TRABALHO EM AULA: AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES NO SORVETE DE AÇAÍ COMERCIALIZADO NA CIDADE DE ALEGRE-ES

Lara Ribeiro de Castro Freitas, Greiciele Amaral Espinhoso, João Lucas Braga Perin, Mayra Rafaela Cunha de Souza, Mirian de Souza Seixas, Rodolfo Moreira Baptista.

Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Farmácia e Nutrição. Alto Universitário S/N, Guararema- 29500-000-Alegre-ES,Brasil,
Lara.r.freitas@edu.ufes.br, Greicieleamaral109@gmail.com,
Joaobragaperin@gmail.com,Mayra.souza@edu.ufes.br, Sarah.gomes.86@edu.ufes.br,
Mirianseixas18@gmail.com, Rodolfombaptista@outlook.com.

Resumo
O estudo avaliou a contaminação microbiológica de uma amostra de açaí de uma sorveteria estilo *self-service* em uma cidade do interior do Espírito Santo. O açaí é um fruto nativo da Amazônia, e é conhecido por suas propriedades antioxidantes. No entanto, pode apresentar alguns riscos para a saúde, incluindo contaminação microbiológica. Utilizando o método do número mais provável (NMP), foi observado contaminação em apenas uma diluição (10^{-1}). O teste de confirmação com o caldo bile verde-brilhante e *Escherichia coli* confirmou a contaminação do alimento com coliformes totais e coliformes termotolerantes. A contaminação pode estar associada a fatores como coleta, seleção, armazenamento e transporte da fruta, além da contaminação direta no self-service, devido à exposição ao cliente e contaminantes externos e bem como à higiene insuficiente durante a manipulação do alimento. Além disso, a metodologia ativa de ensino é fundamental para a formação de profissionais capacitados em técnicas de análise microbiológicas de alimentos, garantindo o aprendizado do aluno.

Palavras-chave: Açaí. Contaminação microbiológica. Coliformes termotolerantes. Coliformes totais. Número mais provável.

Área do Conhecimento: Ciências da saúde

Introdução

O açaí é um fruto nativo da região Amazônica, sendo o estado do Pará o seu centro de distribuição na sua forma natural. Faz parte da classe dos flavonoides, e é considerado um alimento nutritivo pois apresenta altos teores de vitamina E, potássio, magnésio, cálcio, ferro, proteínas e lipídios (ROCHA, et al; 2016). Além disso, contém propriedades antioxidantes que combatem radicais livres, reduz o risco no aparecimento de doenças crônicas, e sua alta concentração de ácidos graxos é benéfica à saúde, evitando a formação de arteriosclerose. Também atua como anti-inflamatório, antimicrobiano, anticarcinogênico e em doenças neurológicas (BARBOSA, 2015).

Seu consumo pode ser de forma *in natura*, mas para se obter o sorvete de açaí é necessário passar por várias etapas de processamento artesanal e industrial, até ser obtida a polpa processada juntamente com a adição de água. No entanto, a polpa congelada traz uma preocupação em relação ao seu armazenamento nos estabelecimentos que fica mais suscetível à contaminação devido às condições higiênico sanitárias de armazenamento, manipulação, exposição ao ambiente e equipamentos utilizados no local (MELLO; RESENDE, 20 18).

Assim, o açaí pode apresentar riscos significativos para a saúde, não apenas devido a contaminantes microbiológicos comuns, que pode ocorrer diante da manipulação em condições inadequadas de higiene pelos manipuladores, mas também pelo potencial de contaminação com *Trypanosoma Cruzi*, parasita causador da doença de Chagas (Fiocruz, n.d). De acordo com Vasconcelos e Alves (2005), a contaminação pode começar durante a coleta das frutas, que muitas vezes é feita de maneira inadequada, sem seguir práticas básicas de higiene. A coleta manual, realizada sem proteção apropriada e utilizando facões não higienizados, aumenta o risco de

contaminação. Após a coleta, a seleção das frutas geralmente é feita em solo exposto, onde há risco de contato com fezes de animais que podem abrigar bactérias, como *Escherichia coli.* Essa contaminação pode ser exacerbada durante o armazenamento e transporte, pois as condições inadequadas nesses estágios podem facilitar a proliferação de agentes patogênicos. Assim, a cadeia produtiva do açaí deve ser cuidadosamente gerida para minimizar os riscos de contaminações.

Logo, a segurança alimentar deve ser uma preocupação em todos os momentos, desde a colheita, processamento ao consumo, pois se trata de um problema de saúde pública, tendo em vista que está sujeito a consequências como mal-estar (SILVA et al., 2016). Diante de quantidade significativamente grande de estabelecimentos que fornece este alimento em vários pontos da cidade de Alegre-ES, faz-se necessário a avaliação da qualidade microbiológica deste produto, uma vez que a falha nas condições higiênicos sanitários do estabelecimento, direcionada para o armazenamento e manuseio, pode acarretar riscos à saúde. (SILVA et al., 2016).

De acordo com Souza e Gomes (2019), em consequência dos processos que envolvem a fabricação do sorvete de açaí, aumenta-se a possibilidade de proliferação de agentes contaminantes. Desta forma, é necessário investigar a presença de coliformes, coliformes totais e termotolerantes no açaí, para garantir a segurança alimentar e qualidade do produto. Neste cenário, esta pesquisa possui o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do sorvete de açaí comercializado no município capixaba de Alegre, como etapa de aprendizado prático da disciplina de microbiologia de alimentos, ofertada no curso de farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre.

Metodologia

No dia 12 de agosto de 2024, as amostras foram adquiridas em uma sorveteria do município de Alegre, pelos alunos do curso superior de Farmácia, matriculados na disciplina de microbiologia de alimentos. Foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre, para análise microbiológica de coliformes.

O açaí foi previamente descongelado até atingir a temperatura ambiente de 25ºC, pesadas em sacos de amostras estéreis e transferidas 25g para Erlenmeyer com 225ml de água peptonada a 1% para iniciar a diluição das amostras. Para análise dos coliformes totais foi utilizado a técnica do Número Mais Provável (NMP/g), utilizando três séries de três tubos com caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubo de Durhan invertidos em cada diluição até 10^{-3} ,com incubação por 24h em estufa a 35ºC. Para realizar os testes confirmatórios para as diluições do caldo LST que apresentaram sinais de contaminação, foi utilizado o caldo verde-brilhante (BVB) e caldo de *Escherichia coli* (EC) para coliformes, com incubação de 35ºC por 48 horas. A cada 24 horas foram feitas visitas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos para avaliar o crescimento microbiológico.

Resultados

A amostra de açaí apresentou contaminação apenas na diluição 10^{-1} como apresentado na tabela 1, exibindo uma turbidez e formação de gás no tubo de Durhan (Figura 1).

Tabela 1- Resultado do NMP e testes confirmatórios

Amostra	Diluição	Triplicata 1	Triplicata 2	Triplicata 3	NMP (N° mais provável)	BVB	EC
Caldo LST	10^{-1}	1	0	0	0.36	+	+
Caldo LST	10^{-2}	0	0	0	0	-	-
Caldo LST	10^{-3}	0	0	0	0	-	-

Fonte: Os autores

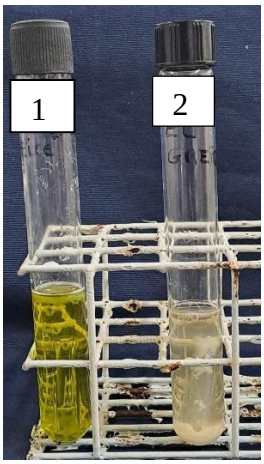
Figura 1- Crescimento microbiano em tubo contendo uma alíquota da amostra em caldo LST na diluição a 10^{-1}

Fonte: Os autores

O resultado da análise foi conferido pela determinação NMP apresentando como resultado uma contaminação da diluição 10^{-1}, correspondendo a 0,36 NMP/g. Foi necessário a realização dos testes confirmatórios da amostra com o caldo BVB e EC, confirmando a contaminação com coliformes totais e *E.coli*, os resultados são apresentados na Tabela 1.

Os resultados indicam que, apesar da contaminação detectada na diluição 10^{-1} e a confirmação da contaminação nos tubos BVB e EC (Figura 2), o nível de contaminação está abaixo do limite permitido de 10^2 NMP/g conforme a IN 60/2019, sugerindo que a amostra está em conformidade com os padrões de segurança alimentar.

Figura 2- Crescimento microbiano em tubo contendo uma alíquota da amostra em caldo BVB (1) e EC (2) na diluição a 10^{-1}



Fonte: Os autores

Discussão

O açaí é obtido do fruto da palmeira *Euterpe oleracea* por um processo de extração artesanal de extração. Segundo Guimarães (1998), o consumo do açaí é popularizado de várias maneiras, podendo ser como suco, sorvete, doce e geleia e é consumido entre vários grupos sociais, desde os que buscam

uma vida mais saudável, atletas e até mesmo pessoas que desejam desfrutar de algo mais refrescante e doce.

De acordo com Nogueira, Figueirêdo e Müller (2006), o açaí passa por uma cadeia produtiva industrial composta por dezenove etapas, ao final das quais o produto se encontra apto para o consumo. O transporte do açaí até os locais de comercialização desempenha um papel fundamental na preservação da qualidade do produto, prevenindo possíveis contaminações e mantendo a segurança alimentar.

A análise microbiológica do açaí revelou a presença de coliformes totais e termotolerantes em uma diluição inicial de 10^{-1}, conforme o método do NMP. De acordo com a IN 60/2019 da ANVISA, o limite máximo aceitável de coliformes termotolerantes em polpas de frutas é de 10^{-2} NMP/g. Dito isso, considerando que a análise demonstrou 0.36 NMP/g, o número demonstrou estar abaixo do limite estabelecido, significando que o açaí está dentro dos limites de coliformes termotolerantes.

Os coliformes termotolerantes são bactérias geralmente encontradas nas fezes. Quando contaminam em alimentos e são ingeridas pelo ser humano, pode causar diarreias e outros distúrbios do trato gastrointestinal. Essas bactérias são consideradas os maiores agentes contaminantes de alimentos, e quando encontradas essas contaminações indicam condições higiênicas e na manipulação de forma desfavorável (Almeida filho, Nader filho, 2002).

Além disso, Abreu, Medeiros e Santos (S. A) avaliaram a contaminação das palmas das mãos dos manipuladores de alimentos em seu estudo, onde 66,67% das amostras das palmas apresentaram sinais de contaminação microbiana. Portanto, as palmas das mãos dos manipuladores podem ser consideradas um grande contaminante de coliformes termotolerantes. Para evitar esse tipo de contaminação, é necessário seguir protocolos de higiene, sendo proibido o uso de adornos nas mãos do manipulador durante a preparação do alimento, também é necessário manter as unhas curtas e sem esmaltes (Silva JR, 2008), além de ser necessário adotar um protocolo correto de higienização das mãos com água corrente e sabão durante vários momentos da manipulação do alimento, com propósito de garantir a segurança alimentar do consumidor e menores risco de contaminação.

Segundo a Ramsden (2000), há diferentes abordagens de ensino, definidas por ele como superficial e profunda. A superficial está relacionada com o estilo monótono de ensinar, tendo o aluno uma ação mais passiva, aguardando do professor o conteúdo a ser ensinado. O estilo profundo definido por Ramsden foi apresentado nesse estudo, onde os alunos são estimulados e guiados pelo professor a buscar o aprendizado e construir o conhecimento de forma ativa, ideia que é reforçada pelos estudos de Machado (2001). Dessa forma, durante a realização desse estudo, os alunos foram estimulados a buscar de forma autônoma o aprendizado e o conhecimento desde o momento da coleta do alimento, até a realização da análise microbiológica e a redação do estudo. Essa abordagem favoreceu uma absorção mais eficaz dos conceitos, potencializando resultados positivos tanto no desempenho acadêmico quanto na futura prática profissional.

Nesse contexto, a análise microbiológica é essencial para verificar se o produto final apresenta alguma contaminação, seja durante o processo de produção ou na forma como é oferecido ao consumidor (Pinto e Almeida, 2015). Nesse estudo, a amostra analisada consistiu em açaí adquirido em uma sorveteria do tipo *self-service*, na cidade de Alegre, interior do Espírito Santo. A análise microbiológica foi realizada para identificar possíveis contaminações que poderiam ter ocorrido durante o manuseio até o consumo do açaí, sendo verificado que a contaminação por coliformes termotolerantes foram consideradas dentro dos padrões de acordo com a IN 60/2019.

Conclusão

Conclui-se que a análise microbiológica desempenha um papel fundamental na garantia da segurança alimentar e a importância do estudo ativo para os estudantes durantes a universidade e na vida profissional. Nesse estudo, a análise do açaí proveniente de um estabelecimento em uma cidade do interior do Espírito Santo indicou um nível aceitável de contaminação por coliformes termotolerantes,

demonstrando critérios de higiene aceitáveis e controle das contaminações diretas dos clientes. Portanto, o açaí está propício para consumo segundo a RDC 331/2019. Conclui-se também que a metodologia aplicada no ensino deste estudo foi responsável por um aprendizado eficaz, já que o aluno é estimulado a ser proativo, assim absorvendo conhecimento ativamente.

Referências

ABREU, E. S. de; MEDEIROS, F. da S.; SANTOS, D. A. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE MÃOS DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS DO MUNICÍPIO DE SANTO ANDRÉ. **Revista Univap**, [S. l.], v. 17, n. 30, p. 39–57, 2011. DOI: 10.18066/revunivap. v17i30.24. Disponível em: https://revista.univap.br/index.php/revistaunivap/article/view/24. Acesso em: 1 set. 2024.

ALMEIDA FILHO, E.S., NADER FILHO, A. Ocorrência de coliformes fecais e Escherichia coli em queijo Minas Frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas, Minas Gerais. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n. 102/103, p. 71-73, nov. –dez., 2002.

BARBOSA, P. O. (2015). A polpa de açaí (Euterpe oleracea Mart.) melhora o estado oxidativo de mulheres saudáveis [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto]. Disponível em: http://www.repositorio.ufop.br/jspui/handle/123456789/6603

BRASIL. **Instrução Normativa n.º 60, de 23 de dezembro de 2019**. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019. Disponível em: https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/U_IN-MS-ANVISA-60_231219.pdf. Acesso em: 18 ago. 2024.

DE SOUZA, J. M.; DOS SANTOS, E. C. G.; DE BRITO, N. J. N.; DA SILVA, G. A. Análise microbiológica dos sorvetes *self- service* sabor chocolate da cidade de Sinop- MT. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição e Saúde**, [S. l], v. 10, n. 4, p. 857-866, 2015. DOI:10.12957/demetra.2015.17328

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). Doença de Chagas: formas de transmissão. Disponível em:https://www.fiocruz.br/portalchagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=2&sid=1. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 182 p., 1996.

GUIMARÃES, L. A. C. O açaí já “parou” o carioca? Estudo qualitativo do consumo da polpa de açaí na cidade do Rio de Janeiro. Paper do *NAEA*, n. 090, p. 1-20, 1998. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_02_10_16_52_17_acaifrutojaneiro.pdf. Acesso em: 17 de agosto de 2024..

MACHADO, N. J. A Universidade e a organização do conhecimento: a rede, o tácito, a dádiva. Estudos Avançados, v. 15, n. 42, 2001

MELLO, C. N; RESENDE, J. C. P. Avaliação microbiológica de vitaminas de açaí comercializadas na região do Barreiro, Minas Gerais. Sinapse Múltipla, v. 7, n. 1, p. 27-37, 2018..

NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; MULLER, A. A. Sistema de Produção de Açaí. 2006. Disponível em:http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/intro.htm. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

PINTO, M. S.; ALMEIDA, F. D. Microbiological contamination of açaí pulp: Current status and future prospects. Food Research International, v. 77, p. 104-110, 2015.

RAMSDEN, P. Learning to teach in Higher Education. New York: Palmer, 2000

ROCHA, P. F.DA., SOUTO, M. K. F. & NEUMANN, K. R. DA S.(2020). Açaí: uma abordagem terapêutica na prevenção e tratamento da aterosclerose. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**,1(1). Disponível em: https://revista.unipacto.com.br/index.php/multidisciplinar/article/view/746

SILVA JUNIOR, E. A. Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação. 6. ed. atual. São Paulo, SP: Varela, 2008.

SILVA, S. R. et al. Avaliação microbiológica em amostras de "açaí na tigela" comercializados em uma cidade do Oeste Paulista. FAURG, Gramado/RS, 2016.

SOUZA, A. B. N.; GOMES, M. A. S. Análise microbiológica da polpa de açaí comercializada em feiras livres na cidade Porto Velho/RO. **Revista Saber Científico**, 2019.

VASCONCELOS, M. A. M.; ALVES, S. M. **Colheita e pós colheita**. In: Sistema de Produção, 4. Açaí Editado por NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; MULLER, A. A. Embrapa Amazônia Oriental, p.86-96, 2005.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D.F.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M.J.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A.; PIMENTEL, A. S.; CARUSO, M. S. F. Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundos de diferentes ecossistemas amazônicos. *Acta Amazônica*, Manaus, V.41, p. 545-552, 2014. DOI:https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000400011

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo. Agradecemos profundamente ao professor Rodolfo Moreira Baptista pelo apoio e orientação inestimáveis ao longo desta pesquisa.