

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SORVETES
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PONTA
GROSSA - PR E DA ÁGUA USADA NA LIMPEZA DAS
COLHERES UTILIZADAS PARA SERVI-LOS**

**MICROBIOLOGICAL PROFILE OF ICE-CREAM
SOLDS IN MUNICIPALITY OF PONTA GROSSA - PR
AND OF THE WATER APPLIED TO CLEAN
THE SPOONS USED TO SERVE IT**

GRACIANE T. DIOGO¹
GRAZIELE M. AGUIAR¹
MARINA C. TOLENTINO¹
DENISE BUFFARA¹
MARCOS PILEGGI²

1 Acadêmica do Curso de Engenharia de Alimentos da UEPG

2 Professor do Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética da UEPG

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo submeter a análises microbiológicas três amostras de sorvete comercializadas na cidade de Ponta Grossa – PR e, também, a água onde ficam acondicionadas as colheres utilizadas para servir o sorvete. As análises envolvidas neste trabalho foram a quantificação de enterobactérias,

contagem de bolores e leveduras, pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.* Das seis amostras analisadas, todas apresentaram-se contaminadas por bolores e leveduras, duas por *Staphylococcus aureus*, quatro por enterobactérias totais e ausência de *Salmonella sp.* nas sub-amostras analisadas. Assim, de acordo com a Legislação Federal do Ministério da Saúde verifica-se que duas das amostras avaliadas estavam em “condições higiênicas insatisfatórias” e duas em “condições higiênico-sanitárias insatisfatórias”.

Palavras-chave: microbiological profile of ice-cream; fungus; leavening; *Staphylococcus aureus*; *Salmonella sp.*; Enterobacteriaceae family

1. Introdução

1.1 Sorvete

Não existem registros exatos que indiquem a origem dos sorvetes, mas no século IV a.C., Alexandre o Grande, já apreciava as sobremesas geladas. Em suas campanhas, enchia grandes covas com neve, misturando-as com frutas e mel. Porém, foi em 1292 que o explorador Marco Polo trouxe da China para Veneza a primeira receita de sorvete. (NESTLÉ BRASIL LTDA., 2000).

O sorvete é um produto alimentício classificado como gelado comestível. Basicamente é uma mistura de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes. Adicionam-se, também, substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento. Isto pode ocorrer somente quando há garantias de que o produto será conservado e mantido no estado congelado ou parcialmente congelado, nas etapas de armazenamento, transporte e entrega ao consumidor. (HOFFMANN et al., 1995).

Os microorganismos encontrados no sorvete podem estar relacionados com os ingredientes utilizados, sendo os quais: leite e seus derivados, gorduras e óleos, algumas proteínas, açúcares, água potável, ovos e seus derivados; frutas, cacau, mel, nozes, etc. Podem ser também adicionados alguns aditivos como: estabilizantes, espessantes, acidulantes, aromatizantes e corantes. (HOFFMANN et al., 1995).

Através de pesquisas foi provado que a baixa temperatura do sorvete não inibe o crescimento bacteriano. Portanto, os gelados comestíveis ela-

borados com laticínios e ovos devem ser pasteurizados.

Assim sendo, os microorganismos que mais preocupam quando da sua presença em sorvetes são:

Enterobactérias: Estão presentes no trato intestinal do homem e de outros animais (SIQUEIRA, 1995). Neste grupo, a mais perigosa é a *Salmonella sp.*, que pode causar a febre paratifóide e o tifo. Também é preocupante a presença de *Escherichia coli*, pois sendo mais fácil de ser detectada que a *Salmonella sp.* funciona como um indicador de contaminação fecal.

Salmonella sp.: Seu reservatório natural é o trato intestinal do homem e outros animais, principalmente em aves. Moscas e baratas são importantes veículos de disseminação das salmonelas.

São bactérias Gram negativo não esporuladas, patogênicas e não fermentadoras de lactose. (ROITMAM, 1998).

Staphylococcus aureus: Podem ser encontrados na cavidade nasal do homem e de alguns animais, bem como na garganta, podendo provocar infecções e, também, na pele. Pode provocar intoxicações alimentares. São bactérias esporuladas, imóveis, produtores de toxinas (algumas cepas) e anaeróbias facultativas. (SIQUEIRA, 1995).

Bolores e leveduras: alguns tipos de fungos produzem microtoxinas que são graves agentes hepatocancerígenos. Normalmente, estas microtoxinas não aparecem diretamente no sorvete, porém podem ser a ele conduzidas através de elementos contidos nas coberturas, principalmente os derivados de cereais. (HOFFMANN et al., 1995).

Assim, para evitar ou controlar a contaminação do sorvete é necessário: selecionar matérias-primas de boa qualidade, utilizar pasteurização ou outro tratamento térmico para reduzir a população microbiana, evitar a contaminação pós-pasteurização e ainda, manter o produto constantemente em baixa temperatura. Em termos de indústria também deverá ser prática comum o monitoramento dos chamados pontos críticos de controle para não aumentar a chance da ocorrência de outros contaminantes. (HOFFMANN et al., 1995).

1.2 Água

A água serve de veículo para a transmissão de uma variedade de

doenças causada por microorganismos. Os níveis de contaminação toleráveis para a água são estabelecidos em função do uso pretendido. A Legislação impõe padrões microbiológicos de qualidade para os seguintes tipos de água: potável; destinada a animais que servem de alimento ao homem; destinada a navegação; à recreação e irrigação de plantas; à harmonia paisagista e ao abastecimento industrial. (ROITMAN, 1988).

Assim, como não há padrão específico para o tipo de água que analisou-se, esta foi analisada sob os mesmos padrões do sorvete, já que contém matéria orgânica do mesmo.

Decidiu-se, então, analisar microbiologicamente amostras de sorvetes comercializados na cidade de Ponta Grossa - PR, bem como, a água onde ficam acondicionadas as colheres usadas para servi-lo, pois esta pode servir como um veículo de contaminação do sorvete já que permanece à temperatura ambiente e contém matéria orgânica (leite, açúcar etc), sendo um ótimo substrato para a proliferação de microorganismos.

Dessa forma, foi analisada a presença de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, Enterobactérias e bolores e leveduras, pois são os microorganismos mais comumente encontrados em sorvetes.

2. Materiais e métodos

2.1 Amostras

Analisou-se três amostras de sorvete de creme e três amostras da água onde ficam acondicionadas as colheres utilizadas para pegar massa de sorvete, colhidas em uma sorveteria de pequeno e uma de médio porte, e também em um supermercado que serve em casquinhas o sorvete de uma grande indústria. As amostras foram coletadas em frascos de vidro estéreis e a água foi coletada assepticamente com o auxílio de uma pipeta estéril. Em seguida essas amostras foram acondicionadas em uma bolsa térmica e levadas para o Laboratório de Microbiologia da UEPG, onde foi feita a análise imediata, sendo apresentada na Tabela 1 a composição das amostras de sorvete.

Tabela 1 - Composição das amostras de sorvete analisadas

AMOSTRA	INGREDIENTES
A	Leite pasteurizado, açúcar, gordura hidrogenada, estabilizantes, leite em pó, sabor artificial de creme.
B	Leite pasteurizado, leite em pó, estabilizantes, açúcar, sabor artificial de creme
C	Água, açúcar, xarope de glicose, leite em pó desnatado, gordura vegetal hidrogenada, gelatina, açúcar invertido, aromatizantes, corantes artificiais (amarelo crepúsculo, amarelo trartazina), espessantes, goma guar, goma jataí, estabilizante monoestearato de glicerina e polisorbato 80.

2.2 Preparo das amostras

Pesou-se assepticamente 10g. de sorvete e diluiu-se em 90mL de salina (NaCl 0,9%) preparando, assim, uma diluição 10^{-1} . A partir desta, obteve-se uma diluição 10^{-2} .

Pipetou-se assepticamente 1mL da água coletada e colocou-se em um tubo de ensaio contendo 9mL de salina, preparando-se, assim, uma solução 10^{-1} . A análise de cada amostra foi feita em duplicata.

2.3 Contagem de bolores e leveduras

Pipetou-se assepticamente 0,25mL da diluição 10^{-1} do sorvete e da água sem diluir e colocou-se em placas de Petri identificadas contendo meio ágar Sabouraud (Tabela 2). Da diluição 10^{-2} de sorvete e 10^{-1} da água foram pipetados 0,1mL e colocados em cada placa. Realizou-se, então, o método de semeadura em superfície. Incubou-se à 28°C durante 48 horas. Contou-se e calculou-se as médias das unidades formadoras de colônias.

2.4 Pesquisa de *Salmonella sp.*

Pipetou-se assepticamente 0,25mL da água sem diluir e da diluição 10^{-1} do sorvete e colocou-se em placas de Petri identificadas e contendo meio ágar SS (Tabela 2). Da diluição 10^{-2} do sorvete e 10^{-1} da água pipetou-se 0,1mL colocando-se em cada placa realizou-se o método da semeadura em superfície. Incubou-se à 37°C durante 48 horas. As colônias suspeitas foram analisadas mediante testes bioquímicos.

2.5 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Realizou-se o procedimento como anteriormente, porém, o meio utilizado foi o ágar *Staphylococcus*. Incubou-se a 37°C durante 48 horas. Fez-se coloração de Gram para estimar se as colônias formadas eram de *Staphylococcus*, e com as que possuíam forma de cacho de uva (vistas no microscópio), fez-se o teste com antibiótico Novobiocina para confirmar a presença de *Staphylococcus aureus*. Contou-se e calculou-se as médias das u.f.c.

2.6 Contagem de Enterobactérias totais

Pipetou-se assepticamente 0,1mL das diluições 10^{-1} e 10^{-2} do sorvete, 10^{-1} da água e da água sem diluir e colocou-se em placas identificadas contendo ágar Verde Brillante (Tabela 2). Realizou-se, então, o método de semeadura em superfície. Incubou-se a 37°C durante 24 horas. Contou-se e calculou-se as médias das u.f.c.

Tabela 2 - Composição de meios de cultura

MEIO DE CULTURA	COMPOSIÇÃO APROXIMADA
Ágar SS	Pó "Lab-Lemco" 5,0g; peptona 5,0g; lactose 10,0g; sais biliares 8,5g; citrato de sódio 10,0g; hiposulfito sódico 8,5g; citrato férrico 1,0g; verde brilhante 0,00033g; vermelho neutro 0,025g; Ágar 15,0g. pH 7,0 ± 0,2.
Ágar Verde Brillante	Peptona 10,0g; Bacto-Yeast extrato 3,0g; Bacto-lactose 10,0g; Bacto-sacarose 10,0g; cloreto de sódio 5,0g; Bacto-Ágar 20,0g; Bacto-Verde Brillante 0,0125g; Bacto-vermelho fenol 0,08g. pH 6,9 ± 0,2 à 25°C. Autoclavou-se por 15 minutos (121°C).
Ágar Macconkey	Peptona de caseína 17,0g; Peptona de carne 3,0g; Lactose 10,0g; sais biliares 1,5g; cloreto de sódio 5,0g; vermelho neutro 0,03g; cristais violeta 0,001g; Ágar-ágar 15,0g. pH 7,1 à 25°C. Autoclavou-se por 15 minutos (121°C).
Ágar Sabouraud	Peptona de carne 5,0g; glucose 40,0g; peptona de caseína 5,0g; ágar 15,0g. pH 7,0 à 25. Autoclavou-se por 15 minutos (121°C).
Ágar Staphylococcus	Extrato de levedura 2,5g; peptona de caseína 10,0g; gelatina 30,0g; lactose 2,0g; D-manitol 10,0g; cloreto de sódio 75,0g; vermelho neutro 0,03g; Fosfato dipotássico 5,0g; Ágar 15,0g. pH ± 7,0. Autoclavou-se por 15 minutos (121°C).

3. Resultados e discussão

Os resultados das análises microbiológicas realizadas estão demonstrados na Tabela 3.

Apesar de na legislação federal não haver padrão para bolores e leveduras, foi constatada a presença dos mesmos em todas as amostras. Para *Staphylococcus aureus* a legislação estabelece neste produto, padrão de no máximo 10^3 u.f.c./g. Apenas a amostra B da água e do sorvete apresentou esta bactéria em quantidades superiores às permitidas. A amostra A (água e sorvete) e C (sorvete) apresentaram-se contaminadas por *Staphylococcus sp.* em baixas quantidades. A presença de *Staphylococcus aureus* nos alimentos é interpretada, em geral, como indicativo de contaminação a partir da pele, boca e fossas nasais dos manipuladores de alimentos, bem como da limpeza e da sanificação inadequada dos materiais e equipamentos.

Foi utilizado o meio SS para selecionar colônias de *Salmonella sp.* ou *Shigella sp.* Porém, neste meio cresceram dois tipos de colônias (fermentadoras e não fermentadoras de lactose). Sabendo-se que a *Salmonella sp.* não é fermentadora de lactose, realizaram-se testes bioquímicos com algumas das colônias suspeitas das amostras A e B. Para essas colônias analisadas o teste indicou ausência de *Salmonella sp.* Contudo, não podemos afirmar a ausência desta bactéria nas amostras, pois não foram analisadas todas as colônias suspeitas.

Como no meio SS cresceram tanto colônias fermentadoras como não fermentadoras de lactose, podemos afirmar que este meio não é tão seletivo quanto se acreditava. Isto, provavelmente deve-se ao fato de que sua composição é muito semelhante a composição do meio Macconkey que é um meio específico para Enterobactérias (ver Tabela 2).

Também, pode ser observado através da Tabela 3 que, com exceção da amostra C do sorvete, todas as demais apresentaram-se contaminadas por Enterobactérias, sendo que as amostras A e B (água e sorvete) ultrapassaram o padrão da legislação federal que admite 1000 u.f.c./g de produto.

Portanto, a amostra A é classificada como “produto em condições higiênicas insatisfatórias”, e a amostra B como “produto em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias”.

Das três amostras de sorvete e da água analisadas, a que apresentou menor contaminação foi a amostra C. As amostras A e B estão praticamente no mesmo nível de contaminação. O alto nível de contaminação dessas

amostras, pode ter ocorrido porque são de sorveterias artesanais, onde há o maior contato manual com o produto ou, até mesmo, devido à matéria-prima utilizada e a presença de poucos produtos químicos, os quais podem inibir o crescimento bacteriano.

A baixa contaminação da amostra C, que é um sorvete industrializado, se deve a alguns fatores como, por exemplo, a presença de muitos produtos químicos (conservantes, estabilizantes etc), a utilização do leite em pó que é menos passível de contaminação em vez de leite fluido em sua composição, como mostra a Tabela 1, e também, ao pouco contato manual em sua fabricação.

Com relação a água, a contaminação deve-se provavelmente, a presença de matérias orgânicas (açúcar, leite, gordura etc) que podem ficar incrustadas no recipiente quando não há uma boa higienização do mesmo. Outro fator é que esta água é captada da torneira, podendo já estar contaminada.

Tabela 3 - Representação dos resultados das análises microbiológicas

AMOSTRAS	BOLORES E LEVEDURAS (U.F.C./g)	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (U.F.C./g)	<i>SALMONELLA SP.</i> (U.F.C./g)	ENTEROBACTÉRIAS (U.F.C./g)	
SORVETE	A	375.10 ³	AUSENTE	AUSENTE*	53,5.10 ³
	B	135.10 ³	3.10 ³	AUSENTE*	34,5.10 ³
	C	400.10 ³	AUSENTE	AUSENTE*	-
ÁGUA	A	150,5.10 ³	AUSENTE	AUSENTE*	171.10 ³
	B	16.10 ³	1,5.10 ³	AUSENTE*	96,5.10 ³
	C	118.10 ³	AUSENTE	AUSENTE*	510.10 ³
PADRÃO FEDERAL	SEM PADRÃO	10 ³ /g	AUSENTE EM 25g	10 ² /g	

*Obs: apenas nas sub-amostras analisadas e não na amostra como um todo

4. Conclusão

Os resultados deste trabalho mostram que das seis amostras analisadas todas apresentaram-se contaminadas por bolores e leveduras, duas por *Staphylococcus aureus* (amostra B), quatro por enterobactérias totais e ausência de *Salmonella sp* em todas as colônias analisadas.

Assim, verifica-se que as amostras A e B apresentam um alto índice de contaminação em relação a amostra C. Isto provavelmente deve-se ao fato de que as amostras mais contaminadas provêm de sorveterias artesanais, onde há um maior contato manual com o produto, a utilização de poucos produtos químicos que podem inibir o crescimento bacteriano, a falta de higienização de equipamentos e utensílios ou, até mesmo, devido à matéria-prima utilizada. Já a amostra C, provêm de uma grande indústria a qual adiciona muitos produtos químicos ao sorvete, há pouco contato manual, utilizam-se de leite em pó, que é menos passível de contaminação, em vez de leite fluido e, provavelmente, há um rigoroso controle de qualidade durante o processo de fabricação.

Portanto, de acordo com a Legislação Federal do Ministério da Saúde, verifica-se que duas das amostras estavam em “condições higiênicas insatisfatórias” e duas em “condições higiênico - sanitárias insatisfatórias”.

É provável que grande parte das contaminações dos sorvetes estejam relacionadas ao manuseio do produto às operações de fabricação e à matéria-prima utilizada. Com relação a água, a contaminação encontrada pode provir de quatro fontes (água potável, sorvete, recipiente ou manipulador). Portanto, o ideal seria analisar todas as fontes, a fim de obter-se resultados mais consistentes.

Recebido para publicação em 10/06/2002.

Aceito para publicação em 09/09/2002.

ABSTRACT

This work establishes a microbiological profile of ice-cream solds in municipality of Ponta Grossa-PR. In addition, this presents a microbiological profile of the water applied to clean the spoons used to serve it. The proposed analyses involves the e quantily of the Enterobacteriaceae family, count of fungus and leavening, research of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp.* The experimental results evidenced that every analyzed samples showed fungus and leavening, two showed *Staphylococcus aureus*, four showed Enterobacteriaceae totals e lack of *Salmonella sp.* in every colonials analyzed. Then, according with Brazilian Federal Laws, two of the analyzed samples indicating a product of “bad hygienic quality”,

and two was product of “bad hygienic-sanitary” quality.

Key words: microbiological profile of ice-cream; fungus; leavening; *Staphylococcus aureus*; *Salmonella sp*; Enterobacteriaceae family

Endereço para contato: mpileggi@onda.com.br / mpileggi@uepg.br
(42) 220-3126

REFERÊNCIAS

- 1 HOFFMAN, Fernando Leite et al. Qualidade higiênico-sanitária de sorvetes comercializados na cidade de São José do Rio Preto (SP) Brasil. **BCPPA**. Curitiba, v.13, n.2, p.99-108, jul./dez.1995
- 2 MADRID, A. Vicente, CENZAND, I., VICENTE, J. M. **Manual de Indústrias dos Alimentos**. Trad.: José A. Cesehin - São Paulo: Varela, 1995. 559p.
- 3 MONTEIRO, J. A. Microbiologia de Processos e Produtos. Campinas, **Fundação Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia**, 1978.
- 4 NASCIMENTO, R. A. et al. Avaliação Microbiológica de Gelados Comestíveis (Picolé), de Indústrias de Pequeno Porte da Cidade de São Luís - MA. **Higiene Alimentar**, v. 13, n.64, p.58-61, set. 1999.
- 5 NESTLÉ BRASIL LTDA. **Nestlé**. Disponível na Internet. <http://www.nestle.com.br/> 23 mai, 2000.
- 6 BRASIL. Portaria nº 001 de 28 de janeiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p.2197-2200, 12 fev. 1987.
- 7 ROITMAN, Isaac et al. **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Editora Manolo Ltda, 1987. v.1, p.32-35; 89-90; 92-96.
- 8 SIQUEIRA, Regina Silva de. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial, 1995. p. 85-116; 119-130.