

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS ARMazenADOS EM GARRAFAS PET E REFRESQUEIRAS COMERCIALIZADOS EM UM MUNÍCIPIO DO RECÔNCAVO DA BAHIA.

Cynthia Soares Lisboa ✉

Paula Silva Santos

Kamilla Pinto Campos

Milena Suellen Peixoto Pinto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências da Saúde.
Santo Antônio de Jesus, BA.

✉ cinthiaslisboa@gmail.com

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar as características higienicossanitárias dos refrescos armazenados em garrafas tipo PET e em refresqueiras comercializados em estabelecimentos de um município do Recôncavo da Bahia. Foram analisadas, quanto à presença de bolores, leveduras e coliformes termotolerantes, 10 amostras de refrescos, acondicionadas em garrafas PET e refresqueiras. Das cinco amostras analisadas, duas (40%) armazenadas em garrafas PET, e uma (20%) armazenada em refresqueiras, apresentou-se em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente. Na análise de bolores e leveduras, encontrou-se elevado crescimento destes micro-organismos em quatro amostras (80%) armazenadas em garrafas PET e em cinco amostras (100%) armazenadas em refresqueiras. As informações obtidas nessa pesquisa demonstraram que os refrescos coletados estavam em condições higienicossanitárias insatisfatórias, podendo representar causas de infecções de origem alimentar aos consumidores.

Palavras-chave: Contaminação de alimentos. Sucos. Controle Microbiológico.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the hygienic-sanitary characteristics of refreshment stored in PET bottles and in refreshments marketed in establishments in a municipality in the Recôncavo da Bahia. For the presence of molds, yeasts and thermotolerant coliforms, 10 samples of refreshment, packed in PET bottles and coolers, were analyzed. Of the five samples analyzed, two (40%) stored in PET bottles, and one (20%) stored in refrigerators, were in disagreement with the standards established by current legislation. When analyzing molds and yeasts, a high growth of these microorganisms was found in four samples (80%) stored in PET bottles and in five samples (100%) stored in coolants. The information obtained in this research showed that the refreshments collected were in unsatisfactory hygienic-sanitary conditions, and may represent causes of food-borne infections to consumers.

Keywords: Contamination of food. Juices. Microbiological Control.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os hábitos alimentares têm passado por mudanças em muitos países, acarretando o desenvolvimento de novas técnicas de produção, preparação e distribuição de alimentos. Portanto, um controle eficaz de higiene tornou-se imprescindível para se evitar consequências prejudiciais decorrentes de doenças e danos provocados pelos alimentos à saúde humana e à economia. Todos os participantes da cadeia produtiva têm a responsabilidade de garantir que o alimento seja seguro e adequado para consumo (OPAS, 2006).

De acordo com a Lei nº 8.918, de

1994, regulamentada pelo Decreto nº 6.871, de 2009, na seção II, artigo 18, suco ou sumo é a bebida não fermentada, não concentrada, e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. Ainda na referida legislação, seção II, artigo 22, refresco ou bebida de fruta ou de vegetal é a bebida não fermentada, obtida pela diluição, em água potável, do suco de fruta, polpa ou extrato vegetal de sua origem, com ou sem adição de açúcares (BRASIL, 2009).

Apesar de tradicionalmente os brasileiros preferirem sucos preparados na hora do consumo, a urbanização aliada ao ritmo de vida acelerado abre espaço para sucos prontos. Com a globalização da indústria de alimentos, a oferta por sucos de qualidade e variedades tem expandido visivelmente (FERNANDES, 2013).

Tem-se observado o aumento da comercialização de refrescos em diferentes estabelecimentos comerciais que decorre, em grande parte pelo baixo custo, variedade de sabores e boa aceitabilidade. Isto faz referência a uma grande preocupação com a segurança alimentar do consumidor, visto que os refrescos são armazenados em refresqueiras, que se higienizadas de forma inadequada, servirão como meio de contaminação, tornando o consumidor vulnerável às doenças transmitidas por alimentos (DTA) (BRUM et al., 2014), que se desenvolvem por múltiplas falhas como refrigeração inadequada, manipuladores infectados/contaminados, processamento térmico insuficiente e higienização incorreta (CARDOSO, R. C. V.; SANTOS, S. M. C.; SILVA, E. O, 2009; ALVES & UENO, 2010). Entre os patógenos encontrados em pesquisas sobre qualidade microbiológica de refrescos

destacam-se *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (CDC, 2010).

Atualmente, os estabelecimentos envolvidos com a comercialização de alimentos devem cumprir as normas contidas nas Resoluções nº 216/2004, que institui critérios higienicos-sanitários para produção de alimentos, e a nº 12/2001, que estabelece os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos e determina os critérios para a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2004; BRASIL, 2001).

Segundo a Portaria nº 987, de 1998, da ANVISA, o uso de garrafas de polietilenotereftalato (PET) descartáveis só se destina a acondicionamento de bebidas não alcoólicas carbonatadas, devendo atender aos critérios estabelecidos na legislação quanto à higiene e processo de fabricação, bem como à rotulagem na qual deve estar contida a expressão: "Embalagem para uso exclusivo para refrigerantes" (BRASIL, 1998). Assim, o uso de garrafas descartável tipo PET se destina apenas ao acondicionamento de bebidas não alcoólicas carbonatadas para o comércio do produto industrializado, porém não faz alusão ao uso da embalagem como recipiente de distribuição, como no caso dos refrescos para comercialização.

A RDC nº 20, de 26 de março de 2008, da ANVISA, dispõe sobre o regulamento técnico sobre embalagens de polietilenotereftalato (PET) pós-consumo reciclado grau alimentício (PET-PCR grau alimentício) destinado a entrar em contato com alimentos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características higienicossanitárias dos refrescos armazenados em garrafas tipo PET e em refresqueiras comercializados em estabelecimentos de um município do Recôncavo da Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de refrescos (n=10), de estabelecimentos comerciais no município de Santo Antônio de Jesus - Bahia, localizado no Recôncavo Sul, a 187 km de distância de Salvador, capital da Bahia. O município é conhecido regionalmente como centro comercial e de serviços, as principais atividades desenvolvidas, do ponto de vista econômico, são agricultura, pecuária e comércio, batizado como a "capital do recôncavo" (IBGE, 2010).

Os refrescos são preparados nos estabelecimentos de origem e após o preparo são acondicionados em garrafas PET ou nas refresqueiras para comercialização. Os mesmos são distribuídos em copos descartáveis para o consumidor e são feitos com frutas e/ou polpa de frutas.

As amostras foram adquiridas aleatoriamente em restaurantes e lanchonetes de localização fixa, para facilitar a identificação dos fatores associados aos resultados das análises. Em cada estabelecimento foi coletada uma amostra em copos descartáveis contendo no mínimo 200 mL do refresco, da mesma forma que o consumidor tem acesso, sendo cinco amostras provenientes de garrafas PET, e cinco provenientes de refresqueiras.

Após coleta, os refrescos foram transferidos para sacos plásticos de polietileno, estes estéreis, e rotulados quanto à data, local, temperatura, responsável pela coleta, e forma de acondicionamento. Em seguida, foram acondicionados em bolsa isotérmica contendo gelo químico, evitando oscilações significativas da temperatura e sendo mantida sob refrigeração até o momento da análise no laboratório de microbiologia do Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Para a verificação das análises

microbiológicas, foram realizadas diluições seriadas decimais até 10^{-1} . Estas submetidas às análises para enumeração de Coliformes Termotolerantes (CTt) e em Unidade Formadora de Colônias (UFC). Para a realização das análises foram feitas diluições das amostras com assepticamente 10 mL de amostra de refresco e introduzindo em erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina a 0,9%, com diluição seriada até 10^{-1} . A partir desta diluição foram preparadas as diluições seriadas até 10^{-5} .

A contagem de Aeróbios Mesófilos (AM) foi realizada de acordo com preconizado pelo American Public Health Association (APHA, 1992), por meio da técnica de plaqueamento em superfície, onde $100\mu\text{L}$ de cada diluição foram espalhadas com auxílio de alça de Drigalsky na superfície das placas de Petri estéreis, em duplicata. Em seguida acrescentou 15 a 20 mL contendo Agar Sabouraud. As placas foram homogeneizadas e após a solidificação, formam incubadas por 48 horas a 35°C , em estufa bacteriológica. Posteriormente, selecionadas para contagem, as placas com contagem entre 30-300 colônias. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL).

Para a determinação de contagem de Coliformes Termotolerantes (CTt), foi utilizada a técnica de Número Mais Provável (NMP), com tubos múltiplos em triplicata. Inicialmente, inoculado 1,0 mL em três séries de três tubos, utilizado as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e o 10^{-3} , contendo 9,0 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durhan invertidos. Após incubação $35^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 24 a 48 horas, em estufa bacteriológica, foi realizada a leitura dos tubos positivos (turvação do meio e formação de gás nos tubos de Durhan). Os resultados obtidos foram representados numericamente segundo a tabela de Número Mais Provável (NMP/mL),

conforme Instrução Normativa nº 62, de 2003, do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

A partir de cada um dos tubos positivos CTt, foram semeadas alíquotas de 0,3 mL, em tubos contendo caldo EC e incubados a $44,5^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 24 a 48 horas. As amostras positivas, apresentaram presença de gás no caldo EC. Os resultados obtidos foram representados numericamente segundo a tabela de Número Mais Provável (NMP/mL), conforme Instrução Normativa nº 62, de 2003, do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da RDC de nº12, de 2001, não estabelecer limites para a contagem de CT nos produtos pesquisados, verificou-se a presença desses micro-organismos em 40% (n=2) das amostras armazenadas em garrafas PET e 20% (n=1) das amostras armazenadas em refresqueiras. Ao analisar bolores e leveduras, encontrou-se elevado crescimento destes micro-organismos, com a reprovação de 100% (n=5) das amostras

armazenadas tanto em garrafas PET, quanto em refresqueiras (Tabela 1 e Tabela 2).

Alguns estudos corroboram com os resultados apresentados. Garcia et al. (2012) verificaram que de doze amostras de refresco analisadas, duas apresentavam coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação. De forma similar, Silveira e Bertagnolli (2012) observaram, em sua pesquisa por coliformes termotolerantes em suco de laranja, que das cinco amostras analisadas, duas estavam em condições impróprias para consumo. Brum e colaboradores (2014), Dantas et al. (2012), Fernandes (2013) em uma análise realizada de refresco comercializados também evidenciaram amostras em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente, apresentando-se impróprias para consumo.

É importante destacar que, altas contagens de CT podem indicar falhas de higiene pessoal dos manipuladores, ambientes insalubres ou problemas na fabricação do suco como matéria-prima de baixa qualidade e tratamento térmico ineficiente,

Tabela 1- Quantificação Microbiológica de refresco, armazenados em garrafas PET.

Amostras	Determinações Microbiológicas	
	Termotolerantes NMP/mL	Bolores e Leveduras UFC/mL
A1	$< 10^3$	3×10^4
A2	$< 10^3$	$1,2 \times 10^5$
A3	$< 10^3$	$2,1 \times 10^5$
A4	$> 1,1 \times 10^3$	$1,6 \times 10^4$
A5	$> 1,1 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$

Tabela 2- Quantificação Microbiológica de refresco, armazenados em refresqueiras.

Amostras	Determinações Microbiológicas	
	Termotolerantes NMP/mL	Bolores e Leveduras UFC/mL
B1	$> 1,1 \times 10^3$	3×10^4
B2	$< 10^3$	$4,3 \times 10^5$
B3	$< 10^3$	$3,5 \times 10^5$
B4	$< 10^3$	$1,6 \times 10^5$
B5	$< 10^3$	5×10^4

interferindo na vida de prateleira e representando riscos ao consumidor (FERNANDES, 2013).

Ruschel et al. (2001) avaliaram 52 amostras de sucos de laranja *in natura*, na cidade de Porto Alegre-RS, e encontraram 44,23% das amostras em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente, sendo os bolores e leveduras encontrados em níveis inapropriados em todas as amostras reprovadas. De acordo com Farias (2012) e Brum (2014), a presença de bolores e leveduras, em grande número, é um reflexo da higiene insuficiente na produção e condições impróprias de tempo e temperatura durante a conservação das polpas de fruta.

Mesmo revogada, destaca-se a importância da Portaria nº 451 /1997 para critérios e padrões microbiológicos em alimentos, que estabelece valores para determinação de bolores e leveduras. A presença de tais micro-organismos em diversos achados, como os de Farias e colaboradores (2012) realizados em polpas de açaí congeladas e sucos *in natura*, demonstraram elevado grau de contaminação microbiológica das amostras de açaí comercializadas, estando em condições higienicossanitárias insatisfatórias e inseguras ao consumo. Respalda ainda que, a presença destes no alimento, pode acarretar a elevação do pH, criando condições para o crescimento de outros micro-organismos, inclusive *E. coli*, desde que o pH atinja valores superiores a 4,5.

Em estudo realizado com polpas de frutas congeladas, Santos et al. (2008) demonstraram que (89,8%) das amostras, apresentaram contaminação por bolores e leveduras, sendo que as contagens variaram de <10 até $6,2 \times 10^4$ UFC.g⁻¹.

As amostras de refrescos, armazenadas tanto em garrafa PET como em refresqueiras, com valores de análise microbiológicas considerados inapropriados, de acordo com os padrões estabelecidos para coliformes

termotolerantes, não foram as mesmas amostras consideradas inapropriadas, de acordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras, sugerindo ausência de boas práticas. Nessa perspectiva, os locais de coleta não estavam em condições higiênicas adequadas, a ausência de parâmetros adequados para a realização de boas práticas influi diretamente nos resultados encontrados, havendo a necessidade de uma reeducação nas formas de preparação nos estabelecimentos (ADAM et al., 2015).

Apesar da refresqueira ser um equipamento adequado para o armazenamento dos refrescos, a deficiência na sua correta higienização favorece a contaminação microbiana. Logo, os resultados encontrados podem sugerir a ausência de capacitação dos manipuladores sobre higiene adequada do equipamento (BRUM et al., 2014).

Já para as amostras armazenadas em garrafas PET, sabe-se que a penetração de componentes aromáticos, no material, pode afetar seu potencial de reutilização, bem como de reciclagem. As interações entre os componentes das embalagens e o alimento podem variar, sendo na maioria insignificante, mas algumas vezes podem reduzir notavelmente a vida de prateleira, além de causar perigo para saúde do consumidor final (BRASIL, 2008).

Composto por polímeros de petróleo, a garrafa PET foi elaborada com intuito de armazenar produtos não alcoólicos e gaseificados. Sua reutilização para conservação de produtos alimentícios implica em riscos à saúde, necessitando atendimento a critérios básicos para conformidade da segurança e sua aprovação por autoridades competentes conforme preconiza a Resolução nº 20/2008 da ANVISA. A reutilização de embalagens plásticas para armazenamento de alimentos e sua comercialização apresenta riscos para a saúde do consumidor e, portanto, não é uma prática recomendável.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que os refrescos coletados estavam em condições higienicossanitárias insatisfatórias, podendo representar causas de infecções de origem alimentar aos consumidores. Os achados no município estudado sugerem falta de boas práticas de fabricação dos refrescos no local de preparo, nas condições de armazenamentos e na higiene dos manipuladores.

Para a garantia de alimentos seguros, os órgãos de fiscalização sanitária devem exigir a adoção de programas de boas práticas, uso de Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) e a não reutilização da garrafa PET para armazenamento de alimentos, além de ações para o controle de qualidade dos alimentos, destacando a necessidade de treinamento e capacitação dos profissionais envolvidos na produção dos refrescos de forma contínua, o monitoramento das condições higiênicas dos manipuladores, dos locais de produção, da qualidade da água utilizada, e dos equipamentos utilizados no preparo e armazenamento dos refrescos.

REFERÊNCIAS

- ADAM, B et al. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Suco de Laranja *in Natura* em um Campus Universitário de Cuiabá, MT. **Unopar Científica Ciências Biológicas da Saúde**.v.17, n.4, p. 223-226, 2015.
- ALVES, MG; UENO, M. Restaurantes self-service: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. **Rev de Nutrição**. Campinas. v.23, n.4, p.573-580, 2010.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3. ed. Washington, **American Public Health Association**, 1219 p. 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009.

- Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 05 jun. 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm> Acesso em: 15 abril 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água, com seus respectivos capítulos e anexos, determinando que sejam utilizados no Sistema de Laboratório Animal do Departamento de Defesa Animal. Disponível em: <http://www.a3q.com.br/dmdocuments/Instru_Normativa_62.pdf> Acesso em: 30 de outubro de 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC, nº 12, de 02 de janeiro 2001. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www.vigilanciasanitaria.gov.br/anvisa.html>> Acesso em: 25 de outubro de 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 20, de 26 de março de 2008. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 19 mai. 199. Dispõe sobre os Regulamentos Técnicos sobre embalagens de polietileno tereftalato (PET) pós-consumo reciclado grau alimentício (PET-PCR) destinado a entrar em contato com alimentos.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 15 set. 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: <<http://www.mds.gov.br/acesso-a-informacao/legislacao/segurancaalimentar/resolucoes/2004/Resolucao%20RDC%20no%20216>> Acesso em: 25 de outubro de 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 987, de 08 de dezembro de 1998. **DO da República Federativa do Brasil, Poder Executivo**, Brasília, DF, 31 mar. 1999. Regulamento técnico - Embalagens descartáveis de polietileno tereftalato ¾ pet multicamada destinadas ao acondicionamento de bebidas não alcoólicas carbonatadas. Disponível em: <<http://www.vigilanciasanitaria.gov.br/anvisa.html>> Acesso em: 25 de outubro de 2017.
- BRUM, DCM et al. Qualidade microbiológica e físico-química de refrescos comercializados nos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda-RJ. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**. v.9, n.4, p.943-953, 2014.
- CARDOSO, RCV; SANTOS, SMC; SILVA, EO. Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.14, n.4, p.1215-1224, 2009.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preliminary Food-Net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 states. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. v.59, n.14, p.418-422, 2010.
- DANTAS, RL et al. Qualidade microbiológica de polpas de frutas comercializadas na cidade de Campina Grande – PB. **Rev Bras de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande. v.14, n.2, p.125-130, 2012.
- FARIAS, M; OLIVEIRA, LBD; COSTA, FEC. Qualidade microbiológica de polpas de açaí congeladas. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara. v.23, n.2, p.243-249, abr./jun. 2012.
- FERNANDES, ML. **Avaliação das condições higiênicas e sanitárias da comercialização de sorvetes e refrescos em lanchonetes do Campus Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília**. 2013. 50 f. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- GARCIA, RCG et al. Qualidade microbiológica de sucos *in natura* comercializados na cidade de Juazeiro do Norte- CE. **Rev Bras de Tecnologia Agroindustrial**, v.6, n.1, p.665-670, 2012.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão; 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_encaa/pof_20082009_encaa.pdf>. Acesso em: 30 de Outubro de 2017.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Higiene dos Alimentos – Textos Básicos; Agência Nacional de Vigilância Sanitária; **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 64 p.: Il, 2006.
- RUSCHEL, CK et al. Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Sucos de Laranja comercializados nas Vias Públicas de Porto Alegre/RS. **Ciênc Tecnol dos Alimnt**. Campinas. v.21, n.1, p.94-97, jan./abr. 2001.
- SANTOS, CAA; COELHO, AFS; CARNEIRO, SC. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.4, p.913-915, 2008.
- SILVEIRA, MLR; BERTAGNOLLI, SMM. Avaliação microbiológica e das condições higiênico-sanitárias de comercialização de sucos de laranja *in natura*. **Alimentos e Nutrição**. v.23, n.3, p.461-466, 2012.