

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO CALDO DE CANA COMERCIALIZADO POR VENDEDORES AMBULANTES NO MUNICÍPIO DE CAMPO MOURÃO-PR

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS SUGARCANE JUICE SOLD BY STREET VENDORS IN CAMPO MOURÃO-PR

Ketlyn Nara Caetano Galvão¹, Valéria Maria Costa Teixeira², Lilian Brites Campos-Shimada³, Mariane Cristovão Bagatin⁴, Andrea Luiza de Oliveira Valoto^{5*}

¹ Farmacêutica, Centro Universitário Integrado.

² Bióloga pelo Centro Universitário Integrado, Mestranda em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

³ Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá, Docente no Centro Universitário Integrado.

⁴ Doutora em Química pela Universidade Estadual de Maringá, Docente no Centro Universitário Integrado.

⁵ Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá, Docente no Centro Universitário Integrado

*Endereço para correspondência: Cento Universitário Integrado, Rodovia BR 158, Km 207, 87309-650, Campo Mourão – PR, andreabiomed@gmail.com

RESUMO

O caldo de cana, uma bebida energética, de sabor agradável, comumente consumido pelos brasileiros em épocas quentes do ano como um refresco, é geralmente comercializado por vendedores ambulantes. Este fato aumenta a probabilidade de contaminação do produto, já que o mesmo possui em sua composição condições favoráveis para o desenvolvimento microbiano. Devido ao fato de haver poucos estudos na região de Campo Mourão acerca do tema e também à necessidade de conhecer as características higiênico-sanitárias do caldo de cana local, o objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica desta bebida comercializada por vendedores ambulantes na cidade. Para tanto, foram coletadas 10 amostras, todas oriundas de pontos de vendas distintos, nas quais foram analisados os teores de bactérias mesófilas e bolores e leveduras por plaqueamento em superfície, e coliformes, pela técnica dos tubos múltiplos. Os resultados obtidos evidenciaram a presença de microrganismos indicadores na maioria das amostras analisadas. Apesar dos níveis de coliformes termotolerantes estarem dentro do aceitável pela legislação em vigor (10^2 NMP/mL de coliformes termotolerantes), os resultados sugerem condições precárias de higiene durante o preparo e comercialização deste alimento e fornecem subsídios para alertar a Vigilância Sanitária do município quanto à importância de fiscalização dos pontos de venda e necessidade de instruir os vendedores através de programas que estimulem as boas práticas de fabricação.

Palavras-Chave: Garapa, Qualidade microbiológica, Coliformes, Microrganismos indicadores.

ABSTRACT

The sugarcane juice, an energy drink, with a pleasant taste, commonly consumed by Brazilians in hot times of the year as a refreshment, is generally sold by street vendors. This fact increases the probability of the product contamination, since it has in its composition favorable conditions for microbial growth. Due to the fact that there are few studies in the region of Campo Mourão on this subject, and also by the need of knowing the hygienic and sanitary characteristics in the preparation of local sugarcane juice, the objective of this work was to evaluate the microbiological contamination of this drink sold by street vendors in this town. For that, were collected 10 samples in different sales points, being analyzed the level of mesophilic bacteria and molds and yeasts by spread-plate and total and fecal coliforms by multiple-tube fermentation technique. The results revealed high counting numbers of indicator microorganisms in most samples analyzed. In spite of the level of thermotolerant coliforms were in accordance with the current legislation (10^2 MPn/mL of thermotolerant coliforms), the results suggest precarious hygiene conditions during preparing and commercialization of this food and it provides subsidies for alerting Municipal Sanitary Surveillance about the importance of the appropriate inspection of the points of sale and the need of educating the vendors by good manufacturing practices programs.

Key Words: Sugarcane juice, Microbiological quality, Coliforms, Indicator microorganisms.

INTRODUÇÃO

Popularmente conhecido como garapa, o caldo de cana é uma bebida não alcoólica, energética, de sabor agradável, comumente apreciada pelos brasileiros devido às características de refrescância e sabor adocicado (1,2). Seu consumo como refresco é um costume antigo em diversas regiões do país e cresceu muito com o passar dos anos, sobretudo em épocas quentes do ano (3,4).

O caldo de cana apresenta condições altamente favoráveis ao crescimento microbiano, como níveis elevados de atividade de água e de açúcar e valor de pH ligeiramente ácido, que é ideal para o desenvolvimento de bactérias lácticas (5). Além disso, a produção comercial do produto, muitas vezes realizadas de maneira precária, pode facilmente propiciar a contaminação por microrganismos ou a proliferação daqueles já existentes no produto que será consumido (6). Isso acontece porque tal bebida é geralmente comercializada por vendedores ambulantes, quase sempre sem o emprego dos devidos cuidados higiênico-sanitários (7).

Está claro que o manejo inapropriado da cana promove a diminuição da qualidade microbiológica do produto final. Especificamente, dentre os processos responsáveis por provocar ou aumentar a contaminação do caldo de cana destacam-se falhas na estocagem, condições inapropriadas de manipulação, de armazenamento, do ambiente e de higiene pessoal, e falhas na limpeza das moendas e demais equipamentos (3, 4, 8).

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n.º 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em seu Anexo 1, alínea "h", estabelece como padrão microbiológico para sucos e refrescos *in natura*, dentre eles o caldo de cana, o limite de tolerância de 10^2 número mais provável por mililitro (NMP/mL) para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp. em 25 mL (9). Para a análise da qualidade do produto também podem ser determinados o teor de outros microrganismos indicadores, como mesófilos, coliformes totais, bolores e leveduras (8,10).

Outro regulamento emitido pelo mesmo órgão, a RDC n.º 218/2005, dispõe sobre os procedimentos higiênico-sanitários

específicos para manipulação de alimentos e bebidas preparadas com vegetais, que incluem o caldo de cana. Entre as disposições desta resolução estão elencadas o cadastro de fornecedores da matéria-prima; garantia da integridade e qualidade sanitária da matéria-prima; especificações para o transporte; controle de pragas e vetores; e medidas de asseio pessoal relacionadas aos manipuladores (11).

O cumprimento dos requisitos de boas práticas estabelecidos por esta normativa, e por consequência, a fiscalização quanto à inobservância ao nela disposto, é de extrema importância no sentido de prevenir Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) (2), já que alguns fatores, se não controlados, podem facilitar a ocorrência de contaminação, representando risco à saúde humana (12).

Em função da carência de estudos e diante da necessidade de conhecer as características higiênico-sanitárias do caldo de cana comercializado por ambulantes no município de Campo Mourão, justifica-se a importância do presente estudo, que tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes neste município.

METODOLOGIA

Coleta e processamento das amostras

Foram adquiridas ao acaso e acondicionadas em frascos plásticos estéreis, em um único dia do mês de setembro de 2016, dez amostras (300 mL) de caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes em pontos de vendas distintos no município de Campo Mourão - PR. De cada um dos locais selecionados para a realização do estudo foi colhida uma amostra ao acaso no início da tarde, sendo as mesmas codificadas de A a J.

Após as coletas, todas as amostras foram devidamente acondicionadas em caixa isotérmica com gelo e imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Centro Universitário Integrado, onde se realizou a homogeneização de 25 mL de cada amostra com 225 mL de água peptonada, seguida de diluição seriada em água peptonada (até 10^{-1}

³) das mesmas para a realização dos testes microbiológicos.

Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas

A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada por meio da técnica de plaqueamento em superfície, a partir da sementeira das amostras diluídas (até 10^{-3}) em três placas contendo o meio *Plate Count Ágar* (PCA). As placas foram incubadas invertidas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 48 ± 2 horas (13). Após a contagem das colônias, o resultado médio foi expresso em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL).

Contagem de bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada a partir da sementeira em triplicata das diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) de cada amostra em ágar rosa de bengala cloranfenicol (DRBC) com incubação a 25°C por 5 dias. Após o período de incubação, foi realizada a contagem das colônias e o valor encontrado estimado em UFC/mL.

Determinação de coliformes totais e termotolerantes

A determinação do número mais provável por mL (NMP/mL) de coliformes foi realizada a partir da técnica em série de 3 tubos, inoculados em triplicata, com diluições seriadas das amostras em até mil vezes, cujas etapas estão resumidas na Figura 1.

Para o teste presuntivo, as amostras foram inoculadas em caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com incubação a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 ± 2 horas. As amostras positivas no teste presuntivo tiveram uma alçada transferida para o Caldo Verde Bile Brillante (VBB) e foram incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 24 a 48 ± 2 horas para confirmação da presença de coliformes totais. Para pesquisa de coliformes termotolerantes, utilizou-se o caldo EC (*Escherichia coli*) com incubação das análises a $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 24 ± 2 horas. Os resultados obtidos foram expressos em NMP/mL seguindo a tabela padrão do *Bacteriological Analytical Manual* (13).

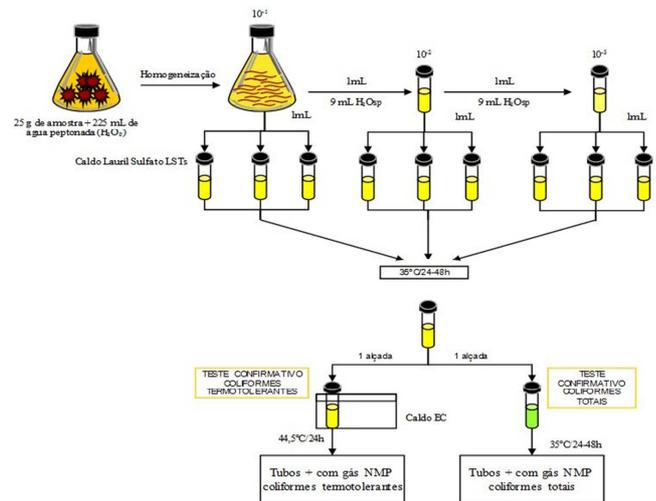


Figura 1. Fluxograma de análise de coliformes totais e termotolerantes pelo método do NMP/mL em série de 3 tubos. (Fonte: <https://goo.gl/aEifoY>)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 10 amostras analisadas, 40% apresentaram contagem de coliformes de até $1,1 \times 10^3$ NMP/mL (Tabela 1).

Não há informações na legislação brasileira quanto aos limites de contagem para coliformes totais em caldo de cana. Mesmo assim, resultados positivos para este grupo de microrganismos indicam más condições higiênicas do local, do produto e/ou na manipulação, uma vez que os coliformes podem ser transmitidos pelos manipuladores de alimentos, por insetos ou pela água (14). Sendo assim, fica evidenciada a necessidade de melhorias nas técnicas de produção, incluindo cuidados higiênicos com o ambiente de trabalho, os equipamentos e utensílios, além de asseio pessoal.

Os resultados dos testes confirmatórios demonstram a presença de contaminação das amostras por coliformes termotolerantes (Tabela 1). Considerando que a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, estabelece o limite máximo de 10^2 NMP/mL para coliformes termotolerantes em sucos *in natura*, dentre eles o caldo de cana, todas as amostras analisadas estão dentro dos padrões microbiológicos aceitáveis pela legislação (9). Contudo, a manipulação, o armazenamento e a comercialização deste produto devem sempre ser monitorados com o intuito de minimizar a contaminação por tais microrganismos, pois seus níveis denotam a precária qualidade higiênico-

sanitária do alimento e refletem a possibilidade de contaminação fecal.

Tabela 1: NMP/mL de coliformes totais e termotolerantes e UFC/mL de bolores e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas em amostras de caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes em Campo Mourão-PR.

AMOSTRA	Coliformes totais (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)	Bactérias aeróbias mesófilas	Bolores e leveduras
A	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^1$	$1,10 \times 10^5$	$1,20 \times 10^3$
B	$2,4 \times 10^2$	$3,0 \times 10^0$	$>6,50 \times 10^6$	$1,14 \times 10^3$
C	$1,1 \times 10^3$	$2,8 \times 10^1$	$2,03 \times 10^4$	$2,12 \times 10^3$
D	$2,4 \times 10^2$	$0,74 \times 10^1$	$1,44 \times 10^4$	$3,01 \times 10^2$
E	$2,4 \times 10^2$	$1,5 \times 10^1$	$1,40 \times 10^4$	$1,72 \times 10^3$
F	$1,1 \times 10^3$	$6,4 \times 10^1$	$2,47 \times 10^4$	$1,84 \times 10^4$
G	$2,4 \times 10^2$	$0,92 \times 10^1$	$2,63 \times 10^4$	$1,29 \times 10^3$
H	$2,3 \times 10^1$	$0,36 \times 10^1$	$1,88 \times 10^4$	$8,21 \times 10^2$
I	$1,1 \times 10^3$	$1,5 \times 10^1$	$1,06 \times 10^5$	$1,39 \times 10^4$
J	$2,4 \times 10^2$	$2,7 \times 10^1$	$1,64 \times 10^4$	$1,12 \times 10^4$

Um estudo realizado no município de Campo Mourão cujo objetivo era analisar saladas comercializadas em *trailers* também reportou contagens elevadas de coliformes totais nas amostras analisadas, porém os níveis de coliformes termotolerantes, nesse caso, se mostraram acima dos padrões aceitáveis pela legislação, indicando falhas na manipulação (15). Sendo assim, é possível observar que, apesar da contaminação ser menor no presente estudo, as práticas inadequadas durante o preparo e comercialização de produtos pelos ambulantes em Campo Mourão têm facilitado a contaminação por microrganismos indicadores.

De acordo com Carvalho e Magalhães (2), em 20 amostras de caldo de cana analisadas, 90% apresentaram altas contagens de coliformes totais (>1100 UFC/mL) e 75% das amostras continham valores de coliformes termotolerantes acima dos estabelecidos pela RDC nº 12 de 2001, apresentando, dessa forma, resultados contrastantes com os observados no presente estudo. Por outro lado, Lopes et al. (10) também obtiveram baixas contagens de termotolerantes. Das 30 amostras de caldo de cana coletadas nas ruas de Curitiba-PR,

apenas uma encontrava-se com valores superiores a 10^2 NMP/mL.

A contaminação por bactérias mesófilas em altas contagens demonstra inadequados procedimentos de manipulação, conservação e beneficiamento (16). Quando a contagem de bactérias aeróbias mesófilas está acima de $6,0 \times 10^5$ UFC/mL o produto alimentício pode apresentar alterações nas suas características sensoriais, ou seja, pode apresentar deterioração perceptível (17). Neste estudo, apenas uma das amostras apresentou enumerações acima deste limiar (Tabela 1), evidenciando o estado deteriorativo que a mesma poderia estar. Além disso, uma elevada presença destes microrganismos, como a apresentada neste trabalho, indica matéria-prima excessivamente contaminada, higienização insuficiente na produção, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas e condições impróprias de tempo e temperatura durante a conservação dos alimentos (18).

Os bolores e leveduras comumente encontrados em sucos de frutas e caldo de cana representam uma grande preocupação, pois, sabe-se do poder deteriorativo destes microrganismos e da capacidade de alguns produzirem micotoxinas (13). No presente

estudo, a contaminação do caldo de cana por bolores e leveduras foi a mais elevada quando comparada às outras análises realizadas (Tabela 1), e isso representa uma grande preocupação, principalmente, pelo fato destes microrganismos apresentarem grande capacidade de deteriorar alimentos.

Pelo fato do caldo de cana ser um produto comercializado a fresco, sua contaminação se torna bastante variável, ou seja, pode ser advinda desde as condições de coleta da matéria-prima, do manuseio da cana, do contato com superfícies e equipamentos, transporte e armazenamento até a manipulação pelos vendedores (10).

Sendo assim, o produto torna-se muito suscetível à contaminação por microrganismos patogênicos. Dessa forma, é importante que os vendedores sejam informados o quanto uma manipulação insatisfatória e uma higienização inadequada do local de venda interferem nessa contaminação e também sobre a importância de seguir as medidas higiênico-sanitárias exigidas pelas legislações como forma de evitar a propagação de microrganismos potencialmente capazes de causar DTA's.

CONCLUSÃO

A partir das análises realizadas foi possível observar que as amostras encontram-se dentro dos padrões microbiológicos sanitários para alimentos estabelecidos pela RDC nº 12, 2 de janeiro de 2001 da ANVISA, no que se diz respeito ao limite de coliformes termotolerantes. Entretanto, a presença de coliformes termotolerantes e o alto índice de bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e coliformes totais sugere que há falhas na higienização e preparo dos caldos de cana. Conclui-se, através disso, que dez dos locais onde foram coletadas as amostras precisam melhorar as condições de manipulação e comercialização da bebida.

Salienta-se, ainda, a importância da ação da vigilância sanitária do município, que, além de fiscalizar os pontos de venda, deve, acima de tudo, instruir, capacitar e alertar os manipuladores sobre a importância das boas práticas no manejo e fabricação do produto alimentício, visando minimizar a transmissão de doenças. É de grande interesse para a saúde pública do município que pesquisas microbiológicas continuem sendo realizadas continuamente com o intuito de monitorar a qualidade do caldo de cana comercializado.

REFERÊNCIAS

- (1) CARVALHO, F. A. L.; et al. Avaliação preliminar da qualidade microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes na cidade de Viçosa, MG, Brasil. In: III Simpósio de Produção Acadêmica, 2011, Viçosa-MG. **Anais do III Simpósio de Produção Acadêmica**. Viçosa: Univiçosa, 2011, p.146-151.
- (2) CARVALHO, L. R. de; MAGALHÃES, J. T. de. Avaliação da qualidade microbiológica dos caldos de cana comercializados no centro de Itabuna - BA e práticas de produção e higiene de seus manipuladores. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 238-245, jul.- dez., 2007.
- (3) KITOKO, P. M.; et al. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado em Vitória, Espírito Santo, Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 119, p. 73-76, 2004.
- (4) LOPES, G.; et al. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados nas ruas de Curitiba, PR. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.147, p.40-44, 2007.
- (5) PRADO, S. P. T.; et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana in natura comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 55-61, 2010.
- (6) OLIVEIRA, A. C. G. et al.; Microbiological evaluation of sugar cane juice sold at treet stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 1111-1114, mai, 2006.
- (7) SILVA, K. S; FARIA, J. A. F; Avaliação da qualidade de caldo de cana envasado a quente e por sistema asséptico. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 754-758, out.- dez., 2006.

- (8) GANDRA, E. A.; et al. Condições microbiológicas de caldos de cana comercializados em Umuarama (PR). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.1, n. 2, p. 61-69, 2007.
- (9) BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA] do Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, p. 45-53, 10 jan. 2001. Seção 1.
- (10) FELIPE, L. M.; MIGUEL, D. P. Análise da qualidade microbiológica do caldo de cana. **Cadernos de pós-graduação da FAZU**, v. 2, p.77- 82, p. 2011.
- (11) BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA] do Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 218, de 29 de julho de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos higiênicos-sanitários para manipulação de alimentos e bebidas preparados com vegetais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1 ago. 2005. Seção 1.
- (12) BUDRI, P. E. **Identificação de patógenos e qualidade higiênico-sanitária do caldo de cana (garapa), consumido no interior do estado de São Paulo**. 2011. 20 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- (13) SILVA, N.; et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.
- (14) FERRETI, G. M; ALEXANDRINO, A. M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de cachorros quentes comercializados em via pública no município de Terra Boa – PR. **SaBios: Revista Saúde e Biologia**, v.8, n.3, p.83-89, ago. - dez., 2013.
- (15) LOUZANO, M. G. F. **Condições microbiológicas de saladas *in natura* comercializadas por lanchonetes tipo *trailer* instaladas na região central de Campo Mourão (PR)**. 2014. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.
- (16) SILVA, K. M. C. da; et al. Contagem de bactérias mesófilas aeróbicas em amostras de sucos de açaí comercializados na Universidade Federal Rural de Pernambuco – Campus dois irmãos. PE, Brasil. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2009, Recife-PE. **Anais da VI Semana Nacional de Ciência e Tecnologia**. Recife: UFRPE, 2009.
- (17) SANTOS, C. P. et al. Avaliação preliminar da qualidade microbiológica do caldo de cana consumido na cidade de Tangará da Serra - MT. In: II Jornada Científica da Unemat, 2009. Barra do Bugres- MT. **Anais do V Congresso de Iniciação Científica**. Barra do Bugres: UNEMAT, 2009.
- (18) FRANCO, B. D. G. M. e LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.184p.

Enviado: 07/12/2016
 Revisado: 04/02/2019
 Aceito: 11/06/2019