Pesquisa de micro-organismos indicadores de condições higienicossanitárias, no processamento e comercialização de gelados comestíveis.

Jaqueline Fronza Walker
Ana Flávia Santos Coelho ✉
Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins. Palmas- TO.

✉ anaflavia@uft.edu.br

RESUMO

Na cidade de Palmas-TO existe número considerável de pequenas indústrias de gelados comestíveis, porém não há dados que comprovem boas condições higienicossanitárias, que devem ser adotadas durante o processamento desses alimentos. Neste contexto, objetivou-se avaliar as condições higienicossanitárias do processamento de gelados comestíveis de uma indústria de pequeno porte. Foram realizadas análises para pesquisa de coliformes, contagem de Estafilococos coagulase-positiva e pesquisa de *Salmonella* sp. na água, mãos dos manipuladores, polpa de frutas, sorvete\picolé, equipamentos e carrinhos transportadores de sorvetes e picolés. A análise das mãos dos manipuladores não apresentou contaminação fecal e a pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva indicou ausência de patógeno. Tanto para água quanto para polpa de frutas, sorvetes e picolés, as amostras estavam dentro do padrão federal. Na análise dos equipamentos houve maior contagem de coliformes totais para o equipamento cinco (pote de sorvete de 5L). A variação quanto à contaminação por coliformes em 4 das 17 amostras dos carrinhos de picolé e sorvete pode ser reflexo da má higienização feita pelos ambulantes. Em todas as análises realizadas houve, relativamente, baixa contagem de micro-organismos, devendo-se atentar à higiene das mãos dos manipuladores, bem como dos carrinhos transportadores de picolés e sorvetes.

Palavras-chave: Contaminação. Higiene. Doenças transmitidas por alimentos. Sorvete.

ABSTRACT

In the city of Palmas - TO there is considerable number of small iced-food industries, but there is no data to show good hygienic-sanitary conditions that must be followed during the food processing. In this context, the objective was to evaluate the iced-food hygienic-sanitary processing conditions at a small industry. We performed tests for coliform count, coagulase-positive Staphylococci and Salmonella sp. in water, food handlers, fruit pulp, ice cream / popsicle, equipment and trolleys of ice cream and popsicles. The hands analysis of food handlers showed no fecal contamination and the research of coagulase-positive Staphylococci showed no pathogen. So much for water as for fruit pulp, ice cream and popsicles, the samples are within the federal pattern. In the analysis of the equipment there were higher counts of total coliforms for the equipment five (5L pot for packing ice cream). The variation in a coliform contamination in 4 out of 17 samples of ice cream and popsicle carts may be a reflection of miscarried hygiene made by street sellers. In all data analysis there were relatively low number of microorganisms, and attention to hand hygiene of food handlers, as well as trolleys popsicles and ice cream must be taken seriously.

Keywords: Contamination. Hygiene. Foodborne illness. Ice cream.

INTRODUÇÃO

O sorvete e o picolé são produtos alimentícios classificados como gelados comestíveis. Geralmente são obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes, desde que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições que garantam a conservação do produto tanto no estado congelado como parcialmente congelado, isto durante as etapas de armazenamento, transporte, comercialização e entrega do produto (BRASIL, 2003).

A capital do Tocantins, Palmas, é caracterizada por altas temperaturas, sendo esse um dos motivos para o grande consumo de sorvetes e picolés. Na cidade existe número considerável de pequenas indústrias de gelados comestíveis, porém dados que comprovem boas condições higienicossanitárias, que devem ser adotadas durante o processamento desses alimentos, são escassos.

O manipulador, a água utilizada, não somente no processamento, mas também na lavagem de equipamentos e utensílios, a matéria-prima e os equipamentos, desempenham papel importante quanto à contaminação microbiológica no processamento dos alimentos.

Analisar alimentos quanto à presença de micro-organismos deteriorantes ou patógenos e toxinas é uma importante prática na microbiologia de alimentos. Desta forma, é possível conhecer as condições de higiene em que o alimento foi preparado, os riscos que o alimento pode oferecer à saúde do consumidor e se o alimento terá ou não a vida útil pretendida (JAY, 2005; FORSYTHE, 2007).

Um alimento seguro é aquele que não oferece riscos à saúde do consumidor. Sabendo que um alimento é passível de contaminações diversas, é necessário um acompanhamento no seu processamento para que seja garantida a saúde dos consumidores (CLEMENTE, 1999 apud FERREIRA et al., 2008). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença de micro-organismos do grupo coliformes, Estafilococos coagulase positiva e *Samonella* sp no processamento e comercialização de gelados comestíveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 5 amostras de água e 3 amostras para cada sabor de polpa de fruta (cajá e murici). A análise dos picolés e sorvetes também foi feita em 3 repetições, sendo 3 amostras para cada sabor de picolé cremoso (açaí e cupuaçu), picolé com polpa de fruta (cajá e murici) e sorvete (lakta e flocos), sendo estes os mais comercializados. Também foram coletadas amostras de uma das mãos dos 5 manipuladores, amostras dos 6 equipamentos utilizados no processamento dos gelados comestíveis e amostras dos 17 carrinhos transportadores de picolés e sorvetes.

As amostras foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins em caixas isotérmicas, para posterior análise microbiológica. Foram realizadas as análises exigidas pela Resolução – RDC n° 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) para pesquisa de coliformes, contagem de Estafilococos coagulase-positiva e pesquisa de *Salmonella* sp para cada item analisado.

Pesquisa de micro-organismos do grupo coliformes e pesquisa de *Escherichia coli*

Foi realizada por meio da técnica dos tubos múltiplos de acordo com metodologia descrita em Silva, Junqueira e Silveira (2001). Foram analisadas por meio dessa técnica as amostras de água, mãos dos manipuladores, polpas de fruta, picolés e sorvetes, equipamentos e carrinhos transportadores de picolés e sorvetes.

Para pesquisa de *Escherichia coli* foi tomada, de todos os tubos com caldo EC positivos, uma alçada para ser estriada em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno

(EMB). As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas e observadas quanto ao desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*. A partir das colônias típicas, foi transferida de cada placa uma colônia para tubos contendo Ágar Nutriente inclinado e os tubos foram incubados a 35°C/24 horas. A partir das culturas puras em Ágar Nutriente foram feitas coloração Gram e realizadas as provas bioquímicas de indol, citrato, vermelho de metila (VM) e Voges-Proskauer (VP).

Pesquisa de *Salmonella sp.*

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada por meio da técnica que preconiza as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento em Caldo Tetrationato (TT) e Caldo Selenito Cistina (SC) e plaqueamento em Ágar Entérico Hecktoen (HE), Agar Bismuto Sulfito (BS) e Agar Xilose Lisina Desoxiciolato (XLD) de acordo com metodologia descrita em Silva, Junqueira e Silveira (2001), sendo analisadas para esse micro-organismo as amostras das polpas de fruta, picolés e sorvetes e equipamentos.

A confirmação das colônias típicas foi realizada por meio de provas bioquímicas: indol, citrato, vermelho de metila (VM), Voges-Proskauer (VP), fenilalanina e lisina descarboxilase.

Pesquisa de Estafilococos coagulase positiva

Para a pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva nas amostras de picolés e sorvetes, mãos dos manipuladores e equipamentos foi realizado o plaqueamento das diluições decimais preparadas a partir da solução inicial do *swab* imerso em 10mL do mesmo diluente, de onde foi retirado 0,1mL para inoculação em placas contendo Ágar Baird-Parker. Posteriormente, as placas foram incubadas invertidas a 35°C durante 48 horas.

Após este período, foi realizada a contagem de colônias presuntivas típicas de Estafilococos coagulase positiva. A confirmação das colônias típicas foi realizada por meio dos testes de coagulase e catalase. O cálculo dos resultados foi realizado em função do número de colônias típicas e diluição inoculada, expresso em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro da amostra (UFC/mL) conforme descrito em Silva, Junqueira e Silveira (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de coliformes totais variou de 4 a >2400 NMP/mão e para coliformes termotolerantes os resultados foram <3 NMP/mão para todos os manipuladores, não sendo necessária a pesquisa de *Escherichia coli*. O estudo para Estafilococos coagulase-positiva indicou ausência desse micro-organismo (Tabela 1).

Almeida et. al. (1995), em análise para controle da qualidade microbiológica das mãos dos manipuladores de uma cozinha da Universidade Estadual de Campinas-SP, constataram presença de *S. aureus* nas análises realizadas. Os mesmos ainda ressaltaram a importância epidemiológica desse fato, devido à possibilidade de transferência desses micro-organismos patógenos ao alimento.

De acordo com Siqueira (1995), o índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens podem significar limpeza e sanificação deficiente. A ausência de *E. coli* indica que as mãos dos manipuladores não apresentaram contaminação fecal e a pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva indicou ausência de patógeno.

Em todas as amostras de água analisadas os resultados encontrados ficaram abaixo de 1,1NMP/100 mL para coliformes totais. Sendo ainda verificada a ausência de coliformes termotolerantes e também de *Escherichia coli*. Desta maneira, verifica-se que as amostras estavam dentro do padrão federal.

A qualidade da água utilizada na indústria processadora de gelados comestíveis é de extrema importância, uma vez que a mesma é utilizada em grande parte do processamento. Alves, Goulart e Odorizzi (2002), analisando a água potável de abastecimento do município de Marília-SP, constataram que as amostras analisadas estavam dentro da legislação, mesmo tendo encontrado contaminação por coliformes totais. Melo e Picinin (2010), analisaram a água utilizada em cinco estabelecimentos industrializadores de alimentos, onde 100% foram aprovados em relação aos parâmetros microbiológicos. Segundo os autores, esses bons resultados se devem, provavelmente, ao uso do cloro como desinfetante, apesar de haver estabelecimentos (40%) que não fazem nenhum tratamento.

Pela análise dos dois sabores de polpas de fruta (cajá e murici), foi encontrado valor de <3 NMP/g para pesquisa de coliformes totais e termotolerantes, estando dentro da legislação que preconiza até 10^2 NMP/g, bem como ausência em relação à *Escherichia coli.* Santos, Coelho e Carreiro (2008), também não detectaram coliformes em análise realizada com oito sabores diferentes de polpa de fruta.

Houve ausência de *Salmonella* sp para as 6 amostras de polpa de fruta estudadas, sendo que a presença desse micro-organismo em alimentos pode causar uma DVA (doença veiculada por alimentos), pelo fato do mesmo ser patógeno. Feitosa et al. (1997), não constataram presença de *Salmonella* sp. em pesquisa realizada com polpa de frutas produzidas e comercializadas nos estados de Ceará e Rio Grande do Norte. O resultado demonstra não haver contaminação no processamento das polpas, o fato da polpa de murici ser pasteurizada e as duas estarem acondicionadas em baixa temperatura explica o resultado obtido.

Tabela 1 - Resultado das análises das mãos dos manipuladores.

Amostras	Análises			
	Coliformes Totais (NMP/mão)	Coliformes termotolerantes (NMP/mão)	*Escherichia coli* (Aus/Pres)	Estafilococos coagulase-positiva (UFC/mão)
M1	460	0	0	0
M2	150	0	0	0
M3	4	0	0	0
M4	93	0	0	0
M5	>2400	0	0	0

Em que M = manipulador.

Tabela 2 - Resultado da análise dos sorvetes e picolés

Amostras	Análises			
	Coliformes totais (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	*Escherichia coli* (Aus/Pres)	*Salmonella sp.* (Aus/Pres)
PPC	0	0	0	0
PPM	0	0	0	0
PCA	23 – 260	0	0	0
PCC	3 - 9	0	0	0
SL	0 – 9	0	0	0
SF	4	0	0	0

Padrão Federal: Coliformes a 45°c: 10^2; Salmonela: Ausência
PPC: picolé com polpa cajá, PPM: picolé com polpa murici, PCA: picolé cremoso açaí, PCC: picolé cremoso cupuaçu, SL: sorvete lakta e SF: sorvete flocos.

Tabela 3 - Resultado da análise dos equipamentos

Amostras	Análises			
	Coliformes Totais (NMP/cm^2)	Coliformes termotolerantes (NMP/cm^2)	*Escherichia coli* (Aus/Pres)	Estafilococos coagulase-positiva (UFC/cm^2)
E1	9	0	0	0
E2	4	0	0	0
E3	23	0	0	0
E4	15	0	0	0
E5	93	0	0	0
E6	0	0	0	0

E: equipamento

Na Tabela 2 estão expressos os valores da pesquisa realizada nas amostras de picolés e sorvetes. Maior variação de coliformes totais foi encontrada nas amostras de picolé cremoso sem polpa, sendo provavelmente proveniente da má higienização e sanificação do equipamento utilizado no processamento desse produto. Porém, para todas as amostras não foi verificada presença de *E. coli*, Estafilococos coagulase-positiva e *Salmonella* sp. Já Targino, Coelho e Cabral (2009), em análise microbiológica de sorvete tipo italiano, constataram haver valores acima dos padrões para coliformes termotolerantes, porém ausência de *Salmonella* sp.

Warke et al. (2000), analisaram marcas de sorvete vendidos na região metropolitana da cidade de Mumbai, sendo que houve confirmação de Estafilococos em todas as amostras, já *Salmonella* sp. não foi detectada em nenhuma das 30 amostras analisadas. Kanbakan, Çon e Ayar (2004), coletaram amostras de sorvete em diferentes pontos da cidade de Denizli – Turquia, em algumas amostras foi encontrada contaminação por coliformes fecais e estafilolococos, onde a contaminação pós-pasteurização é que foi a possível causa da presença dos micro-organismos no alimento.

Tabela 4 - Resultado da análise microbiológica dos carrinhos de picolé e sorvete.

Amostras	Análises		
	Coliformes totais (NMP/cm2)	Coliformes termotolerantes (NMP/cm2)	*Escherichia coli* (Aus/Pres)
C1	4	0	0
C2	0	0	0
C3	0	0	0
C4	0	0	0
C5	0	0	0
C6	0	0	0
C7	0	0	0
C8	0	0	0
C9	0	0	0
C10	0	0	0
C11	0	0	0
C12	0	0	0
C13	460	9	0
C14	0	0	0
C15	9	0	0
C16	0	0	0
C17	9	0	0

C: carrinho transportador de picolés e sorvetes.

Na literatura são encontradas pesquisas com sorvetes, cujos resultados são parecidos aos do presente trabalho quanto à ausência de *Salmonella* sp. É o caso de Rizzo-Benato (2004), que analisou amostras de sorvete de massa em uma indústria de pequeno porte na cidade de Piracicaba-SP, porém para Estafilococos coagulase--positiva houve contaminação em 2 das 36 amostras analisadas.

Na análise dos equipamentos (Tabela 3) que entram em contato com os produtos do processamento de gelados comestíveis, vale ressaltar a elevada contagem de micro-organismos do grupo coliformes totais no equipamento cinco, que é o pote de 5L para acondicionamento de sorvete, onde os mesmos ficam estocados na área de processamento, após lavagem, e ao momento do uso não são higienizados novamente.

Menezes et al. (2007) avaliaram as condições higienicossanitárias de superfícies de equipamentos de um matadouro-frigorífico de bovinos no município de Várzea Grande-MT, sendo a preocupação com infecções e intoxicações alimentares, ligadas às condições de higiene deficientes de equipamentos e utensílios, o que impulsionou a pesquisa. Os autores puderam constatar que a contagem de enterobactérias se mostrou elevada em 44,4% das amostras analisadas, percebendo o risco de contaminação do alimento por deficiência nos procedimentos de higienização.

Não foi encontrado na literatura estudo microbiológico de equipamentos de gelados comestíveis. Em estudo realizado em uma panificadora do município de Realeza – PR por Giaretta et al. (2008), de 20 amostras coletadas, em 3 delas foi detectada presença de coliformes termotolerantes, o que demonstra ausência no controle das etapas de produção.

Segundo os resultados das análises microbiológicas realizadas nos carrinhos de picolé e sorvete, vale ressaltar que 4 das 17 amostras apresentaram variações quanto à contaminação por coliformes de acordo com a tabela 4. Essa variação pode ser resultado da má higienização por parte dos ambulantes, já que os carrinhos são higienizados com água e sabão, pelos mesmos, no período da manhã antes de serem colocados os produtos.

Curi (2006) analisou amostras de cachorro-quente obtidas de vendedores ambulantes da cidade de Limeira e salientou que a má higienização dos carrinhos transportadores desses alimentos foi uma das justificativas da variação na contaminação microbiológica dos produtos.

Soto et al. (2009) analisaram canudos e os recipientes que os acondicionavam em lanchonetes em município do interior de São Paulo, onde constataram que apenas 6,6% dos estabelecimentos realizavam higienização e desinfecção diariamente, sendo somente 30% de forma correta, utilizando desinfecção ao final do processo.

O estabelecimento analisado no presente trabalho possui Manual de Boas Práticas, porém não existe POP (Procedimento Operacional Padronizado) para higienização dos carrinhos.

CONCLUSÃO

O controle microbiológico de todos os fatores que permeiam o processamento de um alimento é de fundamental importância para que o produto final não apresente risco à saúde do consumidor.

A análise das amostras de polpa de fruta, água, sorvete e picolé demonstraram que as mesmas estavam de acordo com a legislação vigente. A análise das mãos dos manipuladores mostrou elevada contagem de coliformes totais, sendo necessária a implantação de um Programa de Procedimento Padronizado (POP), bem como para os carrinhos analisados, já que 4 dentre os 17 carrinhos analisados obtiveram variação do nível de contaminação, que poderia contaminar o alimento e, posteriormente, o consumidor após a ingestão.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. C. C.; KUAYE, A. Y.; SERRANO, A. M.; ALMEIDA, P. F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde Pública**, v.29, n.4, 1995.

ALVES, N.C.; GOULART, F. C; ODORIZZI, A. C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento. **Rev. Saúde Pública,** v.36, n.6, p.740-51, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões microbiológicos para alimentos. **D.O. da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, jan. 2001. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para Gelados Comestíveis e Preparados para Gelados Comestíveis.** Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n° 267, de 22 de setembro de 2003.

CURI, J. D. P. **Condições microbiológicas de lanches (cachorro quente) adquiridos de vendedores ambulantes, localizados na parte central da cidade de Limeira-SP**. Dissertação de Mestrado - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. E. B.; BASTOS, M. S. R.; MUNIZ, C. R.; OLIVEIRA, S. C. A. Perfil microbiológico de polpa de frutas produzidas e comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **B.CEPPA**, v. 15, n. 1, p. 65-74, 1997.

FERREIRA, C. N.; RAMOS, N. P.; SILVA, V. P.; SILVEIRA, E. O.; BRITO, G. A. P.; CABRAL, T. M. A.; NASCIMENTO, G. J. Avaliação higiênicossanitária de 10 amostras de sorvete de chocolate fabricado por uma indústria do município de João Pessoa – PB. XI Encontro de Iniciação Científica, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2007.

GIARETTA, F. R.; FATEL, E. C. S.; SIMM, K. C. B. **Avaliação Microbiológica e higiênicossanitária em uma panificadora do Município de Realeza-PR.** Disponível em:<http://www.fag.edu.br/graduacao/nutricao/resumos2006/avaliacao%20microbiologica%20e%20higienicosanitaria%20em%20uma%20panificadora%20do%20municipio%20de%20realeza-pr.pdf>.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KANBAKAN, U.; ÇON, A. H.; AYAR, A. Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. **Food Control,** v.15 (2004), p. 463–470.

MELO, C. P.; PICININ, L. D. A. Qualidade da água utilizada em indústrias alimentícias, na região de Braço do Norte, em Santa Catarina. **Rev. Hig. Alimentar,** v. 24, n. 183, 2010.

MENEZES, L. F.; ALVES, G. M. C.; MELLO, C. A.; JÚNIOR, J. C. G. Avaliação das condições higiênicossanitárias de superfícies de equipamentos, em matadouro-frigorífico de bovinos no município de Várzea Grande-MT. **Rev. Hig. Alimentar**, v. 21, n. 156, 2007.

RIZZO-BENATO, R. T. **Qualidade microbiológica do leite e do sorvete de massa de uma indústria de pequeno porte do município de Piracicaba – SP**. 2004. 62f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de fruta congeladas. **Ciênc. e Tecnol. Aliment**., Campinas, v.28, n.4, p. 913-915 out.-dez. 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995.159p.

SOTO, F. R. M.; OLIVEIRA, E.; SAKAGUTI, E. H.; FONSECA, Y. S. K.; DIAS, H. G. G.; LOPEZ, M. C.; AZEVEDO, S. S. Contaminação bacteriana e fúngica de canudos de refrigerantes e seus recipientes em lanchonetes de município do interior de São Paulo. **Rev. de Nutrição**, Campinas, v.22, n.6, p.887-894, nov./dez., 2009.

TARGINO, B. N.; COELHO, A. F. S.; CABRAL, J. B. Avaliação microbiológica de sorvete tipo italiano (expresso), ingredientes e manipuladores envolvidos no seu preparo. **Rev. Hig. Alimentar**, v. 23, p.92-99, 2009.

WARKE, R.; KAMAT, A.; THOMAS, P. Incidence of pathogenic psychrotrophs in ice creams sold in some retail outlets in Mumbai, India. **Food Control**, 11 (2000) p. 77-83. ❖