67% das amostras
158 de sorvetes expressos comercializadas na cidade de Caruaru-PE, analisadas
159 nessa pesquisa, revelaram a presença de Coliformes totais (CT). Quanto a
160 presença de Coliformes termotolerantes (CTo) nenhuma amostra apresentou
161 resultado positivo. A presença de *Pseudomonas aeruginosa* e Bactérias

162 heterotróficas sobrepuseram a do grupo coliforme, onde 100% das amostras
163 apresentaram crescimento.

164 Na Tabela 1 estão distribuídos os resultados relativos às determinações
165 dos NMP (Número Mais Provável) de coliformes totais, termotolerantes e
166 *Pseudomonas aeruginosa* por 100 ml de sorvete e Bactérias heterotróficas por
167 UFC mL⁻¹.

168

169 **Tabela 1.** Resultado da análise do Número Mais Provável (NMP) de coliformes
170 totais, *Pseudomonas aeruginosa*, e contagem de bactérias heterotróficas (UFC
171 ml⁻¹ x 10³) em amostras de sorvete expresso.

| Amostras | Coliformes Totais | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Bactérias Heterotróficas |
|----------|-------------------|-------------------------------|---------------------------|
| 1 | <2NMP/100ml | 170NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 2 | <2NMP/100ml | 1600NMP/100ml | 290UFC 10 ⁻¹ |
| 3 | <2NMP/100ml | ≥1600NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 4 | <2NMP/100ml | 130NMP/100ml | 123UFC 10 ⁻¹ |
| 5 | <2NMP/100ml | 300NMP/100ml | 126UFC 10 ⁻¹ |
| 6 | 2NMP/100ml | 17NMP/100ml | 836UFC 10 ⁻¹ |
| 7 | 900NMP/100ml | ≥1600NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 8 | 2NMP/100ml | 17NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 9 | <2NMP/100ml | 170NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 10 | <2NMP/100ml | 350NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 11 | 170NMP/100ml | 170NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 12 | ≥1600NMP/100ml | 26NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 13 | 4NMP/100ml | 170NMP/100ml | * |
| 14 | <2NMP/100ml | 170NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |
| 15 | ≥1600NMP/100ml | 350NMP/100ml | >5000UFC 10 ⁻¹ |

172 ***Nota:** Não foi possível quantificar a presença de bactérias heterotróficas na
173 amostra M, devido à presença de inúmeras colônias fúngicas não identificadas.

174 A contagem de coliformes totais revelou um NMP altamente elevado nas
175 amostras 7, 11 e 14 (de 900 a ≥ 1600). Apesar da legislação brasileira não

176 possuir um parâmetro para coliformes totais em sorvetes, o monitoramento
177 desses microrganismos faz-se necessário, tendo em vista que são deteriorantes
178 potenciais pertencendo ao grupo dos bioindicadores de higiene dos alimentos¹¹.

179 No presente trabalho, dados referentes a coliformes termotolerantes não
180 são apresentados, pois a sua presença não foi constatada em nenhuma amostra,
181 não sendo assim um fator de risco à saúde do consumidor de acordo com a
182 legislação regente. A não detecção do grupo coliforme termotolerantes não
183 significa a ausência de outros indicadores bacterianos de contaminação ou
184 bactérias patogênicas, fato este comprovado pela presença de *P. aeruginosa*
185 nessas amostras.

186 Na falta de uma legislação que também estabeleça limites à presença de
187 *Pseudomonas aeruginosa* nesse tipo de amostra, o estudo considerou os
188 sorvetes expressos como sendo impróprios para o consumo, devido às altas
189 concentrações deste microrganismo, pois, além de se tratar de um patógeno
190 oportunista, a sua presença é indicativa da contaminação por material orgânico,
191 que pode ser potencial fonte de infecção por agentes patogênicos¹².

192 Embora a maioria das bactérias heterotróficas não sejam consideradas
193 patogênicas, é importante que sua densidade seja mantida sob controle, pois
194 densidades muito elevadas desses microrganismos podem causar películas ou
195 precipitados, podendo dar origem ao aparecimento de odores e sabores
196 desagradáveis.

197 Os altos índices de *P. aeruginosa* em junção com as bactérias
198 heterotróficas, podem ser explicados pela influência de alguns fatores que
199 puderam ser observados durante a coleta das amostras, como manuseio,
200 armazenamento e distribuição inadequados, além disso, supõe-se que outros
201 fatores, como matéria-prima já contaminada, má pasteurização, reutilização das
202 máquinas e utensílios sem que seja submetido a etapas de desinfecções e
203 higienização de acordo com as normas exigidas pela RDC nº 267/2003, também
204 podem estar relacionados.

205

206 **Conclusões**

207 Dados presentes nesse estudo demonstram a necessidade de se
208 implantar como padrão microbiológico de alimentos a pesquisa de *P. aeruginosa*

209 e *bactérias heterotróficas*, uma vez que a Resolução- RDC nº 12 de Janeiro de
210 2001 não reprova os alimentos contendo estas espécies bacterianas. Além
211 disso, tem-se a necessidade de vigorar as Boas Práticas de Fabricação impostas
212 pelas ANVISA na RDC nº 267/2003; onde dispõe sobre o Regulamento Técnico
213 de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de
214 Gelados Comestíveis, visando à melhoria da qualidade microbiológica de seus
215 produtos.

216 **Agradecimentos**

217 Agradecemos ao Laboratório Biotech pelo apoio e incentivo.

218

219 **Referências**

- 220 1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Portaria n.
221 379, de 26 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico referente a
222 gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para
223 gelados comestíveis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil,
224 Brasília, 29 abr.1999 (a).
225
- 226 2. DIOGO, Graciane T. et al. Avaliação microbiológica de sorvetes
227 comercializados na cidade de Ponta Grossa - PR e da água usada na
228 limpeza das colheres utilizadas para servi-los. Biological And Health
229 Sciences, Ponta Grossa, v. 8, n. 1, p.23-32, 09 set. 2002. Disponível em:
230 <[http://www.revistas2.uepg.br/index.php/biologica/article/viewFile/272/27](http://www.revistas2.uepg.br/index.php/biologica/article/viewFile/272/277)
231 7>. Acesso em: 21 out. 2016.
232
- 233 3. OLIVEIRA, Elizeu Toledo et al. Avaliação Microbiológica de Sorvetes
234 Comercializados nos Principais Supermercados de Maceió-AL. In: VII
235 CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. 2012.
236
- 237 4. SANTOS, Mary Helen Ribeiro dos; CASTRO, Larissa Aparecida de;
238 BITTENCOURT, Juliana Vitória Messias. Avaliação da qualidade
239 microbiológica em gelados comestíveis comercializados na região dos

- 240 Campos Gerais – PR. In: 8º Encontro De Engenharia E Tecnologia Dos
241 Campos Gerais, 8., 2013, Campos Gerais. Artigo original. Campos.
242
- 243 5. NÖRNBERG, M. F. B. L; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias
244 psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. Acta Sci. Vet.
245 2009; 37(2):157-63.v.
246
- 247 6. PARUSSOLO, G et al. Avaliação microbiológica de sorvetes
248 comercializados no município de Frederico Westphalen. In: Anais do 12º
249 Congresso Latinoamericano de Microbiologia e Higiene de Alimentos -
250 MICROAL 2014. BlucherFood Science Proceedings2014;1(1). São Paulo:
251 Blucher; 2014. 2 p.
252
- 253 7. SOUZA, Josiane Miranda de et al. Análise microbiológica dos sorvetes
254 self service sabor chocolate da cidade de sinop-mt. Demetra, [s.l.], v. 10,
255 n. 4, p.857-866, 17 dez. 2015. Universidade de Estado do Rio de Janeiro.
256 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.12957/demetra.2015.17328>>.
257 Acesso em: 23 de out. de 2016.
258
- 259 8. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL
260 SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. Microorganismos de los
261 Alimentos 1 - Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acríbia,
262 1982. 431p.
263
- 264 9. JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
265 712 p.
266
- 267 10. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; American Water
268 Works Associaton - AWWA; Water Environment Association - WEF.
269 Standard methods for the examination of water & wastewater. 21st
270 edition. Washington, 2012; 49(12), p49-49- 6910.
271
- 272 11. SREBERNICH, S. M. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético
273 como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde

274 minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.
275 4, p. 744-750, 2007.

276

277 12. ALMEIDA, V. F. S.; OLIVEIRA, S. R.; JÁCOME, P. R. L. A.; JÁCOME-
278 JÚNIOR, A. T. Avaliação de indicadores higiênico-sanitários e das
279 características físico-químicas em águas utilizadas em escolas públicas
280 de nível fundamental. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 3, p.
281 334-40, 2009.