



CONTAGEM MICROBIOLÓGICA DE GELADO COMESTÍVEL DE FRUTA ADICIONADO DE ERVAS.

Samuel Fernandes Junqueira¹, Andrey Oliveira de Souza², Páulia Maria Cardoso Lima Reis³, Robson de Jesus Mascarenhas⁴, Mamoru Yamamoto⁵

¹Parte do Trabalho de Conclusão de Curso do primeiro autor, financiado pelo CNPq. e-mail:samufj@hotmail.com.

²Professor efetivo do IF Sertão-PE, Mestre em Engenharia Química. e-mail: andrey.oliveira@ifsertao-pe.edu.br.

³Professora efetiva do IF Sertão-PE, Mestrando em Engenharia de Alimentos. -mail: pauliamaria@pop.com.br.

⁴Professor efetivo do IF Sertão-PE, Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos e-mail: robsonjm@ig.com.br.

⁵Empresário, fornecedor da matéria prima.

Resumo: Os gelados comestíveis cremosos são misturas homogêneas ou não de ingredientes alimentares, batidas e resfriadas até o congelamento, resultando em massa aerada. As principais etapas do processamento são: preparo pasteurização, homogeneização, resfriamento e maturação da mistura, seguida de congelamento e aeração. Da formulação que obteve melhor aceitação, no caso, o sorvete de erva associado à fruta manga (*Tommy Atkins*) foi realizado as análises propostas. O presente trabalho teve como objetivo determinar a contagem de bolores e leveduras e bactérias termotolerantes de sorvete à base de extrato de erva associado com polpa de fruta manga (*Tommy Atkins*), oriunda da região do Submédio do São Francisco. Para as análises microbiológicas, contagem total de coliformes totais foi < 3 NMP/g, já para bolores e leveduras a contagem foi $2,7 \times 10^1$ UFC/g. Ambos os resultados apresentaram-se com o limite abaixo do permitido pela ANVISA e MAPA, mostrando que a amostra analisada pode ser considerada segura no aspecto carga microbiológica para o consumo.

Palavras-chave: análise microbiológicas, ervas, gelado comestível

1. INTRODUÇÃO

A história não registra com precisão a época que surgiu o sorvete. Relatos referentes ao seu consumo datam de 960 a 925 a. C. Sua origem tem possibilidades que sejam provenientes do Líbano onde seria conseguido por meio do acondicionamento em vasilhas colocadas em riachos formados pela água provenientes do degelo das montanhas durante o verão. Eram então constituídos de uma mistura formados por frutas, sucos e mel (MACHADO, 2005).

A fabricação industrial começou a ter importância a partir da década de 30. É um processo de fabricação que inclui um congelamento mais rápido, o que reduz o tempo de produção devido a um ciclo bastante mecanizado e automatizado, ligado à etapa de medidas, peso, homogeneização, pasteurização e produção do sorvete, e outros relacionados com embalagem e armazenamento. Além destas etapas as grandes indústrias mantêm laboratórios com mão de obra especializada em controle de qualidade onde se realiza análises durante o processo de elaboração, cumprindo as fases do sistema Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), o que garante a qualidade ao consumidor final (AMIOT, 1991; MACHADO, 2005).

Segundo a legislação os gelados comestíveis são produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias; ou de mistura de água, açúcares e outros ingredientes que tenham sido submetidos ao congelamento em condições que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante a armazenagem, o transporte e a entrega para consumo (BRASIL, 2001). Tais produtos também podem ser classificados de acordo com a sua composição (sorvetes de creme, de leite, de baixo teor de gordura, sem outra denominação, sherbets, gelados de frutas e gelados de outra denominação) ou conforme o processo de fabricação e apresentação (sorvete de massa ou cremoso, picolé e produtos especiais gelados) (HOFFMANN et al., 1995).

Na atualidade, a demanda por produtos naturais que apresentem características diferenciais, tais como propriedades que beneficiem a saúde do consumidor, a base de frutas e hortaliças tem crescido



rapidamente, não apenas como produtos acabados, mas também como ingredientes a serem incluídos em alimentos mais elaborados, como sorvetes, cereais matinais, laticínios, produtos de confeitaria e panificação (LIMA et al., 2003).

Estudos realizados por ALMEIDA et al. (2011), a partir do extrato da erva selecionada neste trabalho, expressam resultados sobre a toxicidade aguda e demonstram que existe uma pequena diminuição nos níveis de glicose, colesterol e triglicérides em animais, porém não observa-se diminuição estatisticamente significativa. Neste mesmo estudo observou-se que a toxicidade aguda fisiológicas e comportamentais não foram significativas e não foram observadas alterações nem morte dos animais nas doses de 2,0 g/kg via intraperitoneal e 5,0 g/kg por via oral, respectivamente, indicando baixa toxicidade do extrato. Substâncias cuja DL50 é acima de 5,0 g/kg são consideradas de baixa toxicidade e dos resultados obtidos com doses acima deste valor são considerados imprecisos e pouco valor prático (ALMEIDA et al., 2011).

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família Enterobacteriaceae que inclui 44 gêneros e 176 espécies. No grupo dos coliformes totais estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Mais de 20 espécies se encaixam nessa definição, dentre as quais se encontrando tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras) (DA SILVA et al., 2010).

A capacidade de fermentar a lactose pode ser verificada pela formação de gás e/ou ácido, nos meios de cultivo contendo lactose. Essas características são utilizadas nos métodos tradicionais de contagem de coliformes totais (DA SILVA et al., 2010).

O grupo dos coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás. Essa definição objetivou, em princípio, selecionar apenas as enterobactérias originárias do trato gastrointestinal (*Escherichia coli*), porém, atualmente sabe-se que o grupo inclui membros de origem não fecal (várias cepas *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*). Em função disso, o termo coliformes fecais tem sido, gradativamente, substituído por coliformes termotolerantes (DA SILVA et al., 2010).

Escherichia coli está incluída tanto no grupo dos coliformes totais quanto no dos coliformes termotolerantes. Seu habitat natural é trato intestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais. É tradicionalmente distinguida dos demais coliformes termotolerantes pelas características de crescimento no Ágar L-EMB (Levine Eosina Azul de Metileno e pelo perfil dos testes de indol, vermelho de metila, Voges Proskauer e citrato (IMViC) (DA SILVA et al., 2010).

Os bolores e leveduras constituem um grande grupo de microrganismos, a maioria originária do solo e do ar. Os bolores são extremamente versáteis, grande parte das espécies são capazes de assimilar qualquer fonte de carbono derivada de alimentos. A maioria também é indiferente com relação às fontes de nitrogênio, podendo utilizar o nitrato, os íons de amônia e o nitrogênio orgânico. Entretanto, se for necessário utilizar fontes de proteínas ou aminoácidos como fonte de nitrogênio ou de carbono, várias espécies vão apresentar um crescimento limitado. As leveduras, de maneira geral, são mais exigentes do que os bolores. Muitas são incapazes de assimilar nitrato e carboidratos complexos, algumas exigem vitaminas e outras, como *Zygosaccharomyces bailii*, por exemplo, não conseguem utilizar a sacarose como única fonte de carbono. Esses fatores, de certa forma, limitam a gama de alimentos susceptíveis à deterioração por leveduras (DA SILVA et al., 2010).

Os bolores e leveduras são também bastante resistentes a condições adversas, como pH ácido e atividade de água baixa. Com relação ao pH, os fungos são muito pouco afetados pela variação na faixa de 3,0 a 8,0. Vários bolores crescem abaixo de 2,0 e diversas leveduras abaixo de 1,5. Entretanto, quando o pH afasta-se do ótimo (geralmente próximo de 5,0) a velocidade de seu crescimento diminui e, se houver outros fatores de inibição (atividade de água, temperatura, etc.), seu efeito restritivo sobre a velocidade de crescimento torna-se mais acentuado (DA SILVA et al., 2010).



A temperatura ótima de crescimento da maioria dos fungos encontra-se na faixa de 25 a 28°C, não crescendo bem nas temperaturas mesófilas (35-37°C) e raramente nas temperaturas de bactérias termotolerantes (45°C). Seu crescimento não é incomum sob condições de refrigeração (5°C), porém, abaixo de 10°C negativos os alimentos podem ser considerados microbiologicamente estáveis. Os bolores deteriorantes de alimentos, como quase todos os outros fungos filamentosos exigem oxigênio para crescimento, podendo ser considerados aeróbios estritos. No entanto, várias espécies, são eficientes em utilizar pequenas quantidades de oxigênio, de forma que o efeito do O₂ é dependente da quantidade absoluta dissolvida no substrato, e não da concentração presente na atmosfera (DA SILVA et al., 2010).

Dentro desse contexto, este trabalho visa determinar a contagem de bolores e leveduras e bactérias termotolerantes através de análises microbiológicas do gelado comestível à base de extrato de erva associado com polpa de fruta manga (*Tommy Atkins*) oriunda da região do Submédio do São Francisco, devido esta associação ter obtido melhor aceitação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa, caracterizada como experimental, trata da contagem microbiológica do derivado sorvete proposto. O produto foi elaborado no Laboratório Experimental de Alimentos (LEA) do Instituto Federal de Educação, ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF Sertão-PE), *campus* Petrolina.

Para elaboração do sorvete à base de ervas, foi explorada uma formulação (F1) composto de extrato da erva, adicionado de polpa de fruta típica da região do Vale do São Francisco, qual seja, manga da variedade *Tommy Atkins*, com o intuito de melhorar as características sensoriais. Do sorvete foi utilizado o extrato infusório das folhas da amora miúra em água a 80°C por um tempo de cinco minutos (EAM). Para a formulação (F1) Foi utilizada uma polpa de manga da variedade *Tommy Atkins* padronizada com as seguintes características físico-químicas: pH= 4,2 °Brix=14,12 e Acidez Total Titulável em ácido cítrico=0,45%. Posteriormente foi elaborada uma mesma mistura base (B) para a formulação do sorvete F1, composta pelos ingredientes: leite líquido de vaca do tipo C pasteurizado, açúcar (sacarose), leite de vaca em pó integral, gordura hidrogenada e estabilizante (goma guar), após a adição dos ingredientes a mistura passou por uma pasteurização a 80°C por 25 segundos, foi feito um rápido resfriamento na mistura a fim de provocar um choque térmico, após foi adicionado os saborizantes e levado a maturação por 24 horas. Após a maturação foi feito a aeração na massa junto com adição do emulsificante.

Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes realizou-se o Método do Número Mais Provável, Método da American Public Health Association (APHA), da qual homogeneizou-se 25g do sorvete em 225 mL de Água Peptonada (H₂O_p). Em seguida, realizou-se diluições seriadas em tubos com 9mL de (H₂O_p), totalizando três diluições. No teste presuntivo, inoculou-se uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluições decimais, adicionando 1 mL da diluição por tubo com 10 mL de LST. Incubaram-se os tubos de LST a 37°C/24-48horas e observou-se o crescimento através da turvação do meio e produção de gás. Determinou-se o Número Mais Provável (NMP) / g ou ML de coliformes totais e termotolerantes.

Para a contagem de bolores e leveduras o método utilizado foi o de contagem em placas, plaqueamento em superfície (pour plate), Método da American Public Health Association (APHA), da qual homogeneizou-se 25g do sorvete em 225mL de Água Peptonada (H₂O_p). Em seguida, foi inoculado 1 mL da primeira e única diluição e distribuído o volume por quatro placas, sendo três com 0,3 mL e uma com 0,1 mL, esperou as placas secarem e posteriormente foi incubado as placas a 25°C por cinco dias sem inverter e em pilhas de três placas no escuro. Após a incubação foi feito a contagem de colônias e determinou-se a Unidade Formadora de Colônias por Grama, UFC/g.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de coliformes totais e termotolerantes, no teste presuntivo nenhum tubo ficou positivo, ou seja, nenhum apresentou formação de gás nem produção de ácidos como pode ser observado na Figura 1.



Figura 1 - Teste presuntivo

Fonte: Samuel Junqueira

A presença de coliformes, termotolerantes e totais, em níveis inaceitáveis indica má condição higiênico-sanitária dos alimentos e dos locais de preparação e/ou armazenamento. Isso é um problema frequente na manipulação de alimentos preparados e influencia na sua vida útil e consequentemente na sua qualidade.

O resultado para coliformes totais e termotolerantes de número Mais Provável foi de $< 3,0$ NMP/g. Sabe-se que "coliformes totais" são bons indicadores das condições sanitárias dos alimentos, estando, portanto, a amostra examinada em condições sanitárias satisfatórias. A amostra apresentou contagens de coliformes totais e termotolerantes abaixo dos padrões microbiológicos exigidos que é de 5×10 NMP/g, estando em acordo com a Resolução RDC nº 12/2001, ANVISA/MS.

A presença de leveduras e fungos filamentosos em sorvetes é um indicativo de práticas sanitárias insatisfatórias na fabricação ou na embalagem. Sorvetes com açúcar ou frutas adicionados são especialmente susceptíveis ao crescimento de leveduras. É sabido que, com uma boa prática de fabricação, é possível obter sorvetes com contagens de levedura menor do que 10 UFC/g. Com armazenamento refrigerado adequada do produto, as contagens não devem exceder 10 UFC/g, após 3 a 7 dias de armazenamento (EPAMIG/2004).

Se forem usados padrões sugeridos pela instituição Cândido Tostes (EPAMIG/2004) para leite e produtos derivados do leite, a contagem para bolores e leveduras deverá apresentar < 200 UFC/g para serem consideradas satisfatórias (BARBOSA et al., 2010).

A legislação federal não exige padrões para bolores e leveduras, mais estudo realizado por DIOGO (2002) mostra que em sua avaliação em três amostras de sorvete pasteurizadas, todas as amostras apresentaram presença de bolores e leveduras.

A contagem de bolores e leveduras do presente estudo foi de $2,7 \times 10^1$ UFC/g, observados na Figura 2. Estudos feitos por DIOGO (2002) que observou a presença de bolores, leveduras e fungos nos três sabores de sorvete estudados, atingindo valores de $360 \text{ UFC} \times 10^{-3}/\text{mL}$ para bolores e leveduras no sabor morango e $316 \text{ UFC} \times 10^{-3}/\text{mL}$ para fungos totais no sabor flocos., bem acima do número quantificado neste trabalho, o que demonstra que houve boas práticas de fabricação.

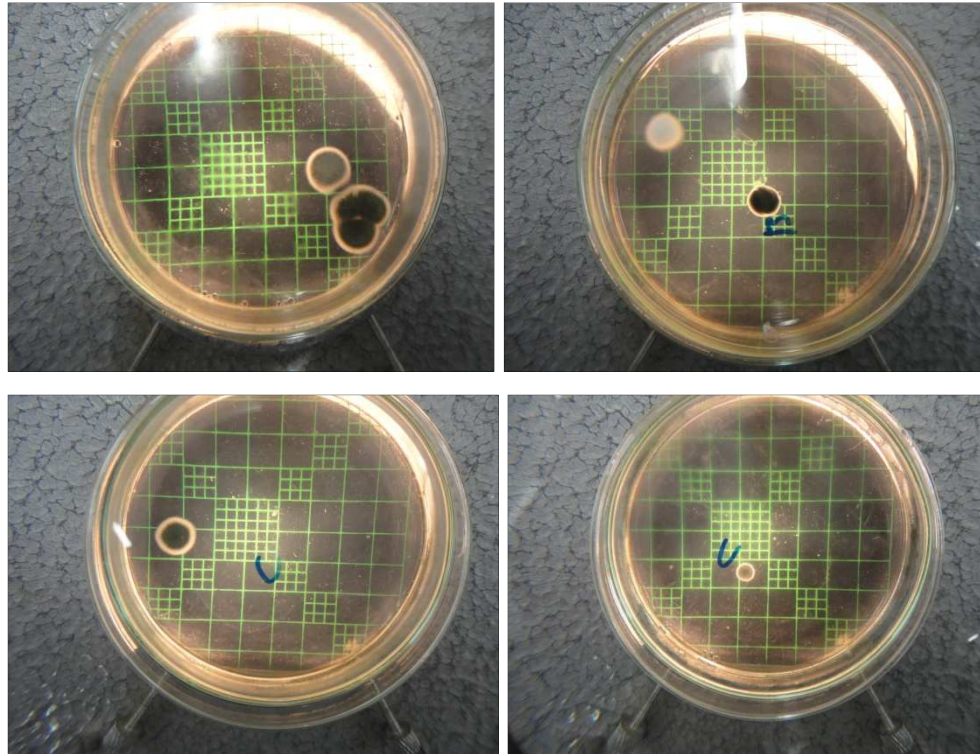


Figura 2 - Contagem de Bolores e Leveduras
Fonte: Samuel Junqueira

4. CONCLUSÕES

Diante do exposto no trabalho apresentado, conclui-se que o objetivo geral da elaboração de um novo derivado alimentício, no caso sorvete, à base da associação de fruta típica da região, manga (*Tommy Atkins*), e extrato de erva, foi alcançado.

Acredita-se que esta associação tem o potencial de gerar interesse da comunidade no consumo do novo derivado, devido à reconhecida aceitação deste tipo de derivado alimentício em regiões de clima quente, aliado a crença das propriedades funcionais da erva contida nele, que até então tinha praticamente única destinação para produção de chá.

Em relação à contagem microbiológica, pode-se concluir que a mesmo mostrou-se adequado, do ponto de vista sanitário, uma vez que o mesmo apresentou valores de carga microbiana dentro dos padrões exigidos pela legislação.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano pela estrutura de seus laboratórios e ao Programa Institucional de Inovação Tecnológica do CNPQ pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. R. G. da S.; GUIMARÃES, A. L.; DE OLIVEIRA, A. P.; ARAÚJO, E. C. da C.; SILVA, F. S.; NEVES, L. F.; DE OLIVEIRA, R. A.; DE SÁ, P. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. **Evaluation of Hypoglycemic Potential and Pre-Clinical Toxicology of *Morus nigra* L. (Moraceae).** Lat. Am. J. Pharm. 30 (1): 96-100, (2011).



APHA. **American Public Health Association**. Standard methods for the examination of water and wastewater.

AMIOT, J. **Ciencia y Tecnologia de La Leche**. Traduzido por Rosa Oria Almudi. Ed. Acrébia, Laragoza, p. 547, 1991.

BARBOSA et al. **Avaliação Microbiológica de Sorvetes Comercializados em Campina Grande-PB**. Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v. 5, n. 3, p. 63 -79 julho/setembro de 2010.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 10 jan 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>. Acesso em: 18 de janeiro de 2011.

DIOGO, G. T.; AGUIAR, G. M.; TOLENTINO, M. C.; BUFFARA, D.; PILEGGI, M. **Avaliação microbiológica de sorvetes comercializados na cidade de ponta grossa - pr e da água usada na limpeza das colheres utilizadas para servi-los**. Publicado UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde, Vol. 8, No 1 (2002).

DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. DE A. S.; TANIWAKI, M. H.; DOS SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos e Água**. J. 4. Ed.- São Paulo: Livraria Varela, 2010.

EPAMIG/CT (INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES). **Microbiologia de leite e derivados**. Juiz de Fora, 2004.

LIMA, V. L. A.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S. **Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (Malpighia emarginata D> C.)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23, n. 1, p. 101-103, 2003.

MACHADO, G. C. **Utilização de óleo de coco de babaçu, concentrado protéico de soro lácteo e leite em pó desnatado na produção de sorvetes**. Tese de Doutorado-Universidade Federal de Viçosa, 2005.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M.; MAYER, Z. M. G. S. **Qualidade higiênico-sanitária de sorvetes comercializados na cidade de São José do Rio Preto (SP) Brasil**. B. CEPPA, Curitiba, v. 13, n. 2, p. 99-108, 1995.